

Академія медичних наук України

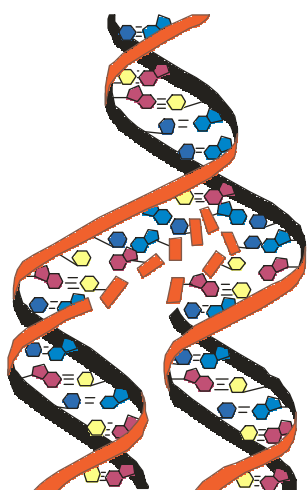
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Українська Академія наук

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*Academy of Medical Sciences of Ukraine
Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky
National Medical University by O.O. Bogomolets
Ukrainian Academy of Sciences*

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

4 TOM 8
2006

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*

- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року
Published since 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647
Certificate of state registration: series KB № 3647

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

Відповідно до постанови Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.1999 р. журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних, фармацевтичних і біологічних наук.

Журнал "Медична хімія" акредитований науково-видавничою радою Президії АМН України (лист № 02-17/1341 від 25.10.2001 р.).

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична хімія"
Видавництво "Укрмедкнига"
Майдан Волі, 1
46001, м. Тернопіль
УКРАЇНА

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:

Journal "Medical Chemistry"
Publishing House "Ukrmedknyga"
Maidan Voli, 1
46001, Ternopil
UKRAINE

Tel.: (0352) 52-78-54
(0352) 52-44-92

Fax: (0352) 52-41-83

<http://www.tdmu.edu.te.ua>

За зміст рекламних матеріалів відповідальність несе рекламодавець. При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал "Медична хімія"
© Scientific Journal "Medical Chemistry"

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Петрух Л.І., Панич О.П., Михалик О.І., Коваленко М.М., Пронюк О.В.* (Львів) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ДИМЕКСИДУ З КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА 5
- Євтіфеева О.А., Георгіянц В.А., Здорик О.А., Бондарева Л.В.* (Харків) НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ РОЗЧИНУ РИБОФЛАВІНУ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ 12
- Степаненко В.В.* (Київ) ОКИСНЮВАЛЬНЕ ФОСФОРІЛЮВАННЯ НА ТЛІ ДІЇ ПРЕПАРАТУ ГРИБА ЛІНЬ ЧІ ПРИ ОПРОМІНЕННІ ТА ОТРУЄННІ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ 19
- Діденко С.М., Якушев В.С.* (Запоріжжя) ЦИКЛІЧНІ НУКЛЕОТИДИ, ЛЕЙ-ЕНКЕФАЛІН І ВАЗОПРЕСИН У КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ІМУНІЗОВАНИХ ТВАРИН, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ЕМОЦІЙНИЙ СТРЕС 23
- Ісаєв С.Г., Сорокіна І.О., Свєчнікова О.М., Сокурєнко І.А., Єрьоміна З.Г., Березнякова Н.Л., Жегунова Г.П.* (Харків) СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МЕТИЛОВИХ ЕФІРІВ 3,5-ДИХЛОР-*N*-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ 27
- Сливчук Ю.І., Розгоні І.І., Гевкан І.І.* (Київ) ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ТКАНИН РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У МІТОХОНДРІЯХ КЛІТИН ЕНДОМЕТРІЯ І НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТЕЛИЦЬ ЗА УМОВ РІЗНИХ СХЕМ ВВЕДЕННЯ ФОЛІГОНУ 31
- Мішньєва К.Д., Гонтова Т.М., Хворост О.П.* (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ТРАВИ ФІАЛКИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНОГО ВИДУ ЛІКАРСЬКОЇ СИРОВИНИ 35
- Покотило О.С., Янович В.Г.* (Тернопіль, Львів) ВПЛИВ ПОЛІЕНАСАЩЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА ОКРЕМІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ В МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ 38
- Петровська Г.П.* (Вінниця) ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ НА ЕФЕКТИ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ ЩОДО ФЕРМЕНТНИХ СИСТЕМ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ У ЩУРІВ 42
- Горбань Є.М., Топольнікова Н.В.* (Київ) ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РАДІАЦІЙНИХ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ГІПОКСИЧНОГО ВПЛИВУ 46
- Овсяннікова Л.М., Чумак А.А., Коваленко О.М., Носач О.В., Альохіна С.М., Кубашко А.В., Верескун С.Б.* (Київ) ОКИСНИЙ СТРЕС ЯК ЛАНКА В РОЗВИТКУ СОМАТИЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПОСТРАЖДАЛИХ ВНАСЛІДОК ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ 50
- Мазєпа І.В., Мазєпа М.А., Мазєпа А.І.* (Івано-Франківськ) ХЕМИЛЮМІНЕСЦЕНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ДНК У ТКАНИНАХ ТВАРИН ПРИ ЗАРЯДЖЕННІ РОСТІ 54
- Тарновська А.В., Отчич В.П., Санагурський Д.І.* (Львів) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ АНТИБІОТИКІВ КЛАСУ ФТОРХІНОЛОНІВ 58
- Острівка О.І.* (Тернопіль) ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "ФІБРАБЕТ" НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ 61
- Романовська І.І., Осійчук О.В.* (Одеса) ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ІММОБІЛІЗОВАНОГО НА ГІДРАТЦЕЛЮЛОЗНІЙ МЕМБРАНІ ПРЕПАРАТУ ПЕРОКСИДАЗИ ХРОНУ 65
- Корильчук Т.Б.* (Тернопіль) КОРЕКЦІЯ ПЕЧІНКОВО-НИРКОВИХ ПОРУШЕНЬ, ВИКЛИКАНИХ ТОКСИЧНИМИ УРАЖЕННЯМИ ХІМІЧНОЇ ЕТІОЛОГІЇ 70
- Кукурудз Н.І., Герелюк В.І.* (Івано-Франківськ) СТАН ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДІКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ АМІЗОНОМ У ПОЄДНАННІ З ЛІПОФЛАВОНОМ 74
- Буслик Т.В., Сибірна Н.О.* (Львів) ВПЛИВ СИСТЕМИ "L-АРГІНІН/NO" НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНУ ХАРАКТЕРИСТИКУ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ 79
- Швєць В.І., Шкробанєць І.Д.* (Чернівці) ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО АНАЛОГА ВАЗОПРЕСИНУ НА СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ У БІЛИХ ЩУРІВ 82

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Petrukh L.I., Panych O.P., Mykhalyk O.I., Kovalenko M.M., Pronyuk O.V.* (Lviv) EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF DIMEXIDUM INTERACTION WITH MILK COMPONENTS 5
- Evtifeyeva O.A., Georgiyants V.A., Zdoryk O.A., Bondareva L.V.* (Kharkiv) SCIENTIFIC BASES FOR USAGE OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF RIBOFLAVINE SOLUTION 12
- Stepanenko V.V.* (Kyiv) OXIDIZING PHOSPHORYLATION AGAINST THE BACKGROUND OF ACTION OF LINH CHI MUSHROOM PREPARATION AT THE IRRADIATION AND THE POISONING BY SALTS OF HEAVY METALS 19
- Didenko S.M., Yakushev V.S.* (Zaporizhzhia) CYCLIC NUCLEOTIDES, LEU-ENKEPHALIN AND VASOPRESSIN IN THE CORTEX OF BRAIN AT THE IMMUNIZED ANIMALS AFTER EMOTIONAL STRESS 23
- Isayev S.H., Sorokina I.O., Svechnikova O.M., Sokurenko I.A., Yeryomina Z.H., Bereznyakova N.L., Zhegunova G.P.* (Kharkiv) SYNTHESIS AND RESEARCH OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF METHYL ESTERS OF 3,5-DICHLOR-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS 27
- Slyvchuk Y.I., Rozgoni I.I., Hevkan I.I.* (Kyiv) HISTOMORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF TISSUES OF REPRODUCTIVE ORGANS AND ENERGY METABOLISM IN THE MITOCHONDRIA OF ENDOMETRIUM CELLS IN ADRENAL GLANDS OF HEIFERS WITH VARIOUS PATTERNS OF "FOLIGON" ADMINISTRATION 31
- Mishnyeva K.D., Hontova T.M., Khvorost O.P.* (Kharkiv) RESEARCH OF VIOLA AS A PERSPECTIVE TYPE OF MEDICINAL RAW MATERIAL 35
- Pokotylo O.S., Yanovych V.G.* (Ternopil, Lviv) INFLUENCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON SEPARATE LINKS OF METABOLISM IN GUINEA PIGS AT CHOLESTERIC LOADING 38
- Petrovska H.P.* (Vinnytsia) EFFECT OF NITRIC OXIDE SYNTHASE INHIBITORS ON LYPOPOLYSACCHARIDE EFFECTIVENESS RELATIVELY TO ENZYMATIC SYSTEMS OF XENOBIOTICAL BIOTRANSFORMATION IN RATS 42
- Gorban Y.M., Topolnikova N.V.* (Kyiv) AGE PECULIARITIES OF IRRADIATION CHANGES OF LIPID PEROXIDATION INDICES UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA 46
- Ovsyannikova L.M., Chumak A.A., Kovalenko O.M., Nosach O.V., Alyokhina S.M., Kubashko A.V., Vereskun S.B.* (Kyiv) OXIDATIVE STRESS AS A COMPONENT OF SOMATIC PATHOLOGY DEVELOPMENT IN THE SUFFERERS OF CHORNOBYL ACCIDENT 50
- Mazepa I.V., Mazepa M.A., Mazepa A.I.* (Ivano-Frankivsk) CHEMILUMINESCENT PROPERTIES OF DNA IN TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER MALIGNANT GROWTH 54
- Tarnovska A.V., Otchych V.P., Sanagursky D.I.* (Lviv) ACTIVITY OF ENZYMES OF GLUTATHIONE LINK IN THE EMBRYOS OF LOACH UNDER INFLUENCE OF ANTIBIOTICS OF FLUORHINOLONE CLASS 58
- Ostrivka O.I.* (Ternopil) INFLUENCE OF L-ARGININE AND ENTEROSORBENT "FIBRABET" ON SOME INDEXES OF PROTEIN METABOLISM UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS 61
- Romanovska I.I., Osiychuk O.V.* (Odesa) PHYSICO-CHEMICAL STUDY OF HORSERADISH PEROXIDASE PREPARATION, IMMOBILIZED ON HYDROCELLULOSE MEMBRANE 65
- Korylchuk T.B.* (Ternopil) CORRECTION OF HEPATO-RENAL DISORDERS CAUSED BY TOXIC INJURIES OF CHEMICAL ETIOLOGY 70
- Kukurudz N.I., Hereliuk V.I.* (Ivano-Frankivsk) THE STATE OF PROCESSES OF FREE RADICAL LIPIDS OXIDATION IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS AND THEIR CORRECTION WITH AMIZON IN COMBINATION WITH LIPOFLAVON 74
- Buslyk T.V., Sybirna N.O.* (Lviv) EFFECT OF "L-ARGININE/NO" SYSTEM UPON ERYTHROCYTE MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS 79
- Shvets V.I., Shkrobanets I.D.* (Chernivtsi) INFLUENCE OF EXOGENOUS ANALOG OF VASOPRESSIN ON THE SYSTEM OF REGULATION OF AGGREGATE BLOOD STATE IN ALBINO RATS 82

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

- Хворостінка В.М., Ільченко І.А. (Харків) ЗАСТОСУВАННЯ ФІТОСИРОПУ "БАЛЬЗАМ ГРУДНИЙ" У КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ЗАПАЛЬНИХ ХВОРОБ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ 86
- Князева М.В., Іваннікова С.В. (Харків) ОКИСНЮВАЛЬНИЙ СТРЕС ЯК МОЖЛИВА ПРИЧИНА РОЗРИВУ АНЕВРИЗМИ АОРТИ 89
- Бурда В.А., Люта М.Я., Федорович А.М., Сибірна Н.О. (Львів) ДОСЛІДЖЕННЯ НІТРИТРЕДУКТАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ 92
- Беленічев І.Ф., Павлов С.В. (Запоріжжя) АКТИВАЦІЯ ВІЛЬНОРАДІКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ: КОРЕЛЯЦІЯ З ПАРАМЕТРАМИ ВІЛЬНОЇ ПОВЕДІНКИ 95
- Губський Ю.І., Кравченко В.М., Вороніна Л.М. (Київ, Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНОГО ПОЛІФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ В ЩУРІВ З ГІПЕРТИРЕОЗОМ ТА ЗА УМОВ ВПЛИВУ СПОЛУК З АНТИТИРЕОЇДНИМ ЕФЕКТОМ 98
- Заячківська О.С., Гжегоцький М.Р., Поспішіль Ю.О., Слівоський З., Контурек С. (Львів; Польща) РОЛЬ МЕЛАТОНІНУ ЯК ЦИТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЕЗОФАГІТУ 101
- Цаль О.Я., Бензель Л.В. (Львів) ДОСЛІДЖЕННЯ КАРОТІНОЇДІВ КУЛЬБАБИ ЛІКАРСЬКОЇ 104
- Максимчук Л.Т. (Івано-Франківськ) ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ХВОРИХ З КАРДІОЕМБОЛІЧНИМ ТА АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ 106
- Яковлева Л.В., Марчишин С.М., Козир Г.Р. (Харків, Тернопіль) ВИВЧЕННЯ АНАБОЛІЧНОЇ ДІЇ ЕКСТРАКТУ КОРЕНЕВИЩІ І КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО НА МОДЕЛІ АДРЕНАЛІНОВОГО УРАЖЕННЯ СЕРЦЯ 109
- Лихацька Т.В. (Тернопіль) ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ПОЄДНАНУ ПАТОЛОГІЮ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ 112
- Дасюк Т.Є. (Львів) ФЕРМЕНТАТИВНА ЛАНКА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА СЕЧОСТАТЕВИЙ ХЛАМІДІОЗ ЯК ПОКАЗНИК РІВНЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ 115
- Павиченко О.В. (Харків) ГЕМОЛІЗ ЯК ФАКТОР АКТИВАЦІЇ ВІЛЬНОРАДІКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В РІЗНИХ ТКАНИНАХ ЩУРІВ 118
- Лихацький П.Г., Фіра Л.С. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ВІТАМІННОГО СКЛАДУ ТА ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ У НАДЗЕМНІЙ ЧАСТИНІ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ 121
- Ковальова В.А., Дворщенко К.О., Лукашова К.В., Гайда Л.М., Дворщенко О.С., Остапченко Л.І. (Київ) ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДАЦІЇ ЛІПІДІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА 124
- Татарчук О.М., Кудрявцева В.Є., Гаркава К.Г., Руденко А.І., Єгорова С.Ю., Кушніренко І.В. (Дніпропетровськ, Київ) ВПЛИВ ВИХРОВОГО ІМПУЛЬСНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ НА АКТИВАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ НЕЙТРОФІЛІВ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБІ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ 127
- Ходоровський Г.І., Ясінська О.В., Ясінський В.І., Кузнєцова О.В. (Чернівці) ІНТЕРВАЛЬНЕ ГІПОКСИЧНЕ ДИХАННЯ ЯК СПОСІБ КОНТРОЛЮ ПРОДУКЦІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ 129
- Микуляк Г.І., Миськів О.В., Новіцька Т.І., Думін Р.Є. (Львів) ОКИСНО-ВІДНОВНІ ПРОЦЕСИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ГІПЕРБАРИЧНОЇ ОКСИГЕНАЦІЇ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ОТРУЄНЬ ГРИБАМИ 130
- Бакурова О.М., Матвієнко М.А., Хомутов Е.М., Борзенко Б.Г. (Донецьк) ВПЛИВ РАКУ ШЛУНКА НА ОКИСНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ ТА МЕТАЛОЗАЛЕЖНІ ФЕРМЕНТИ 131
- Зуйков С.О., Шатова О.П., Колесніков В.С., Скоробогатова З.М. (Донецьк) ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПРИ РАКУ ШЛУНКА 132
- Ярошенко Т.Я. (Тернопіль) ПОЗИТИВНИЙ ЕФЕКТ СУБСТРАТУ ДЛЯ NO-СИНТАЗИ L-АРГІНІНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ 133
- Горбенко В.Н., Цепілова І.Я., Бойко В.В., Клімова Є.М., Сушков С.В. (Київ) ВПЛИВ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРЕОКСИДЕННЯ НА ЛІКУВАННЯ І РЕАБІЛІТАЦІЮ ХВОРИХ НА РАК ПАРАЦИТОПОДІБНИХ ЗАЛОЗ 134

BRIEF REPORTS

- Chvorostinka V.M., Ilchenko I.A. (Kharkiv) THE USING OF PHYTOSYRUP "BALM PECTORAL" IN COMPLEX TREATMENT OF INFLAMMATION OF RESPIRATORY PATHWAYS 86
- Knyazyeva M.V., Ivannikova S.V. (Kharkiv) OXIDATIVE STRESS AS A POSSIBLE REASON OF AORTIC ANEURYSM RUPTURE 89
- Burda V.A., Lyuta M.Ya., Fedorovych A.M., Sybirna N.O. (Lviv) INVESTIGATION OF HEMOGLOBIN NITRITE-REDUCTASE ACTIVITY UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS 92
- Belenichev I.F., Pavlov S.V. (Zaporizhzhia) ACTIVATION OF FREE-RADICAL OXIDATION UNDER CONDITIONS OF CHRONICAL IMMOBILIZATION STRESS: CORRELATION WITH PARAMETERS OF FREE BEHAVIOUR 95
- Hubsky Yu.I., Kravchenko V.M., Voronina L.M. (Kyiv, Kharkiv) RESEARCH OF ANTIOXIDATIVE GLUTATHIONE-DEPENDENT POLYENZYMATIC COMPLEX ACTIVITY IN RATS WITH HYPERTHYROIDISM AND UNDER ANTITHYROID EFFECT COMPOUNDS INFLUENCE 98
- Zayachkivska O.S., Gzhegotsky M.R., Pospishil Yu.O., Sliwowsky Z., Konturek S. (Lviv; Poland) ROLE OF MELATONINE AS A CYTOPROTECTOR AT EXPERIMENTAL ESOPHAGITIS 101
- Tsal O.Ya., Benzel L.V. (Lviv) RESEARCH OF CAROTENOIDS OF TARAXACUM OFFICINALE 104
- Maksymchuk L.T. (Ivano-Frankivsk) RESEARCH OF LIPID PEROXIDATION LEVEL AND PROTEIN OXIDATION MODIFICATION AT PATIENTS WITH CARDIOEMBOLIC AND ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE 106
- Yakovlieva L.V., Marchyshyn S.M., Kozyr H.R. (Kharkiv, Ternopil) INVESTIGATION OF ANABOLIC ACTIVITY OF RHIZOMES AND ROOT EXTRACT OF COUCH-GRASS ON THE ADRENALINE HEART INJURY MODEL 109
- Lykhatska T.V. (Ternopil) CHANGES OF ENDOGENIC INTOXICATION PARAMETERS IN PATIENTS WITH COMBINED PATHOLOGY OF DIGESTIVE TRACT AND THEIR CORRECTION 112
- Dasyuk T.Y. (Lviv) ENZYMATIC LINK OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH UROGENITAL CHLAMYDIOSIS AS INDICATOR OF OXIDATIVE STRESS LEVEL 115
- Pavychenko O.V. (Kharkiv) HEMOLYSIS AS THE FACTOR OF FREE RADICAL OXIDATION ACTIVATION IN DIFFERENT RAT TISSUES 118
- Lykhatsky P.G., Fira L.S. (Ternopil) RESEARCH OF VITAMIN COMPOSITION AND FLAVONOID CONTENT IN ABOVE-GROUND PART OF TRIFOLIUM PRATENSE 121
- Kovalyova V.A., Dvorschenko K.O., Lukashova K.V., Gayda L.M., Dvorschenko O.S., Ostapchenko L.I. (Kyiv) LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN BLOOD PLASMA OF RATS AT EXPERIMENTAL GASTRIC ULCER 124
- Tatarchuk O.M., Kudryavtseva V.Y., Garkava K.G., Rudenko A.I., Yegorova S.Yu., Kushnirenko I.V. (Dnipropetrovsk, Kyiv) ACTIVATION PROCESSES OF NEUTROPHILS UNDER ACTION OF VORTICAL PULSE MAGNETIC FIELD IN PATIENTS WITH DUODENAL ULCER 127

УДК 619:615.734:615.9

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ДИМЕКСИДУ
З КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА

Л.І. Петрух, О.П. Панич, О.І. Михалик, М.М. Коваленко, О.В. Пронюк
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ
ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ І КОРМОВИХ ДОБАВОК

Досліджено in vitro взаємодію димексиду (ДМСО) з компонентами молока сирого коров'ячого. Встановлено залежність вмісту жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку від концентрації ДМСО. Одержані дані важливі для пізнання механізмів лікувальної дії та безпечності димексиду у ветеринарній медицині і як препарату, і як розчинника для багатьох хеміотерапевтичних засобів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: димексид, біодоступність, компоненти молока сирого коров'ячого.

ВСТУП. Димексид (диметилсульфоксид) є універсальним розчинником для нерозчинних у воді хеміотерапевтичних засобів, прискорює перенесення розчинених у ньому субстанцій через біологічні мембрани, підсилює дію ліків, впливає на тканинну енергетику [4, 7, 8, 12].

Біологічна дія димексиду вперше вивчена Lovelock і Bishop в 1959 р. Його застосуванню в медицині присвячена монографія М.В. Даниленка і Н.М. Туркевича [4]. Численні експериментальні та клінічні дані підтверджують антимікробні, протизапальні, знеболювальні, антиоксидантні властивості димексиду. Вважають, що ДМСО виконує потенційну захисну функцію, бо вловлює токсичні О[•]Н радикали, які генеруються при фагоцитарній активності гранулоцитів, моноцитів і тканинних макрофагів. Димексид бере участь в активації біосинтезу простагландинів [8].

Диметилсульфоксид застосовують при запальних та інших хворобах [5]. Серед багатьох препаратів, призначених для профілактики й лікування поширених гінекологічних захворювань і маститів у корів, використовують ДМСО-90 [2, 3, 11]. Як ад'ювант ДМСО додають до водних та олійних розчинів пеніциліну й стрептоміцину при лікуванні клінічних ознак маститу в корів [14]. Мастити лікують також прополісом, поєднаним з диметилсульфоксидом [15].

© Л.І. Петрух, О.П. Панич, О.І. Михалик, М.М. Коваленко, О.В. Пронюк, 2006.

Нами використано ДМСО у складі нового антимікробного засобу "Флупетцид", який призначено для профілактики й лікування маститів у корів [10]. Нові знання про особливості фізико-хімічних, фармакологічних і клінічних властивостей ДМСО мають важливе значення для ветеринарної медицини, оскільки стосуються пізнання механізмів дії, біодоступності та впливу ліків на якість продуктів споживання.

Основні засади державної політики щодо забезпечення якості й безпеки молока та молочних продуктів для життя і здоров'я населення визначені законом України [6]. Ветсанконтроль якості й безпеки молока, молочної сировини і молочних продуктів здійснюють за відповідними державними стандартами [13].

Мета роботи – вивчити in vitro взаємодію димексиду з компонентами молока сирого коров'ячого.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Фармакотехнологічні дослідження молока сирого коров'ячого проводять за допомогою аналізатора якості молока "Lactan 1-4 В" (свідоцтво про атестацію МВИ № 2420/230-00 від 21.08.2000). Методика визначення густини, масових часток жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ) і доданої води відповідає державному стандарту. Межа допущеної основної абсолютної похибки, згідно з технічними характеристиками, становить: для густини – 0,5 кг/м³; жиру – 0,1 %; білка – 0,15 %; СЗМЗ – 0,15 %;

доданої води – 1 %; температури – 1 %. Температура вимірювань під час дослідів складала 5-35 °С.

При послідовному додаванні димексиду, кількість якого зростала, до 25,0 мл молока спостерігалось підвищення температури до 45 °С. Досліджувані проби охолоджували в холодильнику перед кожним вимірюванням. Зразки молока отримано з приватних господарств. В експерименті використано димексид виробництва АТ "Галичфарм" серії 160904 в концентрація: 0,4...0,9...1,3...1,8...2,2...2,7...3,1...3,6...4,0...4,5·10⁻⁵ моль.

Досліди проведено в липні-серпні з дотриманням вимог Інструкції до експлуатації "Lactan 1-4 В" та Державної Фармакопеї України (розділ 2.2).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Молоко сире – продукт нормальної секреції молочних залоз однієї або декількох здорових корів [6]. Вміст різних компонентів у молоці корів зазнає значних коливань залежно від породи й віку тварин, функціонального стану організму, годівлі, догляду, стадії лактації, пори року та інших чинників [13].

Встановлено взаємодію димексиду – дипольного апротонного розчинника – з компонентами біосистеми при додаванні до проб молока за звичайних умов. Числові значення основних показників молока змінюються під дією незначних концентрацій ДМСО. Це дає можливість стверджувати, що димексид енергетично й просторово взаємодіє з розчинними в молоці іонами та молекулами. При цьому відбуваються три види взаємодій, що зумовлені силами Ван-дер-Ваальса: взаємодія завдяки орієнтаційним силам дипольного, електростатичного походження; поляризаційна

взаємодія (індукційні сили) та внаслідок дисперсійних сил, які обумовлюють коливання розподілу зарядів у молекулах [9]. Сили Ван-дер-Ваальса відіграють суттєву роль у створенні агрегатного стану речовини, бо сприяють загальному намаганням всіх молекул наблизитись до себе.

Жир – найважливіший компонент молока, представлений здебільшого тригліцеридами (98,0-99,0 %). До його складу входять також лецитин, кефалін, сфінгомієлін, холестерин, ергостерин, цереброзиди, вільні жирні кислоти, жиророзчинні вітаміни, каротиноїди та інші сполуки [1].

ДМСО сольватує компоненти жиру. Сольватація підвищується із зростанням рівня заряджених вихідних біосполук і зарядженого активованого комплексу. Сольвати збільшують вміст жиру в молоці.

У даній дослідній роботі нами вперше виявлено чіткі закономірності, які характеризують властивості димексиду при взаємодії з біосистемою.

У досліджуваних зразках молока вміст жиру становив у середньому 3,54 %.

У результаті експериментальних досліджень отримано дані, які свідчать про те, що 0,1 мл (0,4·10⁻⁵ моль) ДМСО дає приріст відносно молока на 0,42 %; 0,2 мл (0,9·10⁻⁵ моль) ДМСО спричиняє різницю відносно 0,1 мл ДМСО на 0,08 %. При наступному рівномірному збільшенні об'ємів димексиду зафіксовано збільшення вмісту жиру, відповідно, в 2,3; 3,0; 5,5; 7,1; 8,8; 11,0; 12,6; 13,9 раза (табл. 6).

У пробах 10 полікомпонентних модельних біосистем спостерігається добра кореляція. Динаміку зміни вмісту жиру в молоці коров'ячому під дією димексиду в цифрах наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Динаміка зміни вмісту жиру в молоці коров'ячому під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Димексид, моль·10 ⁻⁵	Жир, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	–	3,54	–	–	–
Молоко+0,1 мл ДМСО	0,4	3,96	0,42	–	–
Молоко+0,2 мл ДМСО	0,9	4,04	0,50	0,08	–
Молоко+0,3 мл ДМСО	1,3	4,14	0,60	0,18	0,10
Молоко+0,4 мл ДМСО	1,8	4,24	0,66	0,24	0,06
Молоко+0,5 мл ДМСО	2,2	4,40	0,86	0,44	0,20
Молоко+0,6 мл ДМСО	2,7	4,53	0,99	0,57	0,13
Молоко+0,7 мл ДМСО	3,1	4,66	1,12	0,70	0,13
Молоко+0,8 мл ДМСО	3,6	4,84	1,30	0,88	0,18
Молоко+0,9 мл ДМСО	4,0	4,97	1,43	1,01	0,13
Молоко+1,0 мл ДМСО	4,5	5,07	1,53	1,11	0,10
Середнє значення					0,13

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної з 10 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 0,42]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Білки молока (казеїн, альбуміни й глобуліни) – найцінніші поживні речовини, які добре засвоюються та задовольняють усі потреби організму людини і тварин. Казеїн – фосфопротейд, який становить 75-80 % від загального вмісту білків у молоці. Він є амфотерним білком, але проявляє виражені кислотні властивості. Зі збільшенням кислотності молока заряд з поверхні частин казеїну зникає, що сприяє агрегації його молекул. Найбільш виражена агрегація казеїну спостерігається в ізоелектричній точці, тобто при рН 4,6-4,7. До складу білків молока входять усі амінокислоти, які містяться у білках різних тканин тварин.

Нами встановлено, що утворені аддукти з ДМСО збільшують вміст білка у молоці. Отримано такі середні значення величин: 0,1 мл ($0,4 \cdot 10^{-5}$ моль) ДМСО дає приріст відносно молока на 0,22 %; 0,2 мл ($0,9 \cdot 10^{-5}$ моль) ДМСО спричиняє різницю відносно 0,1 мл на 0,14 %. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

Встановлено зростання вмісту білка при подальшому рівномірному збільшенні об'ємів ДМСО, відповідно, в 2,1; 3,3; 4,5; 5,5; 6,7; 7,7; 8,7; 9,7 рази (табл. 6).

У молоці коров'ячому міститься 83-89 % води і 11-17 % сухого залишку (молочного цукру – 4,0-5,5 %; жиру – 2,8-6,0 %; білкових сполук – 2,5-4,0 %; мінеральних речовин – 0,6-0,8 %; цитратної кислоти – 0,1-0,2 % та ін. компонентів) [6]. Динаміку зміни вмісту сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ) в молоці коров'ячому під дією димексиду представлено в таблиці 3.

Залежність зміни вмісту жиру, білка та СЗМЗ у молоці коров'ячому від концентрації димексиду представлено на рисунку 1.

Густина молока – один із найважливіших показників, які характеризують якість молока і дозволяють говорити про його натуральність. Динаміку зміни густини молока коров'ячого під дією димексиду наведено в таблиці 4.

Таблиця 2 – Динаміка зміни вмісту білка в молоці коров'ячому під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Димексид, моль·10 ⁻⁵	Білок, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	–	2,73	–	–	–
Молоко+0,1 мл ДМСО	0,4	2,95	0,22	–	–
Молоко+0,2 мл ДМСО	0,9	3,09	0,36	0,14	–
Молоко+0,3 мл ДМСО	1,3	3,24	0,51	0,29	0,15
Молоко+0,4 мл ДМСО	1,8	3,41	0,68	0,46	0,17
Молоко+0,5 мл ДМСО	2,2	3,58	0,85	0,63	0,17
Молоко+0,6 мл ДМСО	2,7	3,72	0,99	0,77	0,14
Молоко+0,7 мл ДМСО	3,1	3,89	1,16	0,94	0,17
Молоко+0,8 мл ДМСО	3,6	4,03	1,30	1,08	0,14
Молоко+0,9 мл ДМСО	4,0	4,17	1,44	1,22	0,14
Молоко+1,0 мл ДМСО	4,5	4,31	1,58	1,36	0,14
Середнє значення					0,15

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної з 10 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 0,22]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 3 – Динаміка зміни вмісту СЗМЗ у молоці коров'ячому під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Димексид, моль·10 ⁻⁵	СЗМЗ, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	–	8,38	–	–	–
Молоко+0,1 мл ДМСО	0,4	9,06	0,68	–	–
Молоко+0,2 мл ДМСО	0,9	9,49	1,11	0,43	–
Молоко+0,3 мл ДМСО	1,3	9,95	1,57	0,89	0,46
Молоко+0,4 мл ДМСО	1,8	10,48	2,10	1,42	0,53
Молоко+0,5 мл ДМСО	2,2	11,02	2,64	1,96	0,54
Молоко+0,6 мл ДМСО	2,7	11,46	3,08	2,40	0,44
Молоко+0,7 мл ДМСО	3,1	11,99	3,61	2,93	0,53
Молоко+0,8 мл ДМСО	3,6	12,44	4,06	3,38	0,45
Молоко+0,9 мл ДМСО	4,0	12,89	4,51	3,83	0,45
Молоко+1,0 мл ДМСО	4,5	13,32	4,94	4,26	0,43
Середнє значення					0,48

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної з 10 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 0,68]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

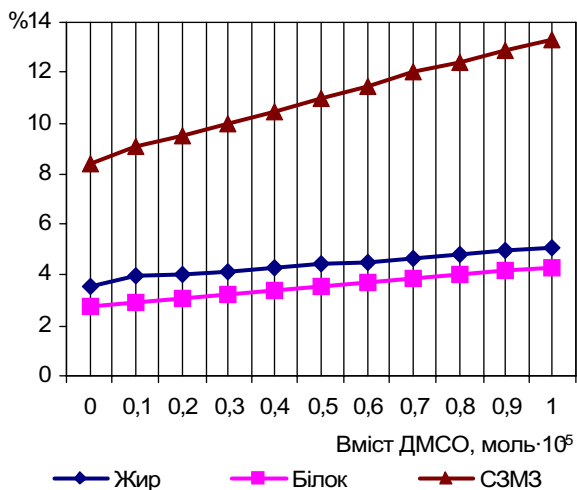


Рис. 1. Динаміка зміни вмісту жиру, білка та СЗМЗ у молоці коров'ячому під дією ДМСО.

При додаванні 0,1 мл ДМСО ($0,4 \cdot 10^{-5}$ моль) густина молока зростає на 2,35 одиниці. При збільшенні об'єму димексиду від 0,1 до 1,0 мл показник густини рівномірно зростає в середньому на 1,7. Залежність зміни показника густини від концентрації димексиду представлено на рисунку 2.

Для вивчення залежності вмісту доданої до молока води від дії молекул димексиду, кількість яких зростала, готували модельну суміш з 20,25 % вмістом води (суміш А). Результати досліджень наведено в таблиці 5.

Із таблиці 5 видно, що при додаванні до молока сирого коров'ячого 0,1 мл ДМСО вміст доданої води зменшується одразу ж на 6,30 %. Кожна наступна порція димексиду зв'язує в середньому 2,70 % доданої води. Встановлено, що $3,1 \cdot 10^{-5}$ моль ДМСО зв'язує 20,25 % води, доданої до молока сирого коров'ячого.

Величини зростання (жир, білок, СЗМЗ, густина молока) та зниження (вода додана)

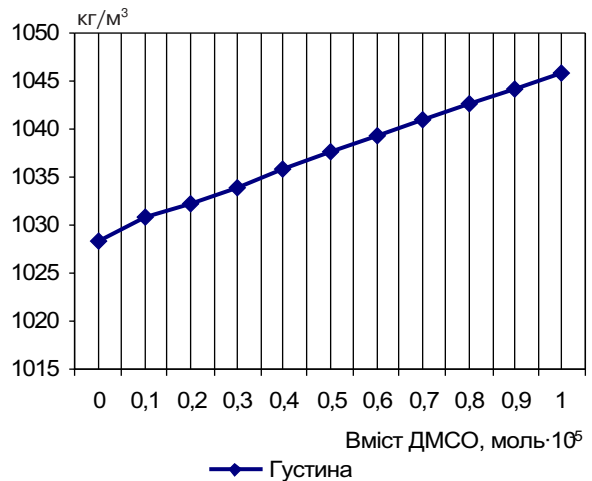


Рис. 2. Динаміка зміни густини молока коров'ячого під дією ДМСО.

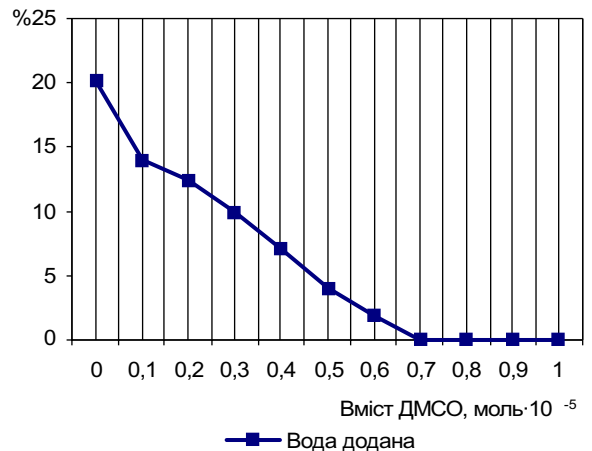


Рис. 3. Динаміка зміни вмісту доданої до молока води під дією ДМСО.

вмісту в модельних біосистемах розраховано як частку від ділення величини кожної наступної біосистеми (графа "різниця 2") на 0,08 (табл. 1); 0,14 (табл. 2); 0,43 (табл. 3); 1,55 (табл. 4 і 5).

Таблиця 4 – Динаміка зміни густини молока коров'ячого під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Димексид, моль · 10 ⁻⁵	Густина, кг/м ³	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Молоко	–	1028,40	–	–	–
Молоко+0,1 мл ДМСО	0,4	1030,75	2,35	–	–
Молоко+0,2 мл ДМСО	0,9	1032,30	3,90	1,55	–
Молоко+0,3 мл ДМСО	1,3	1033,90	5,50	3,15	1,6
Молоко+0,4 мл ДМСО	1,8	1035,80	7,40	5,05	1,9
Молоко+0,5 мл ДМСО	2,2	1037,70	9,30	6,95	1,9
Молоко+0,6 мл ДМСО	2,7	1039,30	10,90	8,55	1,6
Молоко+0,7 мл ДМСО	3,1	1041,10	12,70	10,35	1,8
Молоко+0,8 мл ДМСО	3,6	1042,70	14,30	11,95	1,6
Молоко+0,9 мл ДМСО	4,0	1044,20	15,80	13,45	1,5
Молоко+1,0 мл ДМСО	4,5	1045,80	17,40	15,05	1,6
Середнє значення					1,7

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної з 10 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [модельна біосистема мінус молоко]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 2,35]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 5 – Динаміка зміни вмісту доданої до молока води під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Димексид, моль·10 ⁻⁵	Вода, %	Різниця 1, %	Різниця 2, %	Різниця 3, %
Суміш А	–	20,25	–	–	–
Суміш А+0,1 мл ДМСО	0,4	13,95	6,30	–	–
Суміш А+0,2 мл ДМСО	0,9	12,40	7,85	1,55	–
Суміш А+0,3 мл ДМСО	1,3	9,95	10,30	4,00	2,50
Суміш А+0,4 мл ДМСО	1,8	7,15	13,10	6,80	2,80
Суміш А+0,5 мл ДМСО	2,2	4,00	16,25	9,95	3,20
Суміш А+0,6 мл ДМСО	2,7	1,80	18,45	12,15	2,20
Суміш А+0,7 мл ДМСО	3,1	0,00	0,00	0,00	0,00
Суміш А+0,8 мл ДМСО	3,6	0,00	0,00	0,00	0,00
Суміш А+0,9 мл ДМСО	4,0	0,00	0,00	0,00	0,00
Суміш А+1,0 мл ДМСО	4,5	0,00	0,00	0,00	0,00
Середнє значення					2,70

Примітка. Наведено середні дані з п'яти визначень кожної з 10 полікомпонентних модельних біосистем; різниця 1 – [молоко мінус модельна біосистема]; різниця 2 – [кожна наступна біосистема мінус 6,3]; різниця 3 – [кожна наступна біосистема мінус попередня].

Таблиця 6 – Порівняння величин зростання та зниження вмісту компонентів молока у модельних біосистемах під дією димексиду

Полікомпонентні модельні біосистеми	Показники зміни величин зростання і зниження, рази				
	Жир, приріст	Білок, приріст	СЗМЗ, приріст	Густина, приріст	Вода, спад
Молоко	–	–	–	–	–
Молоко+0,1 мл ДМСО	–	–	–	–	–
Молоко+0,2 мл ДМСО	–	–	–	–	–
Молоко+0,3 мл ДМСО	2,3	2,1	2,1	2,0	2,6
Молоко+0,4 мл ДМСО	3,0	3,3	3,3	3,3	4,4
Молоко+0,5 мл ДМСО	5,5	4,5	4,6	4,5	6,4
Молоко+0,6 мл ДМСО	7,1	5,5	5,6	5,5	7,8
Молоко+0,7 мл ДМСО	8,8	6,7	6,8	6,7	0,0
Молоко+0,8 мл ДМСО	11,0	7,7	7,8	7,7	0,0
Молоко+0,9 мл ДМСО	12,6	8,7	8,9	8,7	0,0
Молоко+1,0 мл ДМСО	13,9	9,7	9,9	9,7	0,0

Таблиця 7 – Співвідношення компонентів у молоці та МБС під дією ДМСО

Модельні біосистеми (МБС)	Жир	Співвідношення між МБС	Білок	Співвідношення між МБС	СЗМЗ	Співвідношення між МБС
Молоко	3,54	1,297	2,73	1,00	8,38	3,0700
Молоко+0,1 мл ДМСО	1,342	1,035	1,00	1,00	3,071	1,0000
Молоко+0,2 мл ДМСО	1,294	0,965	1,00	1,00	3,071	1,0000
Молоко+0,3 мл ДМСО	1,278	0,987	1,00	1,00	3,071	1,0000
Молоко+0,4 мл ДМСО	1,243	0,973	1,00	1,00	3,073	1,0000
Молоко+0,5 мл ДМСО	1,229	0,989	1,00	1,00	3,078	1,0000
Молоко+0,6 мл ДМСО	1,218	0,991	1,00	1,00	3,081	1,0000
Молоко+0,7 мл ДМСО	1,198	0,983	1,00	1,00	3,082	1,0000
Молоко+0,8 мл ДМСО	1,201	1,003	1,00	1,00	3,087	1,0000
Молоко+0,9 мл ДМСО	1,192	0,992	1,00	1,00	3,091	1,0000
Молоко+1,0 мл ДМСО	1,176	0,987	1,00	1,00	3,090	0,9998

Частка показує, у скільки разів збільшується вміст компонентів молока при підвищенні концентрацій ДМСО у модельних біосистемах. Результати наведено в таблиці 6.

Порівняльний аналіз даних таблиці 6 показує, що приріст величин жиру, білка, СЗМЗ і густини молока внаслідок дії ДМСО однаково рівномірний. За результатами досліджень,

димексид інтенсивніше зв'язує компоненти жиру в молоці. Ця відмінність очевидна в концентраціях 2,7 моль·10⁻⁵-4,5 моль·10⁻⁵ ДМСО.

Димексид як гігроскопічний розчинник інтенсивно поглинає воду в біосистемі. Під його дією вміст доданої до молока води рівномірно зменшується в 2,6; 4,4; 6,4 і 7,8 раза.

Будь-яка біосистема характерна для певних співвідношень компонентів. Для досліджуваних нами зразків молока коров'ячого співвідношення жир:білок:СЗМЗ становило 1,297:1,00:3,07. Вплив димексиду на співвідношення цих компонентів у молоці та послідовно у досліджуваних модельних біосистемах (МБС 2:1, 3:2, 4:3, 5:4, 6:5, 7:6, 8:7, 9:8, 10:9, 11:10) наведено в таблиці 7.

Із таблиці 7 видно, що вплив молекул димексиду найвиразніший на компоненти жиру в молоці. ДМСО не порушує співвідношень масових часток білка і СЗМЗ в основній біологічній системі.

Отримані експериментальні дані про особливості фізико-хімічних, фармакологічних і

клінічних властивостей ДМСО мають важливе значення для ветеринарної медицини і фармації.

ВИСНОВКИ. 1. Димексид взаємодіє *in vitro* з основними компонентами молока сирого коров'ячого.

2. Внаслідок дії ДМСО приріст величин жиру, білка, сухого знежиреного молочного залишку і густини молока є однаково рівномірним.

3. Димексид інтенсивніше зв'яже компоненти жиру в молоці.

4. Встановлено, що $3,1 \cdot 10^{-5}$ моль ДМСО зв'яже 20,25 % води, доданої до молока сирого коров'ячого.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бокун А.А. Физико-химические свойства и состав молока и крови коров красно-степной породы в норме и при маститах: Дис. ... канд. биол. наук. – Львов, 1979.

2. Варкалис К. Профилактика и лечение заболеваний коров. Гинекологические заболевания и маститы. – Бюл. НТИ. – Лит. НИИ животнов. и ветерин., 1988. – Т. 60-61. – С. 73-78.

3. Гасанов Н.С., Черепахин Д.А., Кордюков А.П., Гусейнов З.М. Диагностика и лечение маститов у коров с применением неантибиотических препаратов (Диоксидин, Лизомаст, ДМСО-90 и саурелизин) // Диагностика, терапия и профилактика акуш.-гинекол. патологии у животных. – М., 1994. – С. 97-100.

4. Даниленко М.В., Туркевич Н.М. Клиническое применение димексид. – К.: Здоров'я, 1976. – 78 с.

5. Димексид. Dimexidum. Диметилсульфоксид. ФС 42У-11-710-00.

6. Закон України "Про молоко та молочні продукти". – № 1870-IV. – К., 24 червня 2004 р.

7. Иощенко С.Е., Войтенко В.С. О влиянии диметилсульфоксида на тканевую энергетику // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. – М.: Медицина, 1990. – № 2. – С. 62-64.

8. Мульдьяров П.Я., Козлова И.С., Пирязева Н.А. и др. Влияние часовой аппликации диметилсульфоксида на уровень простагландинов, продуктов перекисного окисления липидов и на

активность бета-глюкуронидазы крови больных ревматоидным артритом // Ревматология. – 1989. – № 3. – С. 6-10.

9. Николаев Л.А. Основы физической химии биологических процессов. – М.: Высшая школа, 1976. – 261 с.

10. Панич О.П., Петрух Л.І., Михалик О.І. Мікробіологічні дослідження нового фармакологічного засобу флупетид. – Науково-технічний бюлетень. – 2005. – Вип. 6. – № 3,4. – С. 285-288.

11. Підопригора Г.І. Причини та лікування серозно-катарального маститу у корів в умовах індивідуальних та фермерських господарств // Науковий вісник Держ. акад. вет. медицини. – 2002. – № 5. – С. 74-77.

12. Райхардт Х. Растворители в органической химии. – Ленинград: Химия, 1973. – 150 с.

13. Хоменко В.И. Гигиена получения и ветсан-контроль молока по государственному стандарту. – К.: Урожай, 1990. – 400 с.

14. Andrade J.R.A., Figueiredo J.B., Lins J.L.F.H.A. Avaliacao da liberacao de residuos de antibioticos no leite de vacas, pos medicacao com penicilina e streptomycin, em formulacoes aquosa e oleosa, coadjuvada pelo dimetilsulfoxido. – Arg. brasil. Med. Veter. Zootecn // Belo Horizonte. – 1993. – **45**, № 4. – P. 343-351.

15. Langoni H., Domingues P.F., Funari S.R.C. et al. Prototheca zopfi como agente de mastite bovina: clinica e terapeutica. – Arg. brasil. Med. veter. Zootecn // Belo Horizonte. – 1995. – **47**, № 5. – P. 727-731.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДИМЕКСИДА С КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА

Л.И. Петрух, А.П. Паньч, О.И. Мыхалык, М.Н. Коваленко, А.В. Пронюк
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Д. ГАЛИЦКОГО,
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ КОНТРОЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ
ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Резюме

Исследовано *in vitro* взаимодействие димексид (ДМСО) с компонентами молока сырого коровьего. Установлено зависимость содержания жира, белка, сухого обезжиренного молочного остатка от концентрации ДМСО.

Полученные данные важны для изучения механизмов лечебного действия и безопасности димексид в ветеринарной медицине и как препарата, и как растворителя для многих химиотерапевтических средств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: димексид, биодоступность, компоненты молока сырого коровьего.

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF DIMEXIDUM INTERACTION WITH MILK COMPONENTS

L.I. Petrukh, O.P. Panych, O.I. Mykhalyk, M.M. Kovalenko, O.V. Pronyuk
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY D. HALYTSKY,
STATE SCIENTIFIC-RESEARCH CONTROL INSTITUTE OF VETERINARY
PREPARATIONS AND FOOD ADDITIVES

Summary

It was investigated *in vitro* the interaction of dimexidum and fresh cow milk components. Dependence of fat, protein, dry non-fat milk residium content on PEG-400 concentration was determined.

The data obtained were important for study of treatment mechanisms and safety of dimexidum in veterinary medicine both as a drug and as a dissolvent for different chemotherapeutic drugs.

KEY WORDS: dimexidum, bioaccessibility, fresh cow milk components.

Адреса для листування: Л.І. Петрух, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, Львів, 79010, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ РОЗЧИНУ РИБОФЛАВІНУ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

О.А. Євтіфєєва, В.А. Георгіянц, О.А. Здорик, Л.В. Бондарева
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДЕРЖАВНА ІНСПЕКЦІЯ З КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ У ХАРКІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Проведено валідацію аналітичної методики кількісного визначення розчину рибофлавіну 0,02 %, виготовленого в умовах аптеки за допомогою звичайної спектрофотометрії методом стандарту. В статті наведено результати дослідження та їх обговорення. Для валідації методик було використано вимоги Європейської та Української Фармакопей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фармацевтичний аналіз, валідація аналітичних методик, розчин рибофлавіну 0,02 %.

ВСТУП. Одним із пріоритетних напрямків державної діяльності є охорона здоров'я. Важлива складова цієї діяльності – забезпечення населення України доступними та необхідними ліками. Лікарські засоби аптечного виготовлення дозволяють забезпечити індивідуальний підхід до лікування хворих і мають при цьому доступну для широких верств населення ціну. Сьогодні виготовлення лікарських засобів в умовах аптек скорочується за рахунок розширення асортименту готових лікарських форм. Проте потреба в екстемпоральних препаратах усе ж існує.

Щоб у цій частині фармацевтичної галузі відбувалися прогрес та вдосконалення, були затверджені Правила виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки [7]. Згідно з ними, кожну серію лікарських засобів потрібно виготовляти відповідно до технологічної інструкції і всі методики контролю якості сировини та виготовлених лікарських засобів повинні бути валідовані. І хоча цей пункт Правил вводиться в дію з 01.01.2009 року (наказ МОЗ України № 361 від 19.07.2005 року), створення надійної системи забезпечення якості екстемпоральних лікарських засобів в аптеках шляхом розробки офіційних рекомендацій з валідованих аналітичних методик і випробувань для цих ліків є актуальним напрямком сьогодення фармацевтичної галузі.

© О.А. Євтіфєєва, В.А. Георгіянц, О.А. Здорик, Л.В. Бондарева, 2006.

Державна Фармакопея України (ДФУ) приділяє багато уваги теоретичним і методологічним аспектам проведення аналітичної валідації. У ДФУ введено національну загальну статтю “Валідація аналітичних методик і випробувань”. У Доповненні 1 до ДФУ дану статтю суттєво розширено [2]. Ця тематика активно обговорюється та висвітлюється в спеціальній літературі [2, 5, 6, 12].

Метою нашої роботи є валідація аналітичної методики кількісного визначення конкретної лікарської форми – розчину рибофлавіну 0,02 %. Ця лікарська форма належить до напівфабрикатів, які попередньо виготовляють в аптеці та найчастіше використовують у різних прописах екстемпоральних лікарських засобів.

У літературі описано методики кількісного аналізу рибофлавіну, які базуються на використанні титриметричних та інструментальних аналітичних методів. Кількісне визначення субстанції рибофлавіну за ДФУ – це звичайна спектрофотометрія методом показника поглинання (МПП) [8].

Як відомо, валідація аналітичної методики є експериментальним доказом того, що методу можна застосовувати для розв'язання передбачуваних завдань. Щоб оцінити метрологічну коректність методики, недостатньо знати похибку окремих операцій, необхідних для виконання випробування: підготовка випробовуваних зразків, стандартів, реактивів, характеристика використовуваного обладнання

(параметри), умови одержання калібрувальних кривих і т. ін. Практичний інтерес становить невизначеність кінцевого результату аналізу. На сьогодні вимоги до невизначеності фармацевтичного аналізу внесені в ДФУ для кількісного визначення і є ключем для розв'язання фактично всіх завдань фармацевтичного аналізу, пов'язаних з метрологією, починаючи з вибору аналітичного обладнання та закінчуючи процедурами контролю якості в аналітичній лабораторії.

Метою валідації є експериментальне виявлення за допомогою валідаційних характеристик (точність, правильність, лінійність тощо) всіх джерел невизначеності методики та оцінка їх спільного впливу на невизначеність кінцевого результату. Тобто прогноз невизначеності моделює такий "найгірший випадок" для аналізу – коли похибки від окремих операцій методики (зважування, доведення до об'єму, взяття аліквот, RSD паралельних вимірювань для обладнання) дорівнюють максимально допустимим вимогам ДФУ (для субстанцій) чи АНД (для готових лікарських засобів). Прогноз робиться, виходячи зі специфікацій – на ваги, мірні колби, піпетки, обладнання, за допомогою розрахункової формули [1, 9].

На сьогодні критерії невизначеності результату аналізу для кількісного визначення субстанцій та готових лікарських засобів внесені в ДФУ і є обов'язковими для всіх офіційних результатів аналізу [10, 12].

Враховуючи це, при виборі оптимального методу кількісного визначення розчину рибофлавіну 0,02 %, ми зупинились на методиці звичайної спектрофотометрії методом стандарту.

По-перше, спектрофотометрія є поширеним методом контролю, який характеризується високою експресністю, широким спектральним діапазоном аналізованих речовин, порівняно з титриметричними методами вищою чутливістю та специфічністю.

По-друге, у звичайній спектрофотометрії похибка власне спектрометричних вимірювань ("спектрофотометрична похибка") мало залежить від типу аналізованої речовини і вибору аналітичної довжини хвилі, визначається класом спектрофотометра і не перевищує 0,5 %. З урахуванням похибок приготування розчинів це призводить до сумарної похибки, яка не перевищує 1 % [2, 4].

По-третє, при звичайній спектрофотометрії метод стандарту, порівняно з методом показника поглинання, є надійнішим, бо можливість застосування методу показника поглинання

необхідно обґрунтовувати у кожному конкретному випадку [11, 13]. При використанні методу стандарту основним джерелом невизначеності результатів є, як правило, пробопідготовка.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Кількісне визначення розчину рибофлавіну 0,02 % спектрофотометричним методом стандарту проводили за допомогою вимірювання при 444 нм (обрана аналітична хвиля) оптичних густин розчину випробуваного зразка (A_x) і розчину порівняння (A_{st}) з концентрацією C_{st} та розрахунку концентрації C_x аналізованого компонента, виходячи з формули [1]:

$$X = C_x/C_{st} = A_x/A_{st}$$

Вимірювання оптичних густин випробуваного розчину і розчину порівняння проводили за одних і тих самих умов з мінімальним інтервалом у часі.

При проведенні досліджень використовували субстанцію рибофлавіну (серія UQ 20720156 від 12.01.2004 року, сертифікат аналізу № 290 від 29.01.2004 року), яка відповідає вимогам ДФУ.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр 46 "Ломо" (завірений наказом № 42 від 19.01.2005 року); ваги WA-21. Для роботи використовували мірний посуд класу А (першого класу), який відповідає вимогам ДФУ, піпетки, що відповідають ДОСТ 29227-91 [3].

При проведенні валідації методики кількісного визначення досліджували такі валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, правильність, а також точність.

1.1. Методика кількісного визначення. 0,02 г (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл і суспендували у 5 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 70 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ доводили об'єм розчину водою Р до 100,0 мл. Далі 2,5 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували чотири паралельних розведення).

Відразу після виготовлення вимірювали оптичну густину розчинів випробуваного зразка та зразка порівняння при довжині хвилі 444 нм відносно розчинника – вода Р.

Вимірювання оптичної густини проводили з вийманням кювети.

1.2. Специфічність. Для визначення специфічності було записано спектри залежності поглинання світла від довжини хвилі у діапазоні 200-500 нм випробуваного зразка та розчину порівняння рибофлавіну. Потім характеристичні

спектри цих розчинів було порівняно між собою та з офіційними даними (монографія ДФУ [8]). Значення максимумів у цьому діапазоні довжин хвиль було прийнятним, тобто їх положення не відрізнялося (не більше ніж ± 2 нм для УФ-ділянки (190-400 нм), ± 3 нм – для видимої ділянки (400-900 нм)) від зазначеного в ДФУ.

1.2.1. Вплив плацебо. При спектрофотометрії підтвердження специфічності для розв'язання передбачуваного завдання є доказом того, що величина оптичної густини розчину плацебо не перевищує 1 % від значення робочої оптичної густини або 10 % від допусків вмісту діючої речовини в препараті (В). Тобто зміщення положення максимуму за рахунок впливу плацебо не повинно перевищувати межі зміщення положення максимуму або оптичної густини модельного розчину.

Вимірювали оптичну густину (A_{blank}) розчину плацебо 3 рази з вийманням кювети. Паралельно визначали оптичну густину (A_{st}) розчину порівняння.

1.3. Діапазон застосування аналітичної методики та концентрації аналізованих розчинів. Методика валідована у діапазоні концентрацій 0,017-0,023 мг/мл, що відповідає 85-115 % відповідно до вимог АНД [7].

1.4. Модельні розчини, проведення вимірювань та розрахунки. Розчин порівняння готували за схемою, описаною вище. Модельні розчини готували за такою схемою: m г (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 250 мл і суспендували у 15 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 170 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до (20 ± 2) °С доводили об'єм розчину водою Р до 250,0 мл. Далі 2,5 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували три паралельних розведення). Фактичні величини ($X_{\text{факт}}$) розраховували за формулою:

$$X_{\text{факт}} = C_i \cdot 100 \cdot 100 / C_{\text{st}} \cdot 250$$

Вимірювання проводили за схемою: модельні розчини 1-3, розчин порівняння, модельні розчини 4-6, розчин порівняння, модельні розчини 7-9, розчин порівняння, модельні розчини 10-12, розчин порівняння, модельні розчини 13-15. Було одержано 4 значення оптичних густин для розчину порівняння та 15 значень оптичних густин для модельних розчинів. Розраховували відношення середніх значень оптичних густин для кожного з 15 розчинів до середнього значення оптичної густини розчину порівняння, одержуючи величини $Y_i = (A_i / A_{\text{st}}) \cdot 100$.

Знаходили також величину $Z = 100 \cdot (Y_i / X_i)$, яка є визначеною концентрацією у відсотках до введеної. Результати розрахунків представлено у таблиці 1.

1.5. Лінійність. Оцінку лінійної залежності проводили таким чином: для одержаних по три значень оптичної густини A_{ij} для кожного (i) з п'яти розчинів зразка розраховували середні значення оптичної густини для кожного розчину зразка (A_i), а також відношення оптичних густин (A_i / A_{st}) для кожного розчину до оптичної густини розчину порівняння. Встановлювали концентрацію (X_i) у відсотках від номінальної концентрації у кожному розчині зразка за формулою:

$$X_i = C_i \cdot 100 \cdot 100 / C_{\text{st}} \cdot 250$$

Відношення оптичної густини кожного розчину у відсотках до оптичної густини розчину порівняння розраховували за формулою:

$$Y_i = (A_i / A_{\text{st}}) \cdot 100$$

1.6. Правильність та збіжність оцінювали за результатами аналізу 15 модельних зразків. Отримані результати наведено в таблиці 1. Критерії придатності було взято з [12]. При цьому допуски вмісту рибофлавіну в нашому зразку становили $V = \pm 15$ % [7].

1.7. Внутрішньолабораторна точність. Аналізували за методикою g зразків в одній і тій самій серії розчинів, які досліджували в різні дні. Дослідження впливу внутрішньолабораторних варіацій – різні дні (28.11.05 та 5.12.05) та різні аналітики – проводили за результатами аналізу 15 модельних зразків. Отримані результати – величини Z_{intra} (єдине середнє значення), RSD_z (відносне стандартне відхилення), RSD_{intra} (єдине середнє значення відносного стандартного відхилення) та Δ_{intra} (відносний довірчий інтервал) – наведено в таблиці 4.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Специфічність. Було встановлено середнє значення розчину плацебо: $A_{\text{blank}} = 0,0003$; $A_{\text{st}} = 0,299$. Вне-сок плацебо в сумарне поглинання препарату складає $\delta_{\text{exc}} = 100 \cdot 0,0003 / 0,299 = 0,10$ % [5]. Для доказу того, що відносна систематична погрішність δ_{noise} (%) (у нашому випадку $\delta_{\text{noise}} = \delta_{\text{exc}}$ [5]), яка вноситься розчинником у визначення аналізованої речовини, є незначущою порівняно з максимально припустимою невизначеністю аналізу (Δ_{As} %), повинна виконуватися нерівність: $\delta_{\text{noise}} (\%) \leq \max \delta$. Враховуючи припуски вмісту рибофлавіну, використовуючи розрахункові формули [9], отримали значення максимально припустимої невизначеності методики аналізу розчину рибофлавіну 0,02 % ($\max \Delta_{\text{As}} = 4,8$ %) та критичне значення систематичної погрішності ($\max \delta = 0,32 \cdot \max \Delta_{\text{As}} = 1,54$).

Таблиця 1 – Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка

№ модельного розчину	Наважки рибофлавіну, мг ($m_{st}=0,0200$)	Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{факт}\%$)	Оптичні густини A_i ($A_{st}=0,2997$)	Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i\%$)	Знайдено у % до введеного $Z_i=100(Y_i/X_i)$
1	0,0425	85,00 %	0,255	85,09	100,10
2			0,255	85,09	100,10
3			0,255	85,09	100,10
4	0,0463	92,60 %	0,280	93,43	100,89
5			0,282	94,09	101,61
6			0,281	93,76	101,25
7	0,0500	100,00 %	0,302	100,77	100,77
8			0,301	100,43	100,43
9			0,302	100,77	100,77
10	0,0538	107,60 %	0,327	109,11	101,40
11			0,328	109,44	101,71
12			0,328	109,44	101,71
13	0,0575	115,00 %	0,347	115,78	100,68
14			0,347	115,78	100,68
15			0,348	116,12	100,97
середнє $Z\%$ =					100,88
відносне стандартне відхилення $RSDz\%$ =					0,5653
відносний довірчий інтервал $\Delta Z\%$ =					0,9957
критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{as}\%$ =					4,80 %
систематична погрішність δ =					0,88
критерій невизначеності систематичної погрішності 1) $\delta \leq \Delta_{as}/\sqrt{g} = 1,54/\sqrt{15} = 0,397 \approx 0,40$; 2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq 1,54$					0,40
загальний висновок про методику					коректна

Таблиця 2 – Результати дослідження лінійності при валідації аналітичної методики

№ модельного розчину	Оптичні густини A_{ij} ($A_s=0,3017$)	Середні значення (A_i) для кожного з п'яти розчинів	Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($x_i\%$)	$y_i = (A_i/A_{st}) \cdot 100$	Значення
1	0,255	0,2550	85,00	84,52	
	0,255				
	0,255				
2	0,280	0,2810	92,60	93,14	
	0,282				
	0,281				
3	0,302	0,3017	100,00	99,99	
	0,301				
	0,302				
4	0,327	0,3277	107,60	108,61	
	0,328				
	0,328				
5	0,347	0,3473	115,00	115,13	
	0,347				
	0,348				
b=					1,0225
S_b =					0,0242
a=					-2,0192
критичне значення для вільного члена лінійної залежності 1) $\leq t(95\%, g-2) \cdot S_a = 2,35 \cdot 0,691 = 1,62$; 2) якщо не виконується 1), то a					$\leq 2,99$
S_a =					2,4297
$RSD_{a,rest}$ =					0,5728
критерій остаточного стандартного відхилення RSD_0					$\leq 2,04$
r=					0,9992
критерій лінійного коефіцієнта кореляції r					$\geq 0,9919$
висновок					відповідає

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 3 – Результати перевірки внутрішньолабораторної точності

№ розчину	Величини Z_i	
	опит 1	опит 2
1	100,00	100,73
2	100,00	100,73
3	100,00	100,73
4	100,89	100,41
5	101,61	100,41
6	101,25	100,41
7	100,77	100,00
8	100,43	100,67
9	100,77	100,67
10	101,40	100,09
11	101,71	100,40
12	101,71	100,71
13	100,68	102,08
14	100,68	102,37
15	100,97	102,08
середнє	100,88	100,83
об'єднане середнє $Z_{intra}\%$	100,86	
$RSD_z\% =$	0,59	0,73
$RSD_{intra}\% =$	0,67	
$\Delta_{intra}\% \leq 4,8\%$	0,29	

Як бачимо, нерівність $0,10\% \leq 1,54\%$ виконується, тобто фонове поглинання є незначущим і методика характеризується припустимою специфічністю.

Лінійність. З практичної точки зору, для побудови графіка залежності оптичної густини як функції концентрації працювали в нормалізованих координатах, подаючи концентрації та аналітичний сигнал у відсотках до номінальних значень [5]:

$$X_i = C_i/C_{st} \cdot 100\% \quad Y_i = A_i/A_{st} \cdot 100\%$$

отримана пряма – на рисунку 1.

Отримані результати обробляли методом найменших квадратів для прямої $Y=b \cdot X+a$. Одержані результати – величини b , S_b , a , S_a , S_r (остаточне стандартне відхилення) та r (коефіцієнт кореляції) – наведено в таблиці 2.

Вимоги до остаточного стандартного відхилення точок навколо прямої було отримано за розрахунковими формулами [5, 9, див. табл. 2], одержано критичне значення $RSD_o \leq 1,508$.

За одержаними результатами (див. табл. 2) у нашому випадку виконуються вимоги до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується на всьому діапазоні концентрацій (85-115 %).

Правильність та збіжність. Як свідчать отримані результати (див. табл. 1), методика аналізу характеризується достатньою збіжністю та правильністю на всьому діапазоні концентрацій (85-115 %).

Внутрішньолабораторна точність. Величина Δ_{intra} не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність аналітичної мето-

дики [5, 9], тобто $\Delta_{intra} \leq 4,8\%$. Як бачимо з таблиці 3, нерівність виконується, тобто внутрішньолабораторна точність підтверджується.

Прогноз повної невизначеності методики. Для підтвердження коректності методики при відтворюванні в другій лабораторії необхідно розрахувати прогноз повної невизначеності методики.

Передбачувана повна невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність результатів аналізу для допусків вмісту $\pm 15\%$ ($\max \Delta_{As} \leq 4,8\%$). Повну невизначеність розраховують за формулою [3]:

$$\diamond x_i \quad \blacksquare y_i = 1,0225 \cdot x_i - 2,0192 \quad \text{— Лінійний } (y_i = 1,0225 \cdot x_i - 2,0192)$$

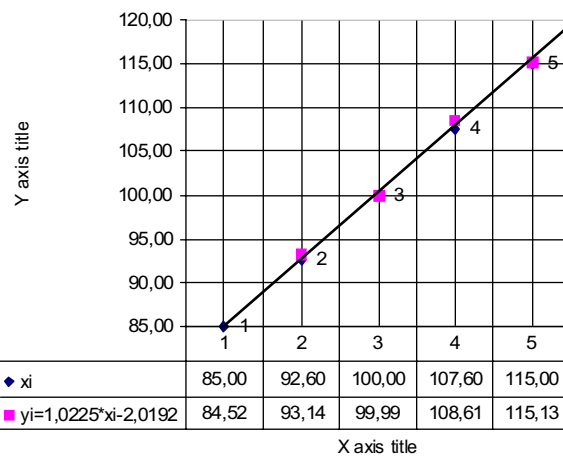


Рис. 1. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації рибофлавіну в нормалізованих координатах.

Таблиця 4 – Розрахунок невизначеності пробопідготовки методики кількісного спектрофотометричного визначення рибофлавіну

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність
Розчин порівняння		
Зважування на аналітичних вагах	m_{st}	0,0002 г/0,02 г · 100 % = 1 %
Доведення до об'єму мірної колби місткістю 100 мл	100	0,12 %
Узяття аліквоти піпеткою 5 мл	5	0,6 %
Доведення до об'єму мірної колби місткістю 50 мл	50	0,17 %
Випробуваний розчин		
Зважування на аналітичних вагах	0,05	0,0002 г/0,05 г · 100 % = 0,4 %
Доведення до об'єму мірної колби місткістю 250 мл	250	0,08 %
Узяття аліквоти піпеткою 5 мл	5	0,6 %
Доведення до об'єму мірної колби місткістю 50 мл	50	0,17 %
Повна невизначеність пробопідготовки становить (із урахуванням випробуваного розчину та розчину порівняння): $\Delta_{sp} = \sqrt{(1^2 + 0,12^2 + 0,6^2 + 0,17^2 + 0,4^2 + 0,08^2 + 0,6^2 + 0,17^2)} = 1,399 \approx 1,40 \%$		

$$\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)},$$

де Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки;
 Δ_{FAO} – передбачувана невизначеність вимірів (кінцева аналітична операція).

Невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} розраховують за формулою [2, 9]: $\Delta_{SP} = \sqrt{\sum \Delta_{v,r}^2}$,

де $\Delta_{v,r}$ – складова невизначеності пробопідготовки, яка пов'язана з конкретною операцією пробопідготовки (зважування наважки, аліквоти малого об'єму, доведення до об'єму в мірній колбі і т. ін.). Як складові використовують граничну припустимість мірного посуду, рекомендовану ДФУ [1].

При прогнозі невизначеності кінцевої аналітичної операції Δ_{FAO} спектрофотометричного аналізу слід застосовувати величину ($RSD_A = 0,52 \%$) відносного стандартного відхилення оптичної густини з вийманням кювети, яку було одержано при обширному міжлабораторному експерименті в межах 3 Раунду Програми професійного тестування лабораторій з аналізу якості лікарських засобів [6]. Дана величина характеризує ту реальну точність, яка на даний час у вітчизняних державних лабораторіях може бути досягнута.

Враховуючи наявність випробуваного розчину та розчину порівняння, а також рекомендації ДФУ [1] проведення не менше 3 паралельних вимірювань оптичної густини з вийманням кювети для кожного розчину, одержуємо для спектрофотометричного аналізу:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2 \cdot RSD_A \cdot 1,645 / \sqrt{3}} = 1,34 \cdot RSD_A = 1,34 \cdot 0,52 = 0,70 \%,$$

де 1,645 – коефіцієнт Гауса для однобічної ймовірності 95 %.

Це рівняння характеризує ту невизначеність кінцевої аналітичної операції спектрофотометричного аналізу, яка характерна сьогодні для державної системи лабораторій з аналізу якості лікарських засобів.

Прогноз невизначеності пробопідготовки. Одержані результати наведено в таблиці 4. Отже, основний внесок у невизначеність пробопідготовки робить піпетка малого об'єму (0,6 %) і мала наважка 0,02 г (1 %).

Повна невизначеність аналітичної методики. $\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)} = 1,57 \%$. Основний внесок у повну невизначеність спектрофотометричного аналізу робить пробопідготовка (1,40 %).

Як бачимо, передбачувана повна невизначеність результатів для методики кількісного спектрофотометричного визначення розчину рибофлавіну 0,02 % не перевищує критичного значення (4,8 %), тобто методика буде давати коректні результати і в інших лабораторіях та аптеках.

ВИСНОВОК. Науково обґрунтовано використання спектрофотометричного методу кількісного визначення розчину рибофлавіну 0,02 %, виготовленого в умовах аптеки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-

експертний фармакопейний центр. – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 36-41. – Доповнення 1. – 2004. – С. 1.

2. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 58-67. – Доповнення 1. – 2004. – С. 2-4, 445-446.

3. ГОСТ 29228-91. Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания. – М.: Изд-во стандартов, 1992. – 9 с.

4. Гризодуб А.И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42-50.

5. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпрудников Ю.В. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3-17.

6. Гризодуб А.И., Зволинская Н.Н., Архипова Н.Н. и др. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях // Фармаком. – 2004. – № 2. – С. 20-34.

7. Про затвердження Правил виробництва

(виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки: Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 року.

8. Рибофлавін // Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 446-447. – Доповнення 1. – 2004. – С. 445-446.

9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N // Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 58-67. – Доповнення 1. – 2004. – С. 187-214.

10. EN 45001:1989. General criteria for the operation of testing laboratories.

11. European Pharmacopoeia, 3rd edition, Supplement 2000, p. 9, "2.2.25. Adsorption spectrophotometry. Ultraviolet and visible."

12. Guide to the expression of uncertainty in measurement. – Geneva: ISO, 1993.

13. Said Laik Alt, Arnold Daas, Peter Castle. Results of ultraviolet and visible absorption spectrophotometry – collaborative trial // Pharmeuropa. – 2003. – 15, № 4 (October). – P. 633-636.

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСТВОРА РИБОФЛАВИНА АПТЕЧНОГО ИЗГОТОВЛЕНИЯ

О.А. Евтифеева, В.А. Георгиянц, А.А. Здорик, Л.В. Бондарева

*НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ИНСПЕКЦИЯ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
В ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ*

Резюме

Проведена валидация аналитической методики количественного определения раствора рибофлавина 0,02 %, изготовленного в условиях аптеки с помощью обычной спектрофотометрии методом стандарта. В статье приводятся результаты исследования и их обсуждение. Для валидации методик были использованы требования Европейской и Украинской Фармакопей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фармацевтический анализ, валидация аналитических методик, раствор рибофлавина 0,02 %.

SCIENTIFIC BASES FOR USAGE OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF RIBOFLAVINE SOLUTION

O.A. Evtifeyeva, V.A. Georgiyants, O.A. Zdoryk, L.V. Bondareva

*NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV
STATE INSPECTION FOR MEDICINE QUALITY CONTROL OF THE MINISTRY OF HEALTH CARE
OF UKRAINE, KHARKIV*

Summary

The validation of analytical methods of quantitative determination of riboflavine 0,02 % solution was carried out. The spectrophotometric methods were used (ordinary and spectrophotometric standard). Results of investigation are discussed in the article. For validation methods the requirements of European and Ukrainian Pharmacopoeas were used.

KEY WORDS: pharmaceutical analysis, validation of analytical methods, riboflavine 0,02 % solution.

Адреса для листування: В.А. Георгиянц, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ОКИСНЮВАЛЬНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ НА ТЛІ ДІЇ ПРЕПАРАТУ ГРИБА ЛІНЬ ЧІ ПРИ ОПРОМІНЕННІ ТА ОТРУЄННІ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

В.В. Степаненко

НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМ. П.Л. ШУПІКА

В експерименті на щурах доведено лікувальну ефективність препарату гриба Лінь Чі при іонізуючому опроміненні та отруєнні солями свинцю і кадмію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: екстракт гриба Лінь Чі, експеримент, радіація, окиснювальне фосфорилювання, кадмій, свинець.

ВСТУП. До найбільш ефективних напрямків застосування природних сполук за умов тривалого впливу низькодозового іонізуючого опромінення слід віднести антиоксидантний (антирадикальний) захист від індукованого радіацією посилення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у біологічних рідинах і органах опроміненого організму. Кожний організм має свою фізіологічну антиоксидантну систему (ФАОС) – найважливіший фактор захисту внутрішнього середовища. Компонентами ФАОС є ферменти супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатіон-пероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, церулоплазмін. Малі дози радіації, в тому числі з низькою потужністю дози, діють переважно опосередковано на функції судинної системи, через зміни нейрогуморальної та ендокринної регуляції, а також шляхом поступового виснаження ФАОС та інших захисних систем. Мало вивчено функціональну активність мітохондріальних дихальних ланцюгів, які є головними відновниками в клітинах, здатними до нейтралізації оксидативного стресу [3]. При дослідженні препаратів на їх радіопротекторні властивості дуже важливо вивчати їх вплив на стан процесів окиснювального фосфорилювання (ОФ) у тканинах, який є необхідною умовою для реалізації радіозахисного ефекту [1]. До шкідливих факторів навколишнього середовища належить не тільки радіація, але й солі важких металів, зокрема свинець. Свинець змінює проникність мембран, знижує їх стійкість до осмотичного

тиску, спричиняє токсичну дію на мембрани, зменшуючи антиоксидантну активність еритроцитарних мембран та цитозолу, прискорюючи накопичення перекису в мембранних ліпідах.

Відомо, що гриб Лінь Чі (*Ganoderma Lucidum*) покращує забезпечення тканин киснем і підвищує стійкість до гіпоксії [4]. Лікувальні властивості цього гриба зумовлені його унікальним хімічним складом – він містить полісахариди у вигляді β -D-глюканів, тритерпени, аденозин, чистий органічний германій, що забезпечує найбільш ефективне засвоєння кисню в клітинах організму, антиоксидантну, імуновідновлюючу, радіо-, ангіо- та гепатопротекторну дії. Препарати з гриба сприяють зниженню кількості вільних радикалів кисню і процесів ПОЛ. Водночас вплив рослинного екстракту Лінь Чі на процеси утилізації молекулярного кисню, що здійснюються дихальними ланцюгами мітохондрій, не вивчено.

Метою роботи було вивчити вплив рослинного безалкогольного екстракту Лінь Чі (200 мл) виробництва фабрики "Fito Pharma Co.,Ltd" на процеси пероксидації, показники ОФ у печінці й мозку опромінених і контамінованих солями свинцю та кадмію щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення поставленої мети було проведено досліди на 78 статевозрілих білих щурах – самцях та самках. Для створення модельного ураження було застосовано іонізуюче опромінення в дозі 0,5 Гр та додавання до питної води солей важких металів кадмію і свинцю. Перед опро-

мінням щурам відповідних груп впродовж 2 тижнів додавали до раціону екстракт Лінь Чі в різних дозах. Після опромінення цим же групам тварин продовжували додавати ту саму дозу екстракту до їжі. Через 7 діб після опромінення щурів забивали за допомогою гільйотини. Для дослідження процесів ОФ в усіх метаболічних станах мітохондрій за Чансом і Уільямсом застосовували полярографічний метод дослідження з використанням полярографа LP-7(E). Оцінювали такі показники дихання мітохондрій: V_1 – швидкість дихання на ендогенних субстратах окиснення, V_2 – швидкість дихання на екзогенному сукцинаті, V_3 – швидкість дихання після додавання АДФ, V_4 – швидкість контрольованого дихання, яке настає після спонтанного гальмування процесу, $\text{АДФ}/\Delta t$ – час фосфорилування АДФ, ДКч – "дихальний контроль Чанса", який характеризує ступінь спряженості процесів окиснення з процесами фосфорилування АДФ [5]. Статистичну обробку отриманих даних виконували із застосуванням стандартних статистичних пакетів [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведено оцінку ефективності екстракту Лінь Чі за загальними фізіологічними показниками, такими, як: загальні поведінкові реакції, температура тіла, апетит, працездатність, артеріальний тиск. При цьому виявлено, що модельна патологія викликає зміни досліджуваних параметрів, вживання тваринами солей важких металів на тлі іонізуючого опромінення посилює розвиток патологічного процесу.

Аналіз фізіологічних параметрів щурів за умов впливу іонізуючого опромінення, солей важких металів та екстракту Лінь Чі свідчив про відсутність змін маси та температури тіла експериментальних тварин в усіх досліджуваних групах. Однак працездатність (за тестом тривалості утримування на воді) щурів була достовірно зміненою: якщо в опромінені та отруєні солями важких металів тварин час

плавання був значно зменшеним порівняно з контрольними інтактними щурами, то всі тварини, які отримували екстракт Лінь Чі, мали відновлену працездатність практично на рівні інтактних щурів.

Результати досліджень впливу гриба Лінь Чі на процеси ОФ у печінці інтактних і опроміненіх щурів наведено у таблиці 1.

Наведені у таблиці 1 дані свідчать про те, що вживання щурами рослинного екстракту Лінь Чі у дозі 3 мл /кг сприяло значній стимуляції швидкісних показників ОФ і суттєвому збільшенню дихального контролю. Дані вказують на те, що екстракт не тільки збільшує швидкість окиснення біологічних субстратів, але й сприяє підвищенню продукції макроергічних сполук, підвищує ступінь спряженості процесів окиснення з процесами фосфорилування АДФ. Вони також показують, що на 7-му добу після опромінення в дозі 0,5 Гр в печінці щурів спостерігалася стимуляція процесів ОФ. Час фосфорилування (ТФ) і дихальний контроль за Чансом (ДКч) залишалися у нормі.

Якщо піддослідні щури, яких опромінювали, отримували препарат, то також спостерігалася інтенсифікація процесів окиснення субстрату і підвищення дихального контролю. Таким чином, отримані в ході експерименту дані показали, що рослинний екстракт Лінь Чі однаково впливав як на інтактних, так і на опроміненіх тварин: сприяв інтенсифікації окиснення біологічних субстратів та покращанню спряженості процесів окиснення з процесами фосфорилування. Інтенсифікація процесів окиснення може бути пояснена ліквідацією перешкод у доставці кисню до мітохондрій або інтенсифікацією загального обміну речовин. Підвищення інтенсивності процесів фосфорилування АДФ може бути викликане зростанням рівня аденозину в клітинах внаслідок згодування препарату.

У наступних дослідженнях вивчали вплив рослинного екстракту Лінь Чі на процеси ОФ у

Таблиця 1 – Вплив рослинного екстракту Лінь Чі на показники окиснювального фосфорилування в печінці щурів на 7-му добу після однократного іонізуючого опромінення в дозі 0,5 Гр ($M \pm m$)

Група тварин	Швидкість дихання, нг-атоми кисню/мг білка · хв				Показники фосфорилування, ум.од.	
	V1	V2	V3	V4	ТФ	ДКч
Контроль (інтактні)	7,64±0,73	11,09±1,34	24,66±2,31	12,47±1,2	1,0±0,16	1,97±0,04
0,5 Гр	16,01±1,0*	18,5±0,77*	34,24±2,69*	20,13±0,6*	0,64±0,06	1,63±0,14
Лінь Чі	25,88±2,6***	43,26±4,56**	77,98±6,16***	30,53±2,5***	1,06±0,11	2,83±0,31****
0,5 Гр + Лінь Чі	25,04±1,0***	35,36±2,43***	36,24±2,69*	33,90±4,9***	1,32±0,21	2,06±0,21*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – вірогідно відносно контрольних тварин;

** – вірогідно відносно опроміненіх тварин;

*** – вірогідно відносно контрольних і опроміненіх тварин.

Таблиця 2 – Вплив рослинного екстракту Лінь Чі на показники окиснювального фосфорилування в печінці щурів після комбінованого впливу однократного іонізуючого опромінення в дозі 0,5 Гр, кадмію та свинцю ($M \pm m$)

Група тварин	Показники окиснювального фосфорилування					
	V1	V2	V3	V4	ТФ	ДКч
Контроль (інтактні)	7,64±0,73	11,09±1,34	24,66±2,31	12,47±1,2	1,0±0,16	1,97±0,04
0,5 Гр	16,01±1,0*	18,5±0,77*	34,24±2,69*	20,13±0,6*	0,64±0,06	1,63±0,14
0,5 Гр+Cd	12,82±1,8	19,22±1,3	33,67±2,22	21,37±1,0	0,73±0,02	1,59±0,15
0,5 Гр+Pb	15,3±0,82*	16,51±1,64*	35,71±0,96*	21,56±1,0*	0,78±0,02***	1,67±0,01
0,5 Гр+Cd+ Лінь Чі (3 мл/кг)	33,14±3,89***	47,5±4,9***	94,4±8,95***	30,57±2,26***	0,97±0,17*	2,84±0,27*
0,5 Гр+Pb+ Лінь Чі (3 мл/кг)	29,50±2,88***	39,85±4,51***	71,39±8,62***	30,71±2,49***	1,54±0,14*	2,18±0,17***
0,5 Гр+Cd+ Лінь Чі (10 мл/кг)	24,71±3,39***	35,18±3,24***	78,39±5,13***	28,64±3,1*	1,26±0,07***	2,92±0,39***
0,5 Гр+Pb+ Лінь Чі (10 мл/кг)	19,72±1,69*	34,23±1,19***	82,75±4,86***	31,13±1,92***	0,83±0,07**	2,68±0,1***

разі комбінованого впливу однократного іонізуючого опромінення та важких металів – кадмію і свинцю. Результати досліджень наведено у таблиці 2.

Дані таблиці 2 свідчать про те, що додавання кадмію до їжі опромінених щурів практично не впливало на швидкість дихання гомогенатів печінки, але вірогідно знижувало спряженість процесів окиснення з процесами фосфорилування. Згодовування рослинного екстракту Лінь Чі призводило до сильно вираженої стимуляції процесів ОФ та підвищення спряженості окиснення біологічних субстратів з їх фосфорилуванням. Це було справедливо для обох застосованих доз рослинного екстракту Лінь Чі.

Вивчення особливостей впливу Лінь Чі на показники ОФ у печінці піддослідних тварин показало, що вживання щурами цього ек-

тракту в дозі 3 мл/кг сприяло значній стимуляції швидкісних показників ОФ і суттєвому збільшенню дихального контролю. Дані свідчать про те, що екстракт не тільки збільшує швидкість окиснення біологічних субстратів, але й сприяє підвищенню продукції макроергічних сполук, підвищує ступінь спряженості процесів окиснення з процесами фосфорилування АДФ.

ВИСНОВКИ. 1. Рідкий безалкогольний екстракт гриба Лінь Чі має здатність підвищувати працездатність в експерименті.

2. Екстракт Лінь Чі стимулює процеси окиснення в мітохондріях печінки піддослідних щурів.

3. Екстракт Лінь Чі підвищує ступінь спряженості процесів ОФ як у інтактних, так і в опромінених тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горчакова Л.А. Вплив різних доз іонізуючого опромінення на процеси окислювального фосфорилування в печінці щурів // Сб. матер. конф. "Гигиена населених мест". – К., 2000. – Вып. 36, ч. 2. – С. 273-277.

2. Овсяннікова Л.М., Альохіна С.М., Дробінська О.В. та ін. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Методичні рекомендації. – К., 1999. – 18 с.

3. Тимочко М.Ф., Єлісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів, 1998. – 114 с.

4. Фитопрепараты восточной медицины: Справочник. – К.: СП "Фито Ко., ЛТД" и "Виктория, ЛТД", 1999. – 125 с.

5. Chance B., Williams G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation // J. Biol. Chem. – 1955. – 217, № 1. – P. 383-393.

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ГРИБА ЛИНЬ ЧИ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ И ОТРАВЛЕНИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

В.В. Степаненко

НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ИМ.П.Л. ШУПИКА

Резюме

В эксперименте на крысах доказана лечебная эффективность препарата гриба Линь Чи при ионизирующем облучении и отравлении солями свинца и кадмия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экстракт гриба Линь Чи, эксперимент, радиация, окислительное фосфорилирование, кадмий, свинец.

OXIDIZING PHOSPHORYLATION AGAINST THE BACKGROUND OF ACTION OF LINH CHI MUSHROOM PREPARATION AT THE IRRADIATION AND THE POISONING BY SALTS OF HEAVY METALS

V.V. Stepanenko

NATIONAL MEDICAL ACADEMY OF POSTGRADUATE EDUCATION BY P.L. SHUPYK

Summary

In experiment on rats was proved medical efficiency of Linh Chi mushroom preparation at ionizing radiation and poisoning by salts of lead and cadmium.

KEY WORDS: extract of Linh Chi mushroom, experiment, radiation, oxidizing phosphorylation, cadmium, lead.

Адреса для листування: В.В. Степаненко, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua**

ЦИКЛІЧНІ НУКЛЕОТИДИ, ЛЕЙ-ЕНКЕФАЛІН І ВАЗОПРЕСИН У КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ІМУНІЗОВАНИХ ТВАРИН, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ЕМОЦІЙНИЙ СТРЕС

С.М. Діденко, В.С. Якушев

ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

Відтворення емоційного стресу після імунізації супроводжується нормалізацією вмісту лей-енкефаліну в корі головного мозку при одночасному різкому зростанні концентрації вазопресину в гіпоталамусі. Ці реципрокні взаємозв'язки, на нашу думку, мають важливе патогенетичне значення в регуляції гормонального обміну при досліджуваних станах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: циклічні нуклеотиди, лей-енкефалін, вазопресин, кора головного мозку, стрес, імунізація.

ВСТУП. Проблеми нейрогуморальної регуляції та імунітету за умов дії стресогенних факторів дотепер не розв'язано. Однак у літературі є достатньо свідчень про дослідження, пов'язані безпосередньо з дією самого стресу [5, 6, 9]. На сьогодні велику цікавість викликає вивчення концентрації і співвідношення циклічних нуклеотидів у імунокомпетентних органах, оскільки за умов антигенного стимулу спостерігається підвищення рівня cAMP, а під час продуктивної фази імуногенезу – збільшення концентрації cGMP [7, 11, 14]. Це ж стосується лей-енкефаліну і вазопресину [3, 10]. Лей-енкефалін належить до групи ендогенних опіоїдних пептидів і відіграє важливу роль у нейроендокринній регуляції функцій імунної системи. Механізм його дії пов'язаний із реалізацією впливу на функції імунокомпетентних клітин через різноманітні типи опіоїдних рецепторів [8, 10]. У працях останніх років показано імунорегулюючу роль вазопресину, виявлено наявність його рецепторів на імунокомпетентних клітинах, продемонстровано стимуляцію вазопресином фагоцитозу, антитілоутворення і синтезу біологічно активних речовин в імуноцитах [2, 3]. Однак вивченню цієї проблеми відносно центральної нервової системи приділено мало уваги. У літературі є лише поодинокі праці [1, 4].

Метою роботи було вивчення концентрації циклічних нуклеотидів і їх співвідношення, а

також лей-енкефаліну і вазопресину в структурах головного мозку тварин, які перенесли емоційний стрес, імунізацію та їх комбіновану дію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар. Усіх тварин поділили на групи. До 1-ї входили інтактні тварини (n=6-8). До 2-ї – щури, в яких моделювали емоційний стрес (ЕС) у формі невроту тривоги [12]. Особливістю даної моделі стресу була наявність конфлікту між відпрацьованим умовним рефлексом уникнення постійної електричної напруги шляхом втечі на платформу і безумовним, ноцицептивним, подразненням на цій платформі, а також напруженим тривожним очікуванням дії (подразнення на платформі викликали через різні проміжки часу). Ефективність розвитку стресу оцінювали за кількістю виразкових уражень шлунка, максимальною концентрацією кортикостерону в крові (n=6-8). До 3-ї – тварини, яких досліджували на 2-й день після відтворення ЕС (n=6-8). До 4-ї – імунізовані щури. Імунізацію здійснювали шляхом внутрішньочеревного введення 0,5 мл 50 % суспензії відмитих еритроцитів барана загальноприйнятим методом, дослідження проводили в період максимального підвищення титру антитіл (14-й день) (n=6-8). До 5-ї – тварини, в яких на висоті максимального збільшення титру антитіл відтворювався ЕС, дослідження виконували на

фоні повного об'єму стресорних порушень (n=6-8). До 6-ї – імунізовані щури, яких досліджували на 2-й день після моделювання ЕС (n=6-8). Радіоімунним методом визначали циклічні нуклеотиди (сАМР набором фірми "Becton Dickenson" (США), сGMP наборами фірми "Inst. for Research, Production and Applications of Radioisotopes" (Чехія), лей-енкефалін (набором фірми "Incstar. Amersham" (США)), вазопресин (набором фірми "Buhlmann Laboratories A.G." (Швейцарія)).

Ці показники досліджували в корі великих півкуль головного мозку, з яких, після обробки рідким азотом, готували безбілковий екстракт на хлорній кислоті. Гіпоталамус виділяли згідно з [13]. При виконанні експериментальних досліджень дотримували Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин. Усі дані було статистично оброблено із застосуванням показників $M \pm m$, σ і t за Стьюдентом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані досліджень представлено в таблицях 1-3.

Із таблиці 1 видно, що ЕС (1-ша і 2-га групи) викликає недостовірні зсуви титру антитіл, при цьому тільки на момент повного прояву стресорних пошкоджень відмічається тенденція до зниження їх концентрації на 48 % порівняно з 1-ю групою (інтактні тварини). При проведенні імунізації (4-та група) титр антитіл різко підвищується, і це підвищення становить 195 % порівняно з 1-ю групою. Важливо відзначити, що відтворення ЕС у імунізованих тварин (5-та група) супроводжується значним зростанням титру антитіл, порівняно з інтактними (1-ша гру-

па) та імунізованими щурами (4-та група), на 327 і 168 % відповідно.

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що ЕС потенціює вплив імуногенних факторів, що наглядно підтверджується збільшенням титру антитіл у крові, зберігаючи ту ж саму направленість, викликану безпосередньо самою імунізацією.

Дослідження вмісту циклічних нуклеотидів (табл. 2) показує, що при дії ЕС вміст сАМР зростає. Зокрема, у 2-й групі – на 107 % порівняно з початковим рівнем, а в 3-й групі практично повертається до рівня інтактних тварин.

Вміст же сGMP в указані строки знижується, і в 2-й та 3-й групах це зниження, відповідно, становить 40 і 25 % порівняно з початковою величиною.

З даних, наведених у таблиці 2, видно, що співвідношення сАМР/сGMP значно зростає за рахунок не тільки підвищення концентрації сАМР, але й зниження вмісту сАМР.

Вивчення аналогічних показників у імунізованих тварин показує, що у них значно знижується концентрація сGMP (на 82,5 %) порівняно з 1-ю групою. Вміст же сАМР залишається практично на рівні інтактних щурів.

Відтворення ЕС у імунізованих тварин супроводжується підвищенням рівня сАМР на 84,6 % і сGMP на 185,7 % порівняно з 4-ю групою. Однак на 2-й день після ЕС спостерігається різке зниження їх концентрації порівняно з 1-ю групою, хоча зберігається більше ніж у 2,3 раза їх співвідношення сАМР/сGMP.

На основі результатів аналізу отриманих даних можна зробити висновок про те, що підви-

Таблиця 1 – Титр антитіл у сироватці крові тварин при ЕС, імунізації і відтворенні ЕС після імунізації ($M \pm m$, n=6-8)

№ групи	Група тварин	Титр антитіл
1-ша	Інтактні тварини	1,8±0,1
2-га	ЕС	1,5±0,2
3-тя	2-й день після ЕС	1,8±0,1
4-та	Імунізовані тварини	3,5±0,3*
5-та	Імунізовані тварини+ЕС	5,9±0,3**
6-та	Імунізовані тварини на 2-й день після ЕС	4,2±0,2**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – $p < 0,05$ відносно 1-ї групи; ** – $p < 0,05$ відносно 4-ї групи.

Таблиця 2 – Концентрація циклічних нуклеотидів у корі великих півкуль головного мозку при імунізації, ЕС і їх комбінованому впливі ($M \pm m$, n=6-8)

№ групи	Група тварин	нмоль/г		сАМР/сGMP
		сАМР	сGMP	
1-ша	Інтактні тварини	1,5±0,3	0,40±0,03	3,8
2-га	ЕС	3,1±0,3*	0,20±0,01*	15,5
3-тя	2-й день після ЕС	1,30±0,04	0,30±0,03*	4,3
4-та	Імунізовані тварини	1,3±0,2	0,07±0,01*	18,6
5-та	Імунізовані тварини+ЕС	2,4±0,2*	0,20±0,01**	12,0
6-та	Імунізовані тварини з ЕС, 2-й день	0,90±0,08*	0,10±0,02*	9,0

Таблиця 3 – Концентрація лей-енкефаліну і вазопресину в структурах головного мозку тварин при ЕС, імунізації, а також відтворенні ЕС у імунізованих тварин ($M \pm m$, $n=6-8$)

№ групи	Група тварин	Лей-енкефалін	Вазопресин
		Кора головного мозку	Гіпоталамус
		нг/г	
1-ша	Інтактні тварини	59,5±0,4	2826,0±86,7
2-га	ЕС	138,6±5,0*	2117,0±57,5
3-тя	2-й день після ЕС	175,3±7,0*	1072,0±16,2*
4-та	Імунізовані тварини	59,5±0,1	2435,0±70,9
5-та	Імунізовані тварини+ЕС	57,5±0,2	4189,0±35,8**
6-та	Імунізовані тварини з ЕС, 2-й день	56,2±0,3	4524,0±22,0**

щення вмісту сАМР при ЕС опосередковане зростанням активності аденілатциклази у зв'язку з викидом адреналіну, глюкокортикоїдів та інших біологічно активних речовин. При цьому безпосередньо імунізація характеризується, на відміну від імунокомпетентних органів, зниженням рівня гуанілатциклази в корі великих півкуль головного мозку. Саме за рахунок цього підтримується вище співвідношення сАМР до сGMP. ЕС же в імунізованих тварин сприяє зростанню активності аденілатциклази, внаслідок чого також зберігається підвищене співвідношення сАМР/сGMP.

Паралельне дослідження вмісту лей-енкефаліну в корі головного мозку і вазопресину в гіпоталамусі виявило характерні зсуви в динаміці цих компонентів.

Так, із таблиці 3 видно різке збільшення вмісту лей-енкефаліну при ЕС і на 2-й день після нього, відповідно, на 232,9 і 294,6 % відносно інтактних тварин. Імунізація щурів не впливає на концентрацію цього показника.

Встановлено, що відтворення ЕС у імунізованій групі тварин також не впливає на вміст лей-енкефаліну в корі головного мозку відносно інтактних тварин.

Дослідження концентрації вазопресину в гіпоталамусі показує, що його вміст зменшується тільки на 2-й день після стресорного періоду, який становить 37,9 % від початкового рівня.

Проведення імунізації не впливає на рівень вазопресину в гіпоталамусі.

Важливо відмітити, що відтворення ЕС після імунізації призводить до значного підвищення вмісту вазопресину в гіпоталамусі. Так, після

ЕС це підвищення становить 172 %, а на 2-й день у цієї групи тварин – 185,5 % відносно групи імунізованих щурів. Таке ж відношення зберігається порівняно з групою інтактних тварин.

Дані результати свідчать про те, що при імунізації і стресі кора головного мозку реагує інакше, ніж імунокомпетентні органи. Врешті-решт це призведе до більш значного впливу сАМР на внутрішньоклітинні процеси в нейронах і, відповідно, відобразиться на функціональній активності кори головного мозку і більш напруженому рівні нейрогуморальної регуляції. При цьому відтворення ЕС після імунізації супроводжується нормалізацією вмісту лей-енкефаліну в корі головного мозку при одночасному різкому зростанні концентрації вазопресину в гіпоталамусі. Ці реципрокні взаємозв'язки, на нашу думку, мають важливе патогенетичне значення в регуляції гормонального обміну при досліджуваних станах.

ВИСНОВКИ. 1. Відтворення ЕС у імунізованих тварин в корі великих півкуль головного мозку сприяє збільшенню вмісту сАМР і зниженню – сАМР, за рахунок чого підтримується значно вищий рівень співвідношення сАМР/сGMP.

2. ЕС сприяє підвищенню вмісту лей-енкефаліну в корі великих півкуль головного мозку, а попередня імунізація нормалізує концентрацію вказаного нейропептиду.

3. ЕС призводить до зниження рівня вазопресину в гіпоталамусі, а попередня імунізація викликає його різке збільшення в даній структурі мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гейн С.В., Симоненко Т.А., Тендрякова С.П. Влияние ротационного стресса на показатели иммунитета. Роль опиатных рецепторов // Проблемы эндокринологии. – 2003. – 49, № 6. – С. 56-58.

2. Дев'яткіна Т.О., Важнича О.М., Луценко Р.В. Роль вазопресину і окситоцину в адаптивних реакціях організму і перспективи їх застосування для корекції стресорних порушень // Ліки. – 2004. – № 3-4. – С. 3-6.

3. Игони́на Н.А., Евсеев В.А. Вазопрессин: вторичный иммунный ответ и антиген-специфические супрессоры // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – **127**, № 1. – С. 60-62.

4. Кононеко В.Я. Нейропептиды как регуляторы функций головного мозга и их роль в деятельности эндокринных желез // Журн. практ. лікаря. – 1999. – № 6. – С. 45-47.

5. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. – Л.: Наука, 1988. – 250 с.

6. Крыжановский Г.Н. Стресс и иммунитет // Вестн. АМН СССР. – 1985. – № 8. – С. 3-11.

7. Лесникова М.П., Шхинек Э.К. Влияние глюкокортикоидных гормонов на реакции цикладных систем клеток селезенки, вызванные антигеном, у крыс и мышей // Физиол. журн. – 1986. – **72**, № 2. – С. 214-220.

8. Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В. Эндогенные опиоидные пептиды и антиаритмический эффект адаптации к стрессу // Патол. физиол. и эксперим.

тер. – 2004. – № 3. – С. 11-14.

9. Першин С.Б., Кончугова Т.В. Стресс и иммунитет. – М.: Крон-Пресс, 1996. – 155 с.

10. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль патологии // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 2001. – № 2. – С. 26-30.

11. Рожковський Я.В. Динаміка співвідношення циклічних нуклеотидів у органах імунної системи за умов хронічного стресу // Одеський мед. журн. – 1999. – № 5. – С. 6-8.

12. Desiderato O., Mackinon G., Hisson H. Effect of emotional stress on formation of gastric ulcers // Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – **87**. – P. 208-214.

13. Glowinski J., Iversen L.L. Regional studies of catecholamines in the rat brain // J. Neurochem. – 1966. – **13**. – P. 275-279.

14. Hadden J.W. Cyclic nucleotides and related mechanisms in immune regulation: a mini review // Immunoregul. Proc. Workshop. – New-York; London, 1983. – P. 201-230.

ЦИКЛИЧЕСКИЕ НУКЛЕОТИДЫ, ЛЕЙ-ЭНКЕФАЛИН И ВАЗОПРЕССИН В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТРЕСС

С.Н. Диденко, В.С. Якушев

ЗАПОРОЖСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Резюме

Воспроизведение эмоционального стресса после иммунизации сопровождается нормализацией содержания лей-энкефалина в коре головного мозга при одновременном резком нарастании концентрации вазопрессина в гипоталамусе. Эти реципрокные взаимосвязи, по нашему мнению, имеют важное патогенетическое значение в регуляции гормонального обмена при исследуемых состояниях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: циклические нуклеотиды, лей-энкефалин, вазопрессин, кора головного мозга, стресс, иммунизация.

CYCLIC NUCLEOTIDES, LEU-ENKEPHALIN AND VASOPRESSIN IN THE CORTEX OF BRAIN AT THE IMMUNIZED ANIMALS AFTER EMOTIONAL STRESS

S.M. Didenko, V.S. Yakushev

ZAPORIZHZHIAN MEDICAL ACADEMY OF POSTGRADUATE EDUCATION

Summary

Reproducing of emotional stress after immunization is accompanied by normalization of the maintenance of leu-enkephalin in a cortex at simultaneous sharp increase of vasopressin concentration in hypothalamus. To our opinion, these relations are of great pathogenetic importance in regulation of hormonal exchange under the studied conditions.

KEY WORDS: cyclic nucleotides, leu-enkephalin, vasopressin, cortex, stress, immunization.

Адреса для листування: С.М. Діденко, вул. Леніна 68/Лепіка 24 – 99, Запоріжжя, 69063, Україна.

СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МЕТИЛОВИХ ЕФІРІВ 3,5-ДИХЛОР-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

С.Г. Ісаєв, І.О. Сорокіна, О.М. Свечнікова, І.А. Сокурєнко,
З.Г. Єрьоміна, Н.Л. Березнякова, Г.П. Жегунова
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Здійснено синтез метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот. Будову 8 синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну та бактеріостатичну активність. За класифікацією К.К. Сидорова, синтезовані речовини при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук ($DL_{50} = 1530-1840$ мг/кг). Дослідження свідчать про перспективність пошуку біологічно активних речовин у даному ряді хімічних сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез, метилові ефіри N-фенілантранілових кислот, фармакологічна активність.

ВСТУП. Похідні N-фенілантранілової кислоти (N-ФАК) широко застосовують як високо-ефективні лікарські засоби. Проведені раніше дослідження свідчать про різнобічну біологічну активність похідних N-ФАК [1, 2, 4-17]. Крім того, ефіри N-фенілантранілових кислот використовуються як вихідні речовини для синтезу нових біологічно активних речовин – амідів [2, 10], гідразидів, відповідних кислот [14] та гетероциклічних структур [5, 14].

Мета дослідження – синтез метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот, вивчення їх фармакологічних властивостей та виявлення деяких закономірностей зв'язку "структура-токсичність-фармакологічна активність".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метилові ефіри 3,5-дихлор-N-ФАК (рис. 1) синтезовано на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету (зав. каф. проф. І.С. Гриценко). Вихідні 3,5-дихлор-N-ФАК одержано за модифікованою нами реакцією Ульмана [9, 12], а потім на їх основі за реакцією етерифікації синтезовано відповідні метилові ефіри (вихід 80-92 %). Будову та індивідуальність метилових ефірів 3,5-дихлор-N-ФАК (I-VIII) підтверджено даними елементного, ІЧ-спектрального та хроматографічного аналізу. Дані елементного аналізу відповідають розрахо-

ваним. Інтерпретацію ІЧ-спектрів ефірів (I-VIII) здійснено порівняно з вихідними речовинами – 3,5-дихлор-N-ФАК [12]. В ІЧ-спектрах метилових ефірів 3,5-дихлор-N-ФАК (I-VIII) спостерігаються смуги поглинання валентних коливань NH-групи при 3340-3308 cm^{-1} , карбонільної групи при 3340-3308 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$). Валентні коливання складноефірної групи представлені в спектрах смугами поглинання в межах 1290-1270 ($\nu_{\text{C-O-C}}^{\text{as}}$) та 1092-1060 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-O-C}}^{\text{s}}$). Коливання $\nu_{\text{C-Cl}}$ досить стабільні та інтерирентовані в ділянці 705-665 cm^{-1} . Деформаційні коливання NH-групи (δ_{NH}) представлені піком у ділянці 1585-1572 cm^{-1} (табл. 1).

Для виявлення протизапальної активності у нових сполук досліджували їх здатність пригнічувати розвиток набряку при гострому запаленні, викликаному субплантарним введенням 1 % карагеніну в лапку миші [3]. Досліджувані сполуки (I-VIII) вводили перорально у вигляді суспензії, стабілізованої емульгатором твіном-80 у дозі 20 мг/кг маси тіла тварини.

Діуретичний ефект кожної речовини досліджували за методом Є.Б. Берхіна на 7 білих щурах. Їм за 30 хв до водного навантаження вводили внутрішньочеревно сполуки в дозі 50 мг/кг у вигляді 5 % водної суспензії. Контрольні тварини одержували водне навантаження (1 мл на 20 г маси). Вивчали діуретичну активність порівняно з гіпотіазидом.

Анальгетичну дію вивчали на білих щурах на моделі гарячої пластини [3]. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково в дозі

© С.Г. Ісаєв, І.О. Сорокіна, О.М. Свечнікова, І.А. Сокурєнко, З.Г. Єрьоміна, Н.Л. Березнякова, Г.П. Жегунова, 2006.

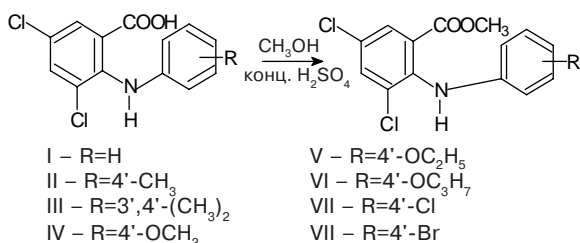


Рис. 1. Синтез метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот.

20 мг/кг. Як препарат порівняння в експерименті було використано анальгін.

Дослідження протимікробної активності проводили за загальноприйнятою методикою двократних серійних розведень у рідкому поживному середовищі відносно грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів [3]. Вивчали бактеріостатичну дію порівняно з етакридину лактатом.

Гостру токсичність синтезованих речовин вивчали на білих мишах при внутрішньошлунковому їх введенні [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Фармакологічний скринінг на протизапальну та анальгетичну активність (табл. 2) в дозі 20 мг/кг виявив сполуки з антиексудативним ефектом на рівні мефенамової кислоти (II, VI, VIII). Слід відзначити, що метилові ефіри 3,5-дихлор-N-ФАК (I-VIII) менш активні, ніж відповідні вихідні кислоти [12, 17]. Протизапальна активність N-ФАК та їх похідних перебуває в тісному зв'язку з будовою, за антиексудативною дією вони розташовуються в ряд: D-глюкозиламонієві солі 3,5-дихлор-N-ФАК >калієві солі>кислоти> їх метилові ефіри [6-14].

Серед ефірів 3,5-дихлор-N-ФАК (див. табл. 2) найбільшу діуретичну активність про-

Таблиця 1 – Фізико-хімічні, хроматографічні та ІЧ-спектральні характеристики метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот

Сполука	R	Вихід, %	Частота поглинання, см ⁻¹							R _f *	
			ν _{NH}	ν _{C=O}	ν _{C[≡]C}	δ _{NH}	ν _{C-O-C}	ν _{CN}	ν _{C-Cl}	1	2
I	H	85	3324	1680	1598	1576	1290 1092	1244	705	0,22	0,60
II	4'-CH ₃	87	3329	1676	1602	1580	1286 1090	1240	700	0,23	0,59
III	3',4'-(CH ₃) ₂	92	3318	1682	1595	1572	1280 1078	1238	694	0,28	0,54
IV	4'-OCH ₃	90	3320	1682	1597	1574	1276 1062	1242	690	0,27	0,52
V	4'-OC ₂ H ₅	88	3340	1674	1604	1585	1278 1060	1246	686	0,21	0,48
VI	4'-OC ₃ H ₇	80	3338	1670	1600	1580	1284 1082	1230	690	0,19	0,45
VII	4'-Cl	84	3308	1663	1592	1570	1282 1074	1244	665	0,20	0,40
VIII	4'-Br	83	3315	1668	1596	1572	1270 1060	1234	674	0,18	0,36

Примітка. * – значення R_f наведено в системах: 1 – "ацетон-гексан" (1:1,5); 2 – "метанол-гексан" (1:1).

Таблиця 2 – Фармакологічна активність та гостра токсичність метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот

Сполука	Протизапальна активність, % у дозі 20 мг/кг	Анальгетична активність, % у дозі 20 мг/кг	Діуретична активність, % у дозі 50 мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг (внутрішньошлунково)
I	12,9	10,8	164	–
II	32,1	44,5	180,3	1530
III	14,7	29,7	109,5	–
IV	25,2	37,4	115	1620
V	0	23,4	234	1780
VI	36,3	40,6	214	1840
VII	10,2	0	193	–
VIII	28,1	37,2	205	1560
Вольтарен (DE ₅₀ =8мг/кг)	37,5	–	–	360
Мефенамова кислота (100 мг/кг)	30,0	–	–	628
Анальгін (DE ₅₀)	–	55	–	1197
Гіпотіазид	–	–	212	74*

Примітка. * – при внутрішньочеревному введенні.

Таблиця 3 – Бактеріостатична активність метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот

Сполука	Бактеріостатична активність, МПК (мкг/мл)*							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	125	125	125	250	125	250	250	250
II	125	125	125	250	125	250	500	500
III	125	125	125	125	125	250	250	250
IV	250	500	125	500	250	125	125	125
V	62,5	125	62,5	125	125	125	62,5	250
VI	125	125	31,2	62,5	62,5	125	62,5	125
VII	125	250	125	250	250	125	250	500
VIII	125	125	125	250	125	250	250	250
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125

Примітка. * – як тест мікроорганізму використовували:

1. Staphylococcus aureus. 3. Esherichia coli. 5. Salmonella cholereasuis. 7. Salmonella thyphimurium.
2. Bacillus subtilis. 4. Pseudomonas auruginosa. 6. Salmonella dublin. 8. Salmonella thyphisuis.

являють сполуки (V, VIII), їх дія в дозі 50 мг/кг перебуває на рівні гіпотіазиду.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що синтезовані речовини відносно золотистого стафілококу, сінної, кишкової, сіньогнійної паличок та мікроорганізмів роду Salmonella інгібують ріст мікроорганізмів у концентрації 31,2-500 мкг/мл (табл. 3).

Гостра токсичність метилових ефірів 3,5-дихлор-N-ФАК при внутрішньошлунковому введенні перебуває у межах 1530-1840 мг/кг. За класифікацією К.К. Сидорова, вони належать до малотоксичних сполук. Як і очіку-

валось, метилові ефіри більш токсичні, ніж вихідні кислоти (див. табл. 2).

ВИСНОВКИ. 1. З метою пошуку біологічно активних речовин здійснено синтез і встановлено будову метилових ефірів 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот.

2. У ході фармакологічних досліджень встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну та бактеріостатичну активність. Відзначено деякі закономірності зв'язку "структура-активність-токсичність" серед похідних N-фенілантранілових кислот.

ЛІТЕРАТУРА

- Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 5-нітро- та 5-аміно-N- фенілантранілової кислоти // Журн. органічної та фармац. хімії. – 2003. – 1, вип. 3/4. – С. 59-64.
- Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г. та ін. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості анілідів нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2003. – № 1. – С. 56-60.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
- Інформ. лист № 193-2003. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі N-фенілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.О. Павлій, І.А. Зупанець та ін. – К., 2003. – Вип. № 13 "Фармація". – 3 с.
- Ісаєв С.Г. Фармакологічна активність заміщених 5-нітро-9-[2'-оксі-2'-п-(нітрофеніл)-етил] аміноакридину // Ліки. – 2001. – № 3/4. – С. 72-74.
- Ісаєв С.Г., Бризицький О.А., Свечнікова О.М. Синтез та фармакологічна активність металокомплексів N-фенілантранілових кислот // Мед. хімія. – 2003. – 5, № 4. – С. 104-107.

- Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І. Синтез, будова та біологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2001. – № 2. – С. 53-57.
- Ісаєв С.Г., Свечнікова О.М., Павлій О.І. Кінетика реакції лужного гідролізу біологічно активних ефірів ортозаміщених 3-нітро- N-фенілантранілових кислот у бінарному розчиннику діоксан-вода // Фармац. журн. – 2002. – № 5. – С. 63-65.
- Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.О., Брунь Л.В. Синтез нітро-N-фенілантранілових кислот у твердій фазі та їх біологічна активність // Вісник фармації. – 2001. – № 3 (27). – С. 44-45.
- Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І., Яременко В.Д. Синтез, будова та протизапальна активність D-(+)-глюкозамідів 3-нітро-N-фенілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2001. – № 1. – С. 86-89.
- Ісаєв С.Г. Получение, строение и биологическая активность замещенных 3,5-динитро-N-фенілантранілової кислоти и 5,7-динитроакридинон-9 // Лекарства-человеку. – 2000. – 12, № 1. – С. 54-58.
- Ісаєв С.Г. Синтез, фізико-хімічні і

биологические свойства 3,5-дихлор-N-арилантра-
ниловых кислот // Физиологично активні речовини. –
1999. – № 1 (27). – С. 38-40.

13. Исаев С.Г., Алексеева Т.В., Марусенко Н.А.
и др. Синтез и строение и биологическая активность
метиловых эфиров замещенных N-фенилантра-
ниловой кислоты // Лекарства-человеку. – Харьков. –
2001. – **14**, № 1. – С. 128-134.

14. Исаев С.Г., Яременко В.Д., Садова Л.В.,
Долгореева Е.А. Получение, физико-химические
свойства и биологическая активность гидразидов
3-нитро-N-фенилантралиловых кислот и 5-нитро-9-
N-ариламинопроизводных акридина // Лекарства-
человеку. – 2000. – **12**, № 1. – С. 250-257.

15. Канурний І.І. Стреспротективна активність
глюкозиламонієвої солі заміщеної фенілантранілової
кислоти: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К.,
2005. – 19 с.

16. Лебединець В.О. Розробка складу та техно-
логії м'якої лікарської форми з дифторантом: Авто-
реф. дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2003. –
19 с.

17. Chikina E.L., Isaev S.G., Svechnicova E.L., Zhe-
gynova G.P. Molecular design of effective antiflogistics,
analgetics and diuretics in some 3,5-dichloride-N-
phenylanthranilic acids // Proceedings of the IVTN-2004
Computer applications in scientific researches IVTN-
2004. – Moscow, 2004. – P. 31.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕТИЛОВЫХ ЭФИРОВ 3,5-ДИХЛОР-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

**С.Г. Исаев, И.А. Сорокина, Е.Н. Свечникова, И.А. Сокурено,
З.Г. Еремина, Н.Л. Березнякова, Г.П. Жегунова**
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Осуществлен синтез метиловых эфиров 3,5-дихлор-N-фенилантралиловых кислот. Строение 8 синтезированных веществ подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют противовоспалительную, анальгетическую, диуретическую и бактериостатическую активность. По классификации К.К. Сидорова, синтезированные вещества при внутривенном введении относятся к классу малотоксичных соединений ($DL=1530-1840$ мг/кг). Исследования свидетельствуют о перспективности поиска биологически активных веществ в данном ряду химических соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез, метиловые эфиры N-фенилантралиловых кислот, фармакологическая активность.

SYNTHESIS AND RESEARCH OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF METHYL ESTERS OF 3,5-DICHLOR-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

**S.H. Isayev, I.O. Sorokina, O.M. Svechnikova, I.A. Sokurenko,
Z.H. Yeryomina, N.L. Bereznyakova, G.P. Zhehunova**
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The synthesis of methyl esters of 3,5-dichlor-N-phenylanthranilic acids has been carried out. The composition of 8 synthesized compounds was proved by the data of element analysis and their IR-spectra. The purity was controlled by the method of thin-layer chromatography. It was established, that the synthesized substances have antiinflammatory, analgetic, diuretic and bacteriostatic activity. According to classification by K.K. Sydorov, synthesized compounds at their intrastomach entering belong to low toxic compounds ($DL_{50}=1530-1840$ mg/kg). These investigations testify to prospects of search of biologically active substances among the given chemical compounds.

KEY WORDS: synthesis, methyl esters of N-phenylanthranilic acids, pharmacological activity.

Адреса для листування: С.Г. Исаев, вул. Гарібальді, 11А, кв. 21, Харків, 61142, Україна.

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ТКАНИН РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У МІТОХОНДРІЯХ КЛІТИН ЕНДОМЕТРІЯ І НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТЕЛИЦЬ ЗА УМОВ РІЗНИХ СХЕМ ВВЕДЕННЯ ФОЛІГОНУ

Ю.І. Сливчук, І.І. Розгоні, І.І. Гевкан
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН

Досліджено вплив різних схем введення гонадотропного гормону "Фолігон" на гістоморфологічні зміни в органах репродуктивної системи і рівень енергетичних процесів у мітохондріях клітин ендометрія та надниркових залоз статевозрілих телиць. Виявлено гістоморфологічні зміни у функціонально важливих структурах органів репродуктивної системи як наслідок підвищеного рівня енергетичних процесів у мітохондріях клітин за умов впливу фолігону.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гістоморфометрія, яєчники, матка, гонадотропіни, тривітамін, фолікулогенез, оогенез, поліовуляція, мітохондрії, окисне фосфорилування.

ВСТУП. Індукована гонадотропінами поліовуляція при застосуванні технології трансплантації ембріонів супроводжується інтенсифікацією генеративних та метаболічних процесів як у репродуктивних органах, так і у всьому організмі самок сільськогосподарських тварин [1, 4, 5, 7]. На даний час у літературі мало узагальнених даних, які характеризують ту чи іншу схему викликання множинної овуляції або препарат, який застосовується. Тому вивчення окисного фосфорилування на мітохондріальному рівні дасть можливість поглибити знання про механізми впливу гормональних препаратів і схем їх застосування на процеси фолікуло- та оогенезу, що дозволить удосконалити існуючі та розробити нові схеми підготовки самок сільськогосподарських тварин до трансплантації ембріонів [2, 3, 6].

Метою дослідження було виявити гістоморфологічні зміни в органах репродуктивної системи, встановити рівень енергетичних процесів у мітохондріях ендометрія і надниркових залоз за умов впливу різних схем введення гонадотропного препарату "Фолігон".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослід проведено на 16 телицях статевозрілого віку (16-18 місяців) чорно-рябої породи в господарстві Радехівського району Львівської області. Тварин було поділено на 4 групи по 4 телиці в

© Ю.І. Сливчук, І.І. Розгоні, І.І. Гевкан, 2006.

кожній. Усі тварини перебували в однакових умовах утримання і годівлі. Телицям контрольної групи протягом 3-х днів вводили тривітамін, на 4-й день – фізіологічний розчин у дозі 10 мл. Тваринам 1-ї дослідної групи 3 дні підряд вводили тривітамін, на 4-й день статевого циклу – фолігон – однократно (в дозі, яка може викликати поліовуляцію) і, через 48 годин, естрофан (синтетичний аналог простагландину $F_{2\alpha}$). Тварин 2-ї дослідної групи обробляли аналогічно 1-й дослідній групі, відмінність полягала в тому, що в перші 3 дні разом з тривітаміном вводили мікроелементи – сірчано-окислі цинк і мідь. Телицям 3-ї дослідної групи 3 рази вводили комплексний гормонально-вітамінний препарат (ГВП) на основі фолігону, через 48 год – естрофан одночасно з тривітаміном.

Тварин забивали на м'ясокомбінаті методом підрізання яремних вен після блокування центральної нервової системи електрошоком, відбирали проби тканин, промивали їх в охолодженому фізіологічному розчині (0,9 % NaCl) і на льоду швидко доставляли в лабораторію. Проводили фіксацію тканин репродуктивних органів та фарбування для гістоморфологічних досліджень. Виділяли мітохондрії в холодній кімнаті при температурі 2-4 °С за методом, описаним Скулачовим (1962). Контроль за чистотою мітохондріальної фракції проводили під фазово-контрастним мікро-

скопом. Активність окисного фосфорилування (ОФ) вивчали полярографічним методом на полярографі ЛП-7 (ЧССР) (Кондрашова, 1973). Інтенсивність ОФ вимірювали в мікроатомах кисню за 1 хв у розрахунку на 1 мг мітохондріального білка (мктом О/мг білка/хв). Вміст білка в мітохондріальній фракції визначали за методом Лоурі та співавторів (1951). Швидкість дихання мітохондрій реєстрували в різних метаболічних станах за Чансом (1957).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При гістоморфометричному дослідженні гістопрепаратів яєчників і матки виявлено помітні відмінності у функціонально важливих структурах у всіх дослідних групах, а також відмінності між окремими дослідними групами. Так, у тварин 2-ї і 3-ї груп введення фолігону на тлі попередніх ін'єкцій тривітаміну та мікроелементів зумовило вірогідне збільшення товщини призматичного епітелію матки (в 1,4 раза). У телиць 3-ї дослідної групи, яким вводили комплексний ГВП, виявлено збільшення кількості крипт та їх площі в слизовій оболонці матки (в 1,4 та 10 разів відповідно) порівняно з контролем. Усі схеми введення фолігону, які застосовували в досліді, спричинили помітне підвищення мітотичної активності клітин гранульози у фолікулах, які ростуть, найбільш виражено у 2-й та 3-й дослідних групах тварин, яких обробляли фолігоном на тлі введення мікроелементів та у формі ліпосомальної емульсії (табл. 1).

Гістоморфометричні зміни в органах репродуктивної системи за умов впливу різних

схем введення препарату "Фолігон" супроводжуються відповідними змінами показників енергетичного обміну в мітохондріях клітин тканин, що досліджувалися.

При аналізі даних полярографічного дослідження виявлено підвищення інтенсивності ОФ у мітохондріях ендометрія у позиції V_3 , яка відповідає активному стану мітохондрій – стимуляція дихання ADP супроводжується зростанням інтенсивності фосфорилування у всіх дослідних групах, порівняно з контролем, у 2 рази. Аналогічна картина мала місце і в позиції контролюючого стану V_4 , спостерігалось виснаження запасів доданого акцептора фосфору – ADP, концентрація субстратів окиснення продовжувала залишатись високою, швидкість поглинання кисню зменшилась, одночасно зріс ступінь відновлення носіїв електронів (табл. 2).

Показники ДК у тварин 1-3 дослідних груп перевищували відповідний у контролі, однак вірогідними були у телиць 2-3 дослідних груп. Високий ступінь спряження окиснення і фосфорилування в мітохондріях ендометрія підтверджувався збільшенням швидкості поглинання кисню в позиції $V_{\text{днф}}$. Показники при вільному без фосфорилування диханні, роз'єданому 2,4-динітрофенолом, у телиць 1-2 дослідних груп вірогідно перевищували відповідний показник у контролі.

Дослідження енергетичного стану мітохондрій надниркових залоз показали, що інтенсивність окисного фосфорилування в позиціях V_3 і V_4 у телиць усіх дослідних груп, порівняно з контрольною, була значно вищою.

Таблиця 1 – Гістоморфологічні зміни матки і яєчників телиць при стимуляції оогенезу ($M \pm n$), $n=4$ в мм^2 мк в 1 п/з при збільшенні $\times 200\times$ і $400\times$

Тканини	Показники	Групи тварин			
		Контрольна	1-ша дослідна	2-га дослідна	3-тя дослідна
Матка	Площа крипт в мк^2	1734 \pm 289	2048 \pm 160	1927 \pm 94	16581 \pm 303
	Кількість крипт в 1 п/з	19,9 \pm 2,5	19,6 \pm 3,1	17,9 \pm 2,7	28,2 \pm 5,4
	Товщина призматичного епітелію в мк	20,5 \pm 1,4	30,7 \pm 1,4	27,8 \pm 2,0	23,9 \pm 1,4
Яєчник	Кількість мітозів у фолікулах, які розвиваються в 1 п/з	4,1 \pm 1,0	7,8 \pm 1,4	11,6 \pm 1,1	11,2 \pm 1,7

Примітка. п/з – поле зору.

Таблиця 2 – Активність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин ендометрія за умов стимулювання дихання ADP (мктом О/мг білка/хв) ($M \pm n$), $n=4$

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1-ша дослідна	2-га дослідна	3-тя дослідна
V_3	9,41 \pm 0,45	26,01 \pm 1,23***	24,34 \pm 0,90***	17,95 \pm 0,62***
V_4	4,96 \pm 0,37	11,65 \pm 0,51***	10,51 \pm 0,45***	7,93 \pm 0,33***
ДК	1,93 \pm 0,12	2,29 \pm 0,11	2,34 \pm 0,12*	2,25 \pm 0,07*
$V_{\text{днф}}$	9,55 \pm 0,43	23,87 \pm 0,89***	17,45 \pm 0,49***	9,97 \pm 0,33

Примітка. * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$.

Таблиця 3 – Активність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин надниркових залоз за умов стимулювання дихання ADP (мктом О/мг білка/хв) ($M \pm n$), $n=4$

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1-ша дослідна	2-га дослідна	3-тя дослідна
V_3	10,01±0,53	34,72±1,41***	23,08±0,98***	18,82±0,82***
V_4	4,37±0,21	9,65±0,57***	10,09±0,51***	9,58±0,56***
ДК	2,31±0,13	3,67±0,16***	2,30±0,09	2,07±0,06
$V_{\text{днф}}$	6,43±0,52	16,52±0,58***	11,21±0,36***	13,73±0,51***

Примітка: *** – $p < 0,001$.

Показники ДК у телиць 2-3 груп були на одному рівні з контрольною групою тварин. Це вказує на однаковий потенціал енергетичних потужностей мітохондріальних мембран клітин надниркових залоз у цих груп тварин, тоді як у телиць 1-ї дослідної групи, яким вводили фолігон на тлі попереднього 3-разового внутрішньом'язового введення тривітаміну в терапевтичних дозах, дихальний контроль був вищим і становив $3,67 \pm 0,16$ проти $2,31 \pm 0,13$ в контролі. Зростання інтенсивності поглинання кисню у всіх дослідних групах виявлено і у позиції $V_{\text{днф}}$ (табл. 3).

Усі схеми гормональної обробки телиць призвели до змін у функціонально важливих структурах тканин матки та яєчників. Збільшення товщини призматичного епітелію ендометрія вказує на підвищення в ньому обмінних процесів, зростання кількості крипт та їх площі – здатність секреторних залоз до виділення значної кількості ембріотрофу (3-тя дослідна група), підвищення мітотичної активності фолікулів, які ростуть, та рівня синтезу стероїдних

гормонів (2-га та 3-тя дослідні групи) в яєчниках.

Застосування різних схем введення гормональних препаратів у період формування жовтого тіла (4-5 день статевого циклу) зумовлює підвищення рівня енергетичних процесів у мітохондріях клітин ендометрія та надниркових залоз дослідних груп тварин, що, очевидно, можна пов'язати із зростанням інтенсивності синтезу стероїдних гормонів у цих органах.

ВИСНОВОК. Введення фолігону за різними схемами – на тлі введення тривітаміну, тривітаміну та мікроелементів і у формі ліпосомальної емульсії (комплексний ГВП) – зумовлює підвищення рівня енергетичного обміну в мітохондріях досліджуваних тканин, що позитивно впливає на фолікуло- та оогенез. Це підтверджують виявлені гістоморфометричні зміни у функціонально активних структурах репродуктивних органів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гевкан І.І., Мадіч А.В., Сливчук Ю.І., та ін. Регуляція репродуктивної функції корів і телиць гормональними препаратами: Методичні рекомендації. – Львів, 2005. – 24 с.
2. Кротких М.О., Смолянінов Б.В., Петрицька Н.Ф., Безп'ятих О.В. Вплив гонадотропін-рилізінг гормону на інтенсивність процесів біологічного окиснення та фосфорилування у тканинах статевих органів корів і телиць // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2005. – № 2. – С.146-148.
3. Сливчук Ю.І. Вплив фолікотропіну і "поліфолу" на окремі показники енергетичного обміну в деяких внутрішніх органах статевозрілих телиць // Аграрний вісник Причорномор'я: Збірник наукових праць "Біологічні та сільськогосподарські науки". – Одеса, 2004 – Вип. 23. – С.167-173.

4. De Loose F.A.M., Bevers M.M., Dielmann S.J. Follicular and oocyte maturation in cow treated for superovulation // Theriogenology. – 1991. – **35**. – P. 527-535.
5. Goodhand K.L., Staines M.E., Hutchinson JSM. In vivo recovery and in vitro embryo production from bovine oocyte donors treated with progestagen, estradiol and FSH // Anim. Reprod. Sci. – 2000. – **63**. – P. 145-158.
6. McIntosh J., Mitani F., Uzgiris V. et al. Oxidative phosphorylation in ovarian and epinephrine mitochondria // Acad. Sci. – 1973. – Ann. № 7. – P. 212-392.
7. Shemesh M., Mizrahi D., Gurevich M. et al. Functional importance of bovine myometrial and vascular LH receptors and cervical FSH receptors // Semin. Reprod. Med. – 2001. – **19**, № 1. – P. 87-96.

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ТКАНЕЙ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ И НАДПОЧЕЧНИКОВ ТЕЛОК В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ СХЕМ ВВЕДЕНИЯ ФОЛЛИГОНА

Ю.И. Сливчук, И.И. Розгони, И.И. Гевкан
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ УААН

Резюме

Исследовано влияние различных схем введения гонадотропного гормона "Фоллигон" на гистоморфологические изменения в органах воспроизводительной системы и уровень энергетических процессов в митохондриях клеток эндометрия и надпочечников половозрелых телок. Обнаружено гистоморфологические изменения у функционально важных структурах органов воспроизводительной системы как следствие повышенного уровня энергетических процессов в митохондриях клеток при влиянии фоллигона.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гистоморфометрия, яичники, матка, гонадотропины, тривитамин, фолликулогенез, оогенез, полиовуляция, митохондрии, окислительное фосфорилирование.

HISTOMORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF TISSUES OF REPRODUCTIVE ORGANS AND ENERGY METABOLISM IN THE MITOCHONDRIA OF ENDOMETRIUM CELLS IN ADRENAL GLANDS OF HEIFERS WITH VARIOUS PATTERNS OF "FOLIGON" ADMINISTRATION

Y.I. Slyvchuk, I.I. Rozgoni, I.I. Hevkan
INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF UAAS

Summary

Influence of different schemes of gonadotropic hormone "Folligon" administration on the histomorphological changes in reproductive organs and the level of energy processes in mitochondria of endometrium and adrenal cells of sexually matured heifers was studied. The histomorphological changes in functionally important structures of reproductive system organs as a result of increased level of energy processes in mitochondria under the influence of "Foligon" were observed.

KEY WORDS: histomorphology, ovaries, uterus, gonadotropins, tryvitamin, folliculogenesis, oogenesis, polyovulation, mitochondria, oxidative phosphorylation.

Адреса для листування: Ю.І. Сливчук, Інститут біології тварин УААН, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ДОСЛІДЖЕННЯ ТРАВИ ФІАЛКИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНОГО ВИДУ ЛІКАРСЬКОЇ СИРОВИНИ

К.Д. Мішнева, Т.М. Гонтова, О.П. Хворост
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

За допомогою методів хроматографії на папері та в тонкому шарі сорбенту визначено наявність різних груп природних речовин у траві фіалки фармакопейного гатунку та проведено їх ідентифікацію. Встановлено кількісний вміст полісахаридів, аскорбінової кислоти, суми органічних кислот, суми окиснюваних фенолів, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів, вибрано оптимальний екстрагент та визначено основні технологічні параметри сировини. На основі отриманих даних розроблено технологію отримання густого екстракту та вивчено його антимікробну активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фіалка, трава, полісахариди, органічні кислоти, поліфенольні сполуки, технологічні параметри, антимікробна активність.

ВСТУП. За даними ВООЗ, поширеність хвороб бронхолегеневої системи складає близько третини від загальної захворюваності населення України. Для лікування цієї патології, особливо з хронічним перебігом, препаратами вибору є засоби на основі лікарської рослинної сировини, які проявляють більш м'яку комплексну дію на організм хворого, ніж синтетичні препарати. Одним з видів лікарської сировини, що з давнини використовується для лікування пульмонологічних захворювань, є трава фіалки фармакопейного гатунку, яка представляє собою суміш трави фіалки триколірної та фіалки польової. Лікарські засоби, отримані з трави фіалки, проявляють відхаркувальний, бронхо- та муколітичний, десенсибілізуювальний та протизапальний ефекти. Екстемпоральні лікарські форми на основі трави фіалки у вигляді настоїв (1:10), настійок (1:5 на 40 % спирті) використовують для лікування трахеїтів, гострих та хронічних бронхітів, бронхіальної астми, бронхопневмоній та кашлюку [3]. На даний момент фармацевтична промисловість виробляє ряд препаратів на її основі, зокрема гомеопатичні краплі "Ломіофлюр" [4], серію засобів фірми "Befelka" (Viola NT, Spagyress Viola tric zimp, Viola tricolor inj, Viola D3 Ponzio, Viola tricolor similiarplex, Viola CPX NR 8) [5], які не зареєстровані на території України. На вітчизняному

фармацевтичному ринку представлена низка фіточаїв на основі трави фіалки, які застосовують для лікування різних захворювань органів та систем організму, зокрема пульмонологічних [3].

Метою наших досліджень було вивчення хімічного складу трави фіалки фармакопейного гатунку, визначення деяких числових показників сировини, оптимальних умов отримання густого екстракту та встановлення його антимікробної активності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сировину, заготовлену та розфасовану житомирським ЗАТ "Ліктрави", закуповували в аптечних підприємствах м. Харкова. Дослідження наявності різних груп біологічно активних речовин проводили методом хроматографії на папері та в тонкому шарі сорбенту в різних системах розчинників при проявленні детермінуючими реактивами, ідентифікували виявлені сполуки з достовірними зразками речовин. Кількісний вміст полісахаридів визначали за методикою ФС "Листя подорожника великого", аскорбінової кислоти та суми органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту – за методикою ФС "Плоди шипшини", суми окиснюваних фенолів – за методикою ДФ СРСР XI [1], суми гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у перерахунку на хлорогенову кислоту та рутин –

© К.Д. Мішнева, Т.М. Гонтова, О.П. Хворост, 2006.

відповідно, спектрофотометричним методом за методикою ТФС "Трава злинки канадської", дубильних речовин – комплексонометричним методом за методикою ГОСТ 4564-79 "Листя скумпії". Технологічні параметри сировини визначали за загально визначеними методиками [2]. Дослідження антимікробної активності проводили методом дифузії в агарі у модифікації "колодязів".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Серед таких груп біологічно активних речовин, як вуглеводи, амінокислоти, каротиноїди, органічні кислоти, фенольні сполуки (кумарини, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди), ідентифіковані аскорбінова кислота, β -каротин та лютеїн, саліцилова кислота, скополетин, хлорогенова та неохлорогенова кислоти, кверцетин та рутин.

Окрім того, було визначено кількісний вміст деяких груп природних речовин (у розрахунку на абсолютно суху сировину): полісахаридів ((3,58 \pm 0,78) %), аскорбінової кислоти ((0,07 \pm 0,01) %), суми органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту ((1,00 \pm 0,05) %), суми окиснюваних фенолів ((4,13 \pm 0,15) %), гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту ((1,93 \pm 0,06) %), флавоноїдів у перерахунку на рутин ((2,28 \pm 0,10) %) та дубильних речовин ((1,19 \pm 0,07) %).

У світлі питання розробки технології отримання лікарських засобів на основі трави фіалки ми проводили вибір оптимального екстрагенту та умов екстракції, а також визначення основних технологічних параметрів сировини: питомої та насипної маси, об'ємної маси, пористості, порізності та вільного об'єму шару, плинності, кута природного ухилу, коефіцієнта

поглинання екстрагенту. За вмістом екстрактивних речовин найкращим екстрагентом була вода (вміст екстрактивних речовин складав (40,36 \pm 0,62) %). За допомогою методу математичного планування з використанням 2⁴ факторного експерименту визначено оптимальні умови екстракції біологічно активних речовин. На основі цього розроблено технологію отримання густого екстракту з трави фіалки фармакопейного гатунку, вихід якого становив 30-32 %.

Доц. кафедри мікробіології НФаУ Л.Ф. Сілаєва під керівництвом проф. І.Л. Дикого провела попередні мікробіологічні дослідження напрацьованих серій густих екстрактів з трави фіалки, які показали високу антимікробну активність відносно стандартних штамів мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*.

ВИСНОВКИ. 1. За допомогою хроматографічних методів проведено вивчення хімічного складу трави фіалки, яке показало наявність у сировині вуглеводів, амінокислот, каротиноїдів, органічних кислот та фенольних сполук. Для трави фіалки було визначено кількісний вміст деяких груп біологічно активних речовин: полісахаридів аскорбінової кислоти, суми органічних кислот, окиснюваних фенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин.

2. Було розроблено технологію отримання густого екстракту з трави фіалки та вивчено його антимікробну активність.

3. Таким чином, наведені дані свідчать про перспективність подальшого дослідження трави фіалки як сировини для виробництва на її основі лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
2. Державна фармакопея України. – Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Х.: РИПЕГ, 2001. – 556 с.
3. Литвиненко В.И., Бубенчиков Р.А., Попова

Н.В. Фиалка трехцветная и фиалка полевая: химический состав и применение // Фармаком. – 2004. – № 1. – С. 62-66.

4. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.П. Арзамасцева, И.А. Самылиной. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 288 с.

5. w.w.w.apotheke.de

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ФИАЛКИ КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ВИДА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Е.Д. Мишнева, Т.Н. Гонтовая, О.П. Хворост
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

При помощи методов хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента определено наличие разных групп природных веществ в траве фиалки фармакопейного достоинства и проведена их идентификация. Установлено количественное содержание полисахаридов, аскорбиновой кислоты, суммы органических кислот, суммы окисляемых фенолов, гидроксикоричных кислот и флавоноидов, выбран оптимальный экстрагент и определены основные технологические параметры сырья. На основании полученных данных разработана технология получения густого экстракта и изучена его антимикробная активность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **фиалка, трава, полисахариды, органические кислоты, полифенольные соединения, технологические параметры, антимикробная активность.**

RESEARCH OF VIOLA AS A PERSPECTIVE TYPE OF MEDICINAL RAW MATERIAL

K.D. Mishnyeva, T.M. Hontova, O.P. Khvorost
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

By means of chromatography methods on paper and in the thin layer of sorbent the availability of various groups of natural matters is certified in the Viola of pharmacopy quality and their identification is conducted. Quantitative maintenance of polysaccharides, ascorbic acid, sums of organic acids, sums of the oxidized phenols, hydroxycinnamic acids and flavonoids are defined, optimum extragent is chosen and the basic technological parameters of raw material are certified. On the basis of data obtained the technology of receipt of dense extract is developed and its antimicrobial activity is studied.

KEY WORDS: **Viola, grass, polysaccharides, organic acids, polyphenolic compounds, technological parameters, antimicrobial activity.**

Адреса для листування: К.Д. Мішнева, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua**

ВПЛИВ ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА ОКРЕМІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ В МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

О.С. Покотило¹, В.Г. Янович²

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН², ЛЬВІВ

Вивчено вплив добавок риб'ячого жиру, соняшникової і лляної олій як джерел поліненасичених жирних кислот родин ω -3 і ω -6 до раціону морських свинок з експериментальною гіперхолестеринемією на вміст у плазмі крові загальних ліпідів, триацилгліцеридів і холестерину, гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду та активності АЛТ і АСТ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліненасичені жирні кислоти, холестерин, риб'ячий жир, соняшникова і лляна олії, АЛТ, АСТ, морські свинки, кров.

ВСТУП. В останні роки у медичній практиці зростає використання поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) родини ω -3 в дієтах хворих з гіперхолестеринемією з метою попередження атеросклерозу й ішемічних захворювань серця [7, 8]. Це зумовлено тим, що ПНЖК викликають зміни структури ліпідів клітинних мембран, внаслідок чого вони впливають на різні ланки метаболізму в клітині за рахунок змін активності ферментів [4, 13]. При цьому окремі ферменти (аланін-амінотрансфераза (АЛТ), аспартат-амінотрансфераза (АСТ)) надходять з клітин тканин у кров, де зміни їх концентрації свідчать про ступінь деградації клітинних мембран і зміни метаболізму [4]. Разом із тим, ПНЖК значно впливають на метаболізм холестерину, його всмоктування, секрецію у жовч, синтез ліпопротеїдів, ферментів синтезу [9, 12]. Холестерин при підвищенні його вмісту в раціоні є причиною порушення обміну ліпідів в організмі та виникнення атеросклерозу [7, 11]. Цим зумовлена актуальність досліджень, спрямованих на поглиблення і розширення досліджень з метою вивчення впливу різних ПНЖК на окремі ланки метаболізму.

Метою даної роботи було вивчити вплив добавок жирів з різним співвідношенням ПНЖК родин ω -3, ω -6 і ω -9 до раціону морських свинок на окремі ланки ліпідного обміну, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), активність АЛТ і АСТ при екзогенному холестериновому навантаженні.

© О.С. Покотило, В.Г. Янович, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослід проведено на чотирьох групах клінічно здорових самців морських свинок масою 300-350 г, по 6 тварин у групі. Усі тварини отримували стандартний раціон, який забезпечував їх потребу в основних елементах живлення згідно з нормою, протягом 7-ми тижнів. Морські свинки 1-ї групи були контрольними. До раціону тварин 2, 3, 4-ї груп додавали холестерин у кількості 100 мг на морську свинку на добу з метою викликання у них гіперхолестеринемії. При цьому до раціону тварин 2-ї групи додавали соняшкову олію (2 мл на морську свинку на добу) як джерело ПНЖК родини ω -6; до раціону тварин 3-ї групи – риб'ячий жир (2 мл на морську свинку на добу) як джерело ПНЖК родини ω -3; до раціону тварин 4-ї групи – риб'ячий жир і лляну олію (1 мл на морську свинку на добу). В дослідженнях використовували риб'ячий жир виробництва Львівської фармацевтичної фабрики, соняшкову олію "Олейна" та лляну олію виробництва Харківського ПКЦ "Парус". Після закінчення досліду тварин піддавали декапітації під ефірним наркозом. У зразках плазми крові, одержаної від морських свинок усіх груп, визначали активність АЛТ (КФ 2.6.1.2) і АСТ (КФ 2.6.1.1) [2]. Стан ПОЛ плазми крові визначали за вмістом дієнових кон'югат (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) [1, 5]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично, використовуючи критерій Ст'юдента, при порівнюванні досліджуваних показників у крові тварин дослідних груп і тварин контрольної групи [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З наведених у таблиці 1 даних видно, що риба́чий жир характеризується високим вмістом ПНЖК родини ω -3: ліноленової ($C_{18:3}$), ω -3 ейкозапентаєнової ($C_{20:5}$), ω -3 докозагексаєнової ($C_{22:6}$). З ПНЖК родини ω -6 у риба́чому жирі у значній кількості міститься лінолева ($C_{18:2}$) кислота, з мононенасичених жирних кислот (МНЖК) – ω -9 олеїнова ($C_{18:1}$). Співвідношення ПНЖК родин ω -6/ ω -3 у риба́чому жирі становило 0,44, а співвідношення насичених жирних кислот (НЖК) до полі- й мононенасичених жирних кислот (ПНЖК+МНЖК) – 0,16.

ПНЖК соняшникової олії представлені в основному лінолевою ($C_{18:2}$), олеїною ($C_{18:1}$), НЖК-пальмітиною ($C_{16:0}$) і стеариною ($C_{18:0}$) кислотами. При цьому співвідношення родин ПНЖК ω -6/ ω -3 становило понад 50, співвідношення НЖК: ПНЖК+МНЖК – 0,1.

Ляна олія характеризується найбільшим вмістом ліноленової ($C_{18:3}$), лінолевої ($C_{18:2}$) та олеїнової ($C_{18:1}$) кислот. Співвідношення родин ПНЖК ω -6/ ω -3 у ляній олії становило 0,33, співвідношення НЖК: ПНЖК+МНЖК – 0,23.

З даних, наведених у таблиці 2, видно, що активність ферментів АСТ і АЛТ у плазмі крові морських свинок значною мірою залежала від вмісту в раціоні ліпідів і співвідношення ПНЖК у їх складі. Так, найбільша активність обох досліджуваних ферментів спостерігалася у тварин 2-ї дослідної групи, до основного раціону яких додавали разом із холестерином соняшкову олію. Зростання активності АСТ у плазмі крові морських свинок 2-ї групи свідчило про інтенсифікацію метаболізму аміно-

кислот у їх тканинах при експериментальній гіперхолестеринемії та високому рівні лінолевої кислоти в раціоні. Збільшення активності АЛТ у плазмі крові тварин цієї групи можна пояснити виходом даного ферментного білка з гепатоцитів внаслідок зміни структурної організації мембран внутрішньоклітинних органел при гіперхолестеринемії та відсутністю впливу лінолевої кислоти при підвищенні її вмісту в раціоні морських свинок на структуру мембран ентероцитів.

У плазмі крові морських свинок 3-ї групи, до раціону яких разом із холестерином додавали риба́чий жир як джерело ПНЖК родини ω -3, з протилежними за напрямком вірогідними змінами активності АЛТ і АСТ виявлено найбільше зростання коефіцієнта Де Рітца порівняно з його величиною у тварин контрольної групи. Цей коефіцієнт являє собою співвідношення АСТ до АЛТ у крові морських свинок і певною мірою характеризує метаболізм амінокислот у їх організмі [4]. Найнижчий коефіцієнт Де Рітца виявлено у плазмі крові тварин 4-ї групи, до раціону яких разом із холестерином додавали риба́чий жир і ляну олію, що зумовлено високою активністю АЛТ і низькою – АСТ. Низька активність АСТ у плазмі крові морських свинок цієї групи свідчить про зменшення інтенсивності метаболізму глюкози і надходження метаболітів у ЦТК у їх організмі [6].

Таким чином, виявлені нами зміни активності АЛТ і АСТ у крові морських свинок з експериментальною гіперхолестеринемією за різного співвідношення ПНЖК родин ω -6 і ω -3 у їх раціоні вказують на значні відмінності у

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпідів риба́чого жиру, соняшникової і ляної олій, %

Код ЖК	Назва кислоти	Риба́чий жир	Соняшникова олія	Ляна олія
14:0	Міристинова	3,48	–	1,12
14:1	Міристолеїнова	0,32	–	–
16:0	Пальмітинова	9,37	5,36	12,04
16:1	Пальмітоолеїнова	5,16	0,21	2,31
17:0	Маргарінова	–	0,12	–
18:0	Стеаринова	2,19	3,60	–
18:1	Олеїнова	13,94	23,76	12,26
18:2	Лінолева	14,90	66,40	17,06
18:3	Ліноленова	23,38	0,55	55,21
20:1	Гадолеїнова	6,81	–	–
20:2	Ейкозадієнова	0,14	–	–
20:3	Ейкозатриєнова	4,81	–	–
20:4	Арахідонова	0,86	–	–
20:5	Ейкозапентаєнова	5,70	–	–
22:0	Бегенова	–	–	–
22:1	Ерукова	0,37	–	–
22:2	Докозадієнова	0,17	–	–
22:3	Докозатриєнова	0,76	–	–
22:4	Докозатетраєнова	0,10	–	–
22:5	Докозапентаєнова	2,05	–	–
22:6	Докозагексаєнова	5,34	–	–

Таблиця 2 – Активність АЛТ і АСТ у плазмі крові морських свинок, ммоль/л ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Групи тварин			
	1-ша	2-га	3-тя	4-та
АСТ	0,94±0,08	1,97±0,09***	1,23±0,09*	0,91±0,07
АЛТ	1,1±0,07	1,91±0,08***	0,85±0,06*	1,65±0,09**
Коефіцієнт Де Рітца (АСТ/АЛТ)	0,85	1,04	1,45*	0,55*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таблиця 3 – Вміст ліпідів та продуктів ПОЛ плазми крові морських свинок ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Групи тварин			
	1-ша	2-га	3-тя	4-та
Заг. ліпіди, г/л	4,13±0,34	6,21±0,43**	5,16±0,39*	5,66±0,44*
Холестерин, ммоль/л	1,66±0,09	3,24±0,29***	2,93±0,18***	2,44±0,20**
Триацилгліцериди, ммоль/л	0,718±0,058	0,881±0,061**	0,730±0,055	0,772±0,049
МДА, мМ/кг	2,78±0,21	4,34±0,32*	3,28±0,33	3,63±0,26
ДК, ммоль/л	33,94±3,12	45,15±3,76*	36,97±2,87	35,55±3,23

впливі цих ПНЖК на структуру та функції мембран і метаболізм амінокислот у гепатоцитах.

З даних, наведених у таблиці 3, видно, що загальний вміст ліпідів у плазмі крові морських свинок 2, 3 і 4-ї груп при додаванні до їх раціону холестерину, соняшникової олії, рибацького жиру і лляної олії був більшим, відповідно, у 1,50; 1,24 і 1,37 раза ($p < 0,01$; $p < 0,05$; $p < 0,05$), вміст холестерину – в 1,95; 1,82 і 1,47 раза ($p < 0,01$; $p < 0,001$; $p < 0,01$), вміст триацилгліцеридів – в 1,22; 1,01 і 1,07 раза, ніж у плазмі крові тварин 1-ї групи. Ці дані свідчать про те, що на загальний вміст ліпідів, вміст холестерину і триацилгліцеридів плазми крові морських свинок впливає не тільки вміст жиру, а і його жирнокислотний склад. Так, жири, які містять ПНЖК родини ω -3, характеризуються більшою гіпогенною та антихолестериногенною діями в організмі тварин, ніж жири, які містять ПНЖК родини ω -6 [7, 8, 13].

У результаті проведених досліджень встановлено, що у плазмі крові морських свинок 2-ї групи порівняно з тваринами 1-ї групи, виявлено вірогідно менший вміст ДК і МДА ($p < 0,01$; $p < 0,05$), а аналогічні відмінності у концентрації цих продуктів ПОЛ у крові морських свинок 3-ї і 4-ї груп, порівняно з тваринами 1-ї групи, не достовірні ($p < 0,5$). Ці дані становлять значний інтерес, оскільки за нормальних фізіологічних умов усі ПНЖК ініціюють перекисне окиснення ліпідів в організмі тварин. Вони свідчать про інгібуючий вплив ПНЖК родини ω -3 на пере-

кисне окиснення ліпідів в організмі морських свинок при гіперхолестеринемії, що узгоджується з наявними в літературі даними про інгібуючий вплив рибацького жиру на перекисне окиснення ліпідів в організмі жінок [10].

ВИСНОВКИ. 1. У плазмі крові морських свинок з експериментальною гіперхолестеринемією при додаванні до раціону соняшникової олії, порівняно з тваринами контрольної групи без гіперхолестеринемії, виявлено достовірне зростання активності АСТ і АЛТ, при додаванні рибацького жиру – вірогідне підвищення активності АСТ і зниження – АЛТ, при додаванні рибацького жиру разом із лляною олією – вірогідне збільшення активності АЛТ.

2. При додаванні до раціону морських свинок з експериментальною гіперхолестеринемією всіх жирів у плазмі крові вірогідно підвищується вміст загальних ліпідів і холестерину порівняно з їх вмістом у плазмі крові тварин контрольної групи. Ступінь цього підвищення при додаванні до раціону морських свинок соняшникової олії значно більший, ніж рибацького жиру окремо і разом із лляною олією.

3. Додавання до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією соняшникової олії призводить до вірогідного підвищення в плазмі крові концентрації продуктів ПОЛ (гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду) порівняно з їх концентрацією в плазмі крові тварин контрольної групи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.П., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.

2. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – Одеса: ОКФа, 1994. – 415 с.

3. Ланкин Т.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

4. Рослый И.М., Абрамов С.В., Акуленко Л.В. Принципы анализа ферментемии: Учебное пособие по курсу клинической биохимии для системы послевузовского образования. – М.: МГМСУ, 2003. – 42 с.

5. Стальная И.Д., Гавришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 66-68.

6. Ajayi O.B., Odutuga A. Effect of low-zinc status and essential fatty acids deficiency on the activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in liver and serum of albino rats // Nahrung. – 2004. – **48** (2). – P. 88-90.

7. Bruce J. Holub. Clinical nutrition: 4. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care // J. Can. Med. Assoc. – 2002. – **5**. – P. 166.

8. Connor W.E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease // Am. J. Clin. Nutr. – 2000. – **71** (1 Suppl). – P. 171-175.

9. Gatto L.M., Lyons M.A., Brown A.J., Samman S.

Trans fatty acids and cholesterol metabolism: mechanistic studies in rats and rabbits fed semipurified diets // Int. J. Food Sci. Nutr. – 2001. – **52** (5). – P. 435-441.

10. Higdon, Jane V. Supplementation of postmenopausal women with fish oil rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not associated with greater in vivo lipid peroxidation compared with oils rich in oleate and linoleate as assessed by plasma malondialdehyde and F2-isoprostanes // Am. J. Clin. Nutr. – 2000. – **72**. – P. 714-722.

11. Hui D.Y., Howles P.N. Molecular mechanisms of cholesterol absorption and transport in the intestine // Semin. Cell. Dev. Biol. – 2005. – **16**. – P. 183-192.

12. Kogteva G.S., Bezuglov V.V. Unsaturated Fatty Acids as Endogenous Bioregulators // Biochemistry (Moscow). – 1998. – **63**. – P. 6-15.

13. Pinotti M.F., Silva M.D.P., Sugizaki M.M. et al. Effect of unsaturated fatty acids on myocardial performance, metabolism and morphology // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2006. – **39** (2). – P. 305-312.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ОТДЕЛЬНЫЕ ЗВЕНЬЯ МЕТАБОЛИЗМА В МОРСКИХ СВИНОК ПРИ ХОЛЕСТЕРИНОВОЙ НАГРУЗКЕ

О.С. Покотыло¹, В.Г. Янович²

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ УААН², ЛЬВОВ

Резюме

Изучено влияние добавок рыбьего жира, подсолнечного и ленного масел как источников полиненасыщенных жирных кислот семейств ω -3 и ω -6 к рациону морских свинок с экспериментальной гиперхолестеринемией на содержание в плазме крови общих липидов, триацилглицеридов и холестерина, гидроперекисей липидов и малонового диальдегида и активности АЛТ и АСТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полиненасыщенные жирные кислоты, холестерин, рыбий жир, подсолнечное и ленное масла, АЛТ, АСТ, морские свинки, кровь.

INFLUENCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON SEPARATE LINKS OF METABOLISM IN GUINEA PIGS AT CHOLESTERIC LOADING

O.S. Pokotylo¹, V.G. Yanovych²

TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY¹
INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF UAAS², LVIV

Summary

On the model of experimental hypercholesterolemia the influence of additives of cod-liver oil, sunflower and flax oil into a diet of guinea pigs, as sources of polyunsaturated fatty acids of ω -3 and ω -6 families on content of the common lipids, triacylglycerids, cholesterol, MDA, DC in blood serum and ALT, AST activity is investigated.

KEY WORDS: polyunsaturated fatty acids, cholesterol, cod-liver oil, sunflower oil, flax oil, AST, ALT, guinea pigs, blood.

Адреса для листування: О.С. Покотило, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ НА ЕФЕКТИ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ ЩОДО ФЕРМЕНТНИХ СИСТЕМ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ У ЩУРІВ

Г.П. Петровська

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

Введення тваринам ліпополісахариду Sh. Boydii знижує активність множинних форм цитохрому P450 та ферментів кон'югації ксенобіотиків з глутатионом, сульфатом та глюкуроною кислотою в печінці щурів. Пригнічення активності ферментних систем тісно корелює з різким зростанням у тварин вмісту метаболітів оксиду азоту – нітритів та нітратів. Введення неселективного інгібітора синтази оксиду азоту – метилового ефіру L-Nω-нітроаргініну (L-NAME), особливо вибіркового інгібітора індукцибельної синтази оксиду азоту – аміногуанідину, значною мірою попереджує вплив ліпополісахариду на ферментні системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпополісахарид, запалення, інгібітори синтази оксиду азоту, ферменти біотрансформації ксенобіотиків.

ВСТУП. Відомо, що інфекційні захворювання та інші хвороби, що супроводжуються розвитком запального синдрому, викликають значні зміни метаболічних процесів, пов'язаних з продукцією енергії та біосинтетичними реакціями, включаючи процеси біотрансформації ксенобіотиків [4, 5]. З іншого боку, запальний процес супроводжується значним посиленням продукції оксиду азоту внаслідок різкого посилення експресії індукцибельної синтази оксиду азоту [3]. Раніше нами було показано, що введення щурам ендотоксину Sh. Boydii викликало зниження активності множинних форм цитохрому P450 та ферментів кон'югації паралельно зростанню майже на порядок вмісту метаболітів оксиду азоту – нітритів та нітратів [1]. Однак, якою мірою пригнічення ферментних систем біотрансформації ксенобіотиків після введення ліпополісахариду є наслідком гіперпродукції оксиду азоту, залишається невідомим. Тому метою роботи була оцінка впливу неспецифічного інгібітора множинних форм синтази оксиду азоту – L-NAME та вибіркового інгібітора індукцибельної форми ферменту на ефекти ліпополісахариду Sh. Boydii стосовно ферментів метаболізму ксенобіотиків.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 40 щурах-самцях масою 140-190 г, яким внутрішньоочеревинно вводили 2,5 мг/кг ліпо-

полісахариду Sh. Boydii. L-NAME (50 мг/кг) та аміногуанідин (10 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг/кг за 1 год до та через 12 год після введення ендотоксину. Дози інгібіторів взяті з літератури [2]. У мікросомальній фракції печінки визначали загальний вміст цитохрому P450, активність монооксигеназ, залежних від цитохромів P4502E1, 1A2, 2D, 2C і 3A, активність гемоксигенази та UDP-глюкуронілтрансферази, у постмітохондріальній фракції – активність фенолсульфотрансферази, глутатіон-S-трансферази, у печінці – вміст глюкуронідів та сульфатів, у сироватці крові – вміст нітратів та нітритів [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження показали, що введення щурам мікробного ліпополісахариду спричинило значне зростання вмісту нітратів та нітритів у сироватці крові (з $49,4 \pm 4,93$ мкмоль у контролі до $307 \pm 38,6$ на 12 годину та до $96,4 \pm 8,9$ мкмоль/л на 24 годину дослідження). Введення тваринам L-NAME, а особливо аміногуанідину, викликало значне зменшення продукції метаболітів оксиду азоту (вміст нітратів та нітритів на 24 годину дослідження склав, відповідно, $63,6 \pm 3,6$ та $74,3 \pm 3,1$ мкмоль/л).

Введення мікробного ліпополісахариду спричинило зниження рівня цитохрому P450 та гему на 41 і 38 % (табл. 1). Разом із тим, у щурів, які попередньо отримували L-NAME,

зменшення рівня цитохрому P450 та гемму скла-
ло 27 та 27 %, а у тварин, які одержували аміно-
гуанідин, – лише 20 і 16 % відповідно. У
щурів, яким вводили ліпополісахарид, спосте-
рігалась активація гемоксигенази в 3,27 раза,
тоді як у групах тварин "ліпополісахарид +
L-NAME" та "ліпополісахарид + аміногуанідин"
активність гемоксигенази зросла у 2,18 та 1,82
раза відповідно. Введення L-NAME та аміно-
гуанідину також вагомо зменшувало актив-
ність NADH- і NADPH-редуктаз дихлорфенолін-
дофенолу. Якщо анілінгідроксилазна та пара-
нітрофенолгідроксилазна активності після
введення ліпополісахариду знижувались більш
як вдвічі, то у тварин, яким вводили L-NAME, –
лише на 30 та 30 %, а у щурів, які отримували
аміногуанідин, – на 22 та 21 % відповідно.
Вплив інгібіторів на ацетанлідгідроксилазну,
метопролол-О-деметилазну, амідопірин-*N*-
деметилазну, еритроміцин-*N*-деметилазну,
гексобарбіталгідроксилазну та напроксен-*O*-
деметилазну активності був подібним за
величиною та спрямованістю.

Введення тваринам ліпополісахариду при-
гнічувало також активність UDP-глюкуроніл-
трансферази (на 38 %) і фенолсульфотранс-
ферази (на 36 %) та викликало значне змен-
шення вмісту глюкуронідів (на 32 %) і сульфатів
(на 34 %). Застосування інгібіторів синтази
оксиду азоту протидіяло цим змінам. У щурів,
які отримували L-NAME, зниження активності
UDP-глюкуронілтрансферази та фенолсульфо-
трансферази склало лише 25 і 22 %, а змен-
шення вмісту глюкуронідів та сульфатів – 21 і

19 % відповідно. Протективна дія аміногуа-
нідину виявилась ще більшою. Введення ліпо-
полісахариду викликало зниження активності
глутатіон-*S*-трансферази із субстратами хлор-
динітробензолом та нітрогліцерином на 34 та
34 %, зменшення вмісту відновленого глута-
тіону на 52 % при одночасному зростанні в 6,4
раза рівня глутатіондисульфідів. Застосування
L-NAME та аміногуанідину значною мірою
нівелювало негативний вплив ліпополісаха-
риду. Так, активність глутатіон-*S*-трансферази
знижувалась лише на 27 та 22 %, вміст від-
новленого глутатіону зменшувався тільки на 26
та 14 %, а рівень глутатіондисульфідів збіль-
шився в 3 рази. У тварин, яким вводили
аміногуанідин, активність глутатіон-*S*-трансфе-
рази та вміст відновленого глутатіону змен-
шувались на 34 і 14 %, а рівень глутатіонди-
сульфідів збільшувався лише в 3,1 та 2,0 рази.

Таким чином, попереднє введення щурам
інгібіторів синтази оксиду азоту значною мірою
протидіє пригніченню досліджуваних метабо-
лічних систем під впливом мікробного ліпопо-
лісахариду. При цьому слід зауважити, що в
усіх випадках протекторний вплив селектив-
ного інгібітора індукцйбельної NO-синтази окси-
ду азоту – аміногуанідину був більш значним,
ніж вплив невибіркового інгібітора – L-NAME.

Стосовно безпосередніх механізмів впливу
оксиду азоту на активність метаболічних фер-
ментів можна висунути кілька гіпотез. Зокрема,
доведено, що оксид азоту здатен безпосе-
редньо блокувати цитохроми та інші гемові біл-
ки, утворюючи нітрозильні комплекси з гемо-

Таблиця 1 – Вплив інгібіторів синтази оксиду азоту на ефект ліпополісахариду *Sh. boydii* (ЛПС) щодо вмісту цитохрому P450, гемму та активності ферментів у мікросомній фракції печінки щурів ($M \pm m$; $n = 8-10$)

Показники	Контроль	Через 24 год після введення ЛПС		
		ЛПС	ЛПС+ L-NAME	ЛПС+ аміногуанідин
Цитохром P450, нмоль/мг білка	0,92±0,08	0,55±0,05	0,67±0,02*#	0,74±0,02*
Загальний вміст гемму, нмоль/мг білка	1,79±0,11	1,12±0,07	1,31±0,04*#	1,50±0,05*
Гемоксигеназа, нмоль/мг білка	0,11±0,008	0,36±0,02	0,24±0,01*#	0,20±0,01*
NADH-редуктаза ДХФІФ	85,7±4,2	71,3±4,2	79,5±2,5	81,8±1,6*
NADPH-редуктаза ДХФІФ	69,2±3,2	57,6±3,3	65,6±2,5	66,7±2,7*
Моноксигеназні активності цитохрому P450				
Анілін (P4502E1)	0,94±0,07	0,44±0,04	0,66±0,02*#	0,73±0,02*
Пара-нітрофенол (P4502E1)	0,23±0,02	0,11±0,01	0,16±0,007*#	0,18±0,006*
Ацетанлід (P4501A2)	1,97±0,14	1,37±0,10	1,56±0,02 #	1,64±0,03*
Метопролол (P4502D6)	1,04±0,06	0,71±0,06	0,85±0,02*	0,89±0,02*
Амідопірин (P450 2C та 3A1)	5,56±0,41	2,55±0,22	4,04±0,15*#	4,53±0,12*
Еритроміцин (P4503A)	1,06±0,08	0,42±0,03	0,79±0,02*#	0,86±0,02*
Гексобарбітал (P4502C)	3,52±0,33	1,62±0,13	2,28±0,11*#	2,70±0,11*
Напроксен (P4502C)	1,07±0,08	0,47±0,04	0,77±0,02*#	0,86±0,03*

Примітка. * – вірогідні відмінності щодо групи "ліполісахарид";
– вірогідні відмінності щодо групи "ліпополісахарид + аміногуанідин".
Активність ферментів виражена в нмоль/хв/мг білка.

вим залізом, модифікувати білкову частину ферментів, викликаючи нітрузування залишків тирозину та цистеїну чи конвертуючи залишки цистеїну до S-нітрозотіолів [2].

Утворення помірної кількості оксиду азоту за умов запалення має захисне пристосувальне значення, однак гіперпродукція оксиду азоту має негативне значення як через ініціювання оксидативних і нітрозативних пошкоджень клітинних структур, так і через пригнічення детоксикаційних реакцій. Цілком очевидно, що застосування аміногуанідину, що вибірково гальмує саме ту форму синтази оксиду азоту, яка індукується при запаленні, може мати позитивне значення, зокрема попереджувати негативні наслідки впливу запальної реакції на фармакокінетику лікарських засобів.

ВИСНОВКИ. 1. Введення ліпополісахариду *Sh. Boydii* викликає значне зниження вмісту в печінці щурів цитохрому P450 та монооксигеназних активностей залежних від цитохромів P4502E1, 1A2 та 2D, 2C та 3A, а також активності NADH- і NADPH-редуктаз та ферментів кон'югації – UDP-глюкуронілтрансферази, фенолсульфотрансферази, глутатіон-S-трансферази, при одночасному зростанні активності ферменту деградації гемопротейнів – гемоксигенази.

2. Застосування неселективного інгібітора синтази оксиду азоту – L-NAME, а особливо вибіркового інгібітора індукбельної синтази оксиду азоту – аміногуанідину, дозволяє суттєво зменшити гальмівний вплив ліпополісахариду на ферментні системи детоксикації ксенобіотиків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пентюк А.А., Петровская А.П., Дмитриев Д.В. и др. Некоторые механизмы депримирующего влияния бактериального эндотоксина на метаболизм лекарственных веществ // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – № 5. – С. 56-59.
2. Korhonen R., Lahti A., Kankaanranta H., Moilanen E. Nitric oxide production and signaling in inflammation // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy. – 2005. – 4, № 4. – P. 471-479.
3. Lee S., Lee S. Suppression of hepatic cyto-

chrome P450-mediated drug metabolism during the late stage of sepsis in rats // Shock. – 2005. – 23, № 2. – P. 144-149.

4. Quaroni L.G., Seward H.E., McLean K.J. et al. Interaction of nitric oxide with cytochrome P450 BM3 // Biochemistry. – 2004. – 43, № 51. – P. 164-216.

5. Da S Rocha J.C., Peixoto M.E., Jancar S. et al. Dual effect of nitric oxide in articular inflammatory pain in zymosan induced arthritis in rats // Br. J. Pharmacol. – 2002. – 136, № 4. – P. 588-596.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА НА ЭФФЕКТЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ОТНОСИТЕЛЬНО ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ У КРЫС

А.П. Петровская

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

*Введение животным липополисахарида *Sh. Boydii* снижает активность множественных форм цитохрома P450 и ферментов конъюгации ксенобиотиков с глутатионом, сульфатом и глюкуроновой кислотой в печени крыс. Угнетение активности ферментных систем тесно коррелирует с резким возрастанием у животных содержания метаболитов оксида азота – нитритов та нитратов. Введение неселективного ингибитора синтазы оксида азота – метилового эфира L-N ω -нитроаргинина (L-NAME), особенно избирательного ингибитора индуцибельной синтазы оксида азота – аминугуанидина, в значительной степени предупреждает влияние липополисахарида на ферментные системы.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липополисахарид, воспаление, ингибиторы синтазы оксида азота, ферменты биотрансформации ксенобиотиков.

**EFFECT OF NITRIC OXIDE SYNTHASE INHIBITORS
ON LYPOPOLYSACCHARIDE EFFECTIVENESS RELATIVELY
TO ENZYMATIC SYSTEMS OF XENOBIOTICAL
BIOTRANSFORMATION IN RATS**

H.P. Petrovska

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

The introduction of Sh. Boydii lipopolysaccharide inhibits the activities of multiple forms of cytochrome P450 and conjugating xenobiotic enzymes with glutathione, sulphate and glucuronic acid in the liver of rats. Inhibition of enzyme system activities closely correlates with a sharp increase in the content of nitric oxide metabolites, such as nitrates and nitrites. The introduction of non-selective nitric oxide synthase inhibitor – methyl ether L-N ω -nitroarginine (L-NAME) and, particularly, – selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase – aminoguanidine to a greater extent prevents lipopolysaccharide effects upon enzymatic systems.

KEY WORDS: lipopolysaccharide, inflammation, nitrogen oxide synthase inhibitors, enzymes of xenobiotical biotransformation.

Адреса для листування: Г.П. Петровська, вул. М-Сибіряка, 35, кв. 140, Вінниця, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua**

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РАДІАЦІЙНИХ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ГІПОКСИЧНОГО ВПЛИВУ

Є.М. Горбань, Н.В. Топольнікова
ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

У досліджах на дорослих (6 міс.) та старих (22 міс.) щурах-самцях лінії Вістар вивчено можливість попередження радіаційно зумовлених змін показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у ряді органів і тканин тварин різного віку за допомогою гіпоксичного впливу. Активація процесів ПОЛ у крові та тканині печінки через 2 доби після рентгенівського опромінення (R-опромінення) у дорослих щурів була більш виражена, ніж у старих. Гіпоксичний вплив запобігав активації процесів ПОЛ як у дорослих, так і в старих опромінених тварин. Цей ефект був зумовлений не активацією ферментів антиоксидантного захисту, оскільки Кат- та СОД-активності знижувались у досліджуваних групах щурів, а можливо, нівелюванням кисневого ефекту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **перекисне окиснення ліпідів, опромінення, старіння, гіпоксичний вплив.**

ВСТУП. Одним із пускових механізмів біологічної дії іонізуючого опромінення (ІО) є активація вільнорадикального окиснення. Вільні радикали та інші активні форми кисню розглядають як первинні медіатори радіаційного стресу [1]. Відповідно до вільнорадикальної теорії старіння, з віком відбуваються істотні зміни в усіх ланках системи антиоксидантного захисту, що є причиною зниження резистентності організму до стресів та звуження діапазону його адаптаційних можливостей [3]. В основі радіопротекторної дії гіпоксичного впливу лежить нівелювання негативних проявів кисневого ефекту [2]. Тому метою роботи було дослідження можливості попередження радіаційно зумовлених змін показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у ряді органів щурів різного віку за допомогою гіпоксичного впливу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 60 щурах-самцях лінії Вістар двох вікових груп: дорослих (6 міс.) та старих (22 міс.). Тварин піддавали одноразовому R-опроміненню в дозі 5 Гр. Їх брали в дослід на 2 та 5 доби після R-опромінення. Для корекції виявлених змін показників ПОЛ у крові та тканині печінки тварин піддавали гіпоксичному впливу: впливу в газовій суміші із вмістом кисню 10 об% протягом 1 хв до опромінення та 1 хв у процесі

R-опромінення. Евтаназію щурів проводили шляхом декапітації під вуглекислим газом. Інтенсивність ПОЛ у крові та тканині печінки визначали за рівнем малонового діальдегіду (МДА). Досліджували активність ферментів антиоксидантного захисту – каталази (Кат) та супероксиддисмутази (СОД).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У дорослих щурів спостерігалось зростання рівня МДА в крові на 2 добу після R-опромінення в 1,8 раза та в тканині печінки – у 2,5 раза (табл. 1). Виявлено підвищення Кат- та СОД-активностей в крові дорослих щурів через 2 доби після дії ІО (табл. 2, 3), що є закономірною реакцією системи антиоксидантного захисту на активацію процесів ПОЛ [1]. Але через 5 діб після опромінення спостерігалось зниження активності зазначених ферментів антиоксидантної системи в крові порівняно з контролем, що може свідчити про виснаження системи антиоксидантного захисту в зазначений строк. У тканині печінки через 5 діб після R-опромінення виявлено підвищення рівня МДА у 2,3 раза (табл. 1), Кат- та СОД-активності не відрізнялись від контрольних значень (табл. 2, 3).

Гіпоксичний вплив запобігав активації ПОЛ у крові дорослих щурів через 2 доби після R-опромінення та у тканині печінки – через 2 та 5 діб після одноразового R-опромінення

© Є.М. Горбань, Н.В. Топольнікова, 2006.

(див. табл. 1). Так, у групі опромінених тварин, підданих гіпоксичному впливу, в крові через 2 доби та у тканині печінки через 2 і 5 днів після дії ІО рівень МДА відновлювався до контрольних значень, а в крові зазначеної групи щурів через 5 днів після R-опромінення знижувався в 1,7 рази порівняно з контролем.

Гіпоксичний вплив запобігав підвищенню СОД-активності в крові через 2 доби та зниженню Кат-активності через 5 днів після R-опромінення. Гіпоксичний вплив не призводив до імовірних змін Кат-активності в тканині печінки опромінених тварин. Спостерігалось зниження СОД-активності в зазначеній групі щурів, порівняно з контролем, через 2 та 5 днів на 46 % та в 2,3 рази відповідно. Можна припустити, що гіпоксичний вплив призводив до зменшення концентрації вільного кисню в тканині печінки дорослих опромінених тварин, сприяв зни-

женню інтенсивності процесів ПОЛ, у результаті чого була відсутня потреба в активації системи антиоксидантного захисту.

У старих щурів через 2 доби після R-опромінення в дозі 5 Гр мала місце тенденція до зниження інтенсивності процесів ПОЛ у крові (див. табл. 1), що, можливо, є наслідком значної активації ферментів антиоксидантного захисту: Кат-активність зросла в крові в 5 разів порівняно з контролем, СОД-активність – у 3,4 рази. У тканині печінки старих тварин через 2 доби після впливу ІО не спостерігалось вірогідних змін рівня МДА (див. табл. 1). Через 5 днів виявлено підвищення рівня МДА в тканині печінки, порівняно з контролем, майже в 2 рази. При цьому Кат- та СОД- активності в тканині печінки старих опромінених щурів підвищились у 2 та 1,8 рази відповідно (див. табл. 2, 3). Гіпоксичний вплив запобігав активації ПОЛ у тканині

Таблиця 1 – Рівень малонового діальдегіду в крові та тканині печінки дорослих та старих щурів після одноразового R-опромінення і впливу гіпоксії, нмоль/мг білка

Групи тварин	Кров		Печінка	
	дорослі	старі	дорослі	старі
Контроль	6,04±1,0	4,12±0,50	0,45±0,05	0,42±0,06
Через 2 доби після R-опромінення	11,0±1,21 $p_1 < 0,05$	2,79±0,43 $p_1 > 0,05$	1,14±0,15 $p_1 < 0,05$	0,34±0,09 $p_1 > 0,05$
Через 2 доби після R-опромінення+гіпоксія	8,42±1,21 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	3,90±0,96 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,52±0,06 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,46±0,16 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Через 5 днів після R-опромінення	4,08±0,53 $p_1 > 0,05$	3,32±0,92 $p_1 > 0,05$	1,05±0,20 $p_1 < 0,05$	0,79±0,18 $p_1 < 0,05$
через 5 днів після R-опромінення+гіпоксія	3,56±0,14 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	2,88±0,50 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,57±0,09 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,56±0,12 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$

Примітка. p_1 – імовірність різниці порівняно з контролем;
 p_2 – імовірність різниці порівняно з показником у групі опромінених тварин.

Таблиця 2 – Активність каталази в крові та тканині печінки дорослих і старих щурів після одноразового R-опромінення та впливу гіпоксії, мкмоль/(мг білка·хв)

Групи тварин	Кров		Печінка	
	дорослі	старі	дорослі	старі
Контроль	4,30±1,0	5,55±0,90	1,95±0,05	0,57±0,09
Через 2 доби після R-опромінення	7,66±0,77 $p_1 < 0,05$	27,90±5,10 $p_1 < 0,05$	1,30±1,30 $p_1 < 0,05$	1,32±0,24 $p_1 < 0,05$
Через 2 доби після R-опромінення+гіпоксія	7,43±1,0 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	12,88±3,30 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,55±0,05 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,58±0,07 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
Через 5 днів після R-опромінення	1,76±0,38 $p_1 < 0,05$	8,44±1,20 $p_1 > 0,05$	2,08±0,80 $p_1 > 0,05$	1,13±0,17 $p_1 < 0,05$
Через 5 днів після R-опромінення+гіпоксія	4,09±1,0 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	11,47±3,31 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,98±0,16 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,14±0,14 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$

Примітка. p_1 – імовірність різниці порівняно з контролем;
 p_2 – імовірність різниці порівняно з показником у групі опромінених тварин.

Таблиця 3 – Активність супероксиддисмутази в крові і тканині печінки дорослих та старих щурів після одноразового опромінення та впливу гіпоксії, ум. од./мг білка

Групи тварин	Кров		Печінка	
	дорослі	старі	дорослі	старі
Контроль	0,57±0,09	0,72±0,09	3,00±0,31	3,59±0,26
Через 2 доби після R-опромінення	1,00±0,09 $p_1 < 0,05$	2,47±0,63 $p_1 < 0,05$	3,13±0,22 $p_1 > 0,05$	3,39±0,62 $p_1 > 0,05$
Через 2 доби після R-опромінення+гіпоксія	0,23±0,05 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,12±0,15 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,92±0,28 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	5,75±0,96 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Через 5 діб після R-опромінення	0,30±0,01 $p_1 < 0,05$	1,21±0,23 $p_1 > 0,05$	2,19±0,25 $p_1 > 0,05$	6,45±1,00 $p_1 < 0,05$
Через 5 діб після R-опромінення+гіпоксія	0,42±0,08 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,92±0,10 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,28±0,21 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	4,31±0,57 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$

Примітка. p_1 – імовірність різниці порівняно з контролем;
 p_2 – імовірність різниці порівняно з показником у групі опромінених тварин.

печінки старих тварин через 5 діб після R-опромінення, підвищенню Кат-активності в тканині печінки та крові через 2 доби, СОД-активності в крові через 2 доби та в тканині печінки через 5 діб.

Таким чином, гіпоксичний вплив був сприятливим для динаміки змін показників ПОЛ у крові та тканині печінки старих щурів протягом 5 діб після опромінення в сублетальній дозі 5 Гр: запобігав активації вільнорадикальних процесів у тканині печінки через 5 діб після впливу ІО, відсутність активації процесів ПОЛ у зазначених органах була зумовлена не активацією ферментів антиоксидантного захисту, оскільки Кат- та СОД-активності знижувались у даній групі порівняно з опроміненими твари-

нами, а іншими механізмами регуляції про- й антиоксидантного захисту.

ВИСНОВКИ. Активація процесів ПОЛ у крові та тканині печінки через 2 доби після впливу ІО у дорослих щурів була більш вираженою, ніж у старих. Гіпоксичний вплив запобігав активації процесів ПОЛ як у дорослих, так і в старих тварин. Цей ефект зумовлений не активацією ферментів антиоксидантного захисту, оскільки Кат та СОД-активності знижувались у досліджуваних групах тварин, а можливо, нівелюванням кисневого ефекту. Отримані дані можуть слугувати теоретичним обґрунтуванням для розробки методу спрямованої корекції системи ПОЛ в опромінених щурів різного віку за допомогою гіпоксичного впливу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наукова думка, 1991. – 256 с.
2. Щепотьева Е.С., Ардашников С.Н., Лурье Т.Е. Кислородный эффект при действии ионизирующих излучений. – М.: Медгиз, 1959. – 186 с.
3. Frolkis V.V. Aging and life-prolonging processes. – Wien. – New York: Springer-Verlag, 1982. – 380 p.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАДИАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ ОДНОКРАТНОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ

Е.Н. Горбань, Н.В. Топольникова
ИНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГИИ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК УКРАИНЫ

Резюме

В опытах на взрослых (6 мес.) и старых (22 мес.) крысах-самцах линии Вистар изучена возможность предотвращения радиационно обусловленных изменений показателей перекисного окисления липидов

(ПОЛ) в ряде органов и тканей животных разного возраста с помощью гипоксического влияния. Активация процессов ПОЛ в крови и ткани печени через 2 суток после ионизирующего облучения (R-облучения) у взрослых крыс была более выражена, чем у старых. Гипоксическое влияние предотвращало активацию процессов ПОЛ как у взрослых, так и у старых облученных животных. Этот эффект был обусловлен не активацией ферментов антиоксидантной защиты, поскольку в указанных группах Кат- и СОД-активности снижались, а возможно, нивелированием кислородного эффекта.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, облучение, старение, гипоксическое влияние.

AGE PECULIARITIES OF IRRADIATION CHANGES OF LIPID PEROXIDATION INDICES UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA

Y.M. Gorban, N.V. Topolnikova

INSTITUTE OF GERONTOLOGY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE

Summary

Experiments have been conducted on Wistar male rats of 6 and 22 months of age. It was stated the possibility of correction of lipid peroxidation indices changes in some organs and tissues of adult and old irradiated rats using hypoxia. Since 2 days after X-ray irradiation the activation of lipid peroxidation in blood and tissue of adult rats was prepotent as compared with old ones. Hypoxic influence prevented an activation of lipid peroxidation in both adult and old animals. Despite the Cat- and SOD activities decreased in experimental groups of animals this effect was realized possibly as a result of levelling oxygen effect.

KEY WORDS: lipid peroxidation, X-ray irradiation, aging, influence of hypoxia.

Адреса для листування: Є.М. Горбань, Інститут геронтології Академії медичних наук України, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua**

ОКИСНИЙ СТРЕС ЯК ЛАНКА В РОЗВИТКУ СОМАТИЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПОСТРАЖДАЛИХ ВНАСЛІДОК ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ

Л.М. Овсяннікова, А.А. Чумак, О.М. Коваленко, О.В. Носач,
С.М. Альохіна, А.В. Кубашко, С.Б. Верескун
НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ АМН УКРАЇНИ

Представлено результати дослідження особливостей змін стану антиоксидантного захисту організму у хворих з найбільш поширеними соматичними захворюваннями (патологія органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем), які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок Чорнобильської аварії, за умов тривалого окисного стресу. Встановлено поступове посилення прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу протягом 1992-2006 рр.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: окисний стрес, соматична патологія, Чорнобильська аварія.

ВСТУП. На сьогодні накопичено численні експериментальні та клінічні дані, які свідчать про те, що тривала активація процесів вільнорадикального окиснення за умов поступового виснаження резервів антиоксидантного захисту організму супроводжується посиленням деструктивних процесів і збільшенням тяжкості перебігу захворювань. При цьому складність ранньої діагностики захворювань пов'язана з невірністю проблеми визначення критеріїв розмежування фізіологічних і патологічних змін, що спостерігаються при окисному стресі [5].

Стійкі тенденції до збільшення захворюваності серед осіб, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії [2], потребують детального узагальнення результатів тривалого спостереження за цією категорією населення України та визначення напрямків подальшого вивчення особливостей розвитку патологічних станів.

Мета дослідження – з'ясування особливостей змін стану антиоксидантного захисту організму хворих з найбільш поширеними соматичними захворюваннями (патологія органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем), які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, за умов тривалого спостереження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було проведено аналіз результатів дослідження 450 зразків крові хворих (переважно чоловічої статі, віком

© Л.М. Овсяннікова, А.А. Чумак, О.М. Коваленко, О.В. Носач, С.М. Альохіна, А.В. Кубашко, С.Б. Верескун, 2006.

від 29 до 75 років), які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, з патологією органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем. Документовані дози зовнішнього опромінення (в межах 0,1-7,5 Гр) були наявні у 25 % обстежених. Групи хворих за віком і статтю вірогідно не відрізнялися від контрольних груп практично здорових осіб.

Як індикатори окисного стресу застосовували показники вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Первинні та проміжні продукти ПОЛ визначали в ізопропанольному екстракті з використанням методичних підходів І.А. Волчегорського і співавт. (1989). Вміст у плазмі крові ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) визначали за методом М. Uchiyama, М. Michara (1978); на етапі 2000-2002 рр. – за модифікацією методу [1]. Для характеристики антиоксидантного захисту проводили визначення активності супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) еритроцитів (СОД) за методом Н.Р. Misra, І. Fridovich (1972), каталази (КФ 1.11.1.6) еритроцитів (Е-КАТ) – за методом М.А. Королюк і співавт. (1988). Інтегральний показник – фактор антиоксидантного стану (ФАОС) – розраховували за С. Чевари і співавт. (1991). Детальний опис вищезазначених методів наведено в методичних рекомендаціях [3].

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою статистичного пакета SPSS (v. 10.0.5 for Windows; "Навігатор", 2001). Проводили описовий аналіз кожної вибірки з розрахунком серед-

нього значення (M) та стандартної похибки (SE). Для порівняння групи хворих і контрольної групи застосовували U-тест Манна та Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів тривалих досліджень стану процесів ПОЛ у хворих, які брали участь у ліквідації наслідків Чорнобильської аварії, показав наявність проявів окисного стресу в обстежених у 1992-1999, 2000-2002 і 2005-2006 рр. – активації вільнорадикальних процесів з накопиченням дієнових (ДК) та оксодієнових кон'югатів (ОДК), що у 1992-2002 рр. відбувалося на тлі підвищення вмісту сполук з ізольованими подвійними зв'язками (СІПЗ) (табл. 1). Рівень ТБК-АП у групах хворих, обстежених в 1992-1999 і 2000-2002 рр., не відрізнявся від показників контрольних груп.

Негативні тенденції щодо перебігу процесів ПОЛ спостерігалися в групі хворих, які були обстежені протягом 2005-2006 рр., – вміст ТБК-АП збільшився на 135 %. Це також підтвер-

джується результатами аналізу співвідношень між рівнями вмісту продуктів ПОЛ. Так, лише в цій групі хворих наявні вірогідні зміни показників ДК/СІПЗ (підвищення на 33 %, $p=0,001$), ОДК/СІПЗ (підвищення на 58 %, $p=0,004$) відносно значень контрольної групи.

Слід зазначити, що на сучасному рівні наукових знань не активація вільнорадикального окиснення, а прооксидантно-антиоксидантний дисбаланс вважається однією з головних причин пошкодження клітин і тканин на молекулярному рівні [7]. З урахуванням цього проведено аналіз показників активності основних антиоксидантних ферментів у хворих в різні терміни обстеження, а для характеристики антиоксидантного стану в цілому було розраховано інтегральний показник Φ_{AOC} , який відображає здатність ферментної складової антиоксидантної системи (однієї з найпотужніших за умов тривалого окисного стресу) підтримувати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу (табл. 2).

Таблиця 1 – Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові хворих, які зазнали дії факторів аварії на ЧАЕС, з патологією органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем (у різні терміни обстеження, $M \pm SE$)

Група обстеження (кількість обстежених)	Сполуки з ізольованими подвійними зв'язками, $E_{220}/мл$	Дієнові кон'югати, $E_{232}/мл$	Оксодієнові кон'югати, $E_{278}/мл$	ТБК-активні продукти, нмоль/мл
1992-1999 рр.				
Контрольна (n=57)	2,036±0,122	0,874±0,076	0,419±0,034	3,227±0,175
Хворі (n=296)	3,045±0,079 ($p=0,000$)	1,352±0,049 ($p=0,000$)	0,649±0,025 ($p=0,000$)	3,632±0,120 ($p=0,526$)
2000-2002 рр.				
Контрольна (n=22)	1,843±0,113	0,883±0,092	0,536±0,044	4,248±0,180
Хворі (n=104)	2,495±0,074 ($p=0,003$)	1,207±0,046 ($p=0,031$)	0,739±0,032 ($p=0,047$)	4,535±0,136 ($p=0,499$)
2005-2006 рр.				
Контрольна (n=15)	2,243±0,213	0,798±0,090	0,340±0,054	2,697±0,184
Хворі (n=50)	2,396±0,084 ($p=0,202$)	1,127±0,001 ($p=0,001$)	0,607±0,038 ($p=0,001$)	6,353±0,474 ($p=0,000$)

Таблиця 2 – Стан системи антиоксидантного захисту крові хворих, які зазнали дії факторів аварії на ЧАЕС, з патологією органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем (у різні терміни обстеження, $M \pm SE$)

Група обстеження (кількість обстежених)	Супероксиддисмутаза, ум.од./мг Hb	Каталаза, мкмоль/хв×мг Hb	Фактор антиоксидантного стану, ум. од.
1992-1999 рр.			
Контрольна (n=42)	4,367±0,274	1278,1±80,5	1925,4±188,0
Хворі (n=238)	3,447±0,121 ($p=0,000$)	1176,5±35,4 ($p=0,311$)	1415,5±88,3 ($p=0,004$)
2000-2002 рр.			
Контрольна (n=22)	4,471±0,294	1038,2±76,5	1284,5±220,7
Хворі (n=98)	3,097±0,148 ($p=0,000$)	873,7±30,4 ($p=0,069$)	706,3±60,6 ($p=0,043$)
2005-2006 рр.			
Контрольна (n=15)	4,400±0,278	1296,9±148,2	2228,2±331,4
Хворі (n=45)	4,885±0,235 ($p=0,511$)	1092,0±68,0 ($p=0,186$)	987,1±107,0 ($p=0,000$)

Як видно з таблиці 2, активність СОД у групах хворих в 1992-2002 рр. була зниженою і досягла значень норми у 2005-2006 рр., активність Е-КАТ вірогідно не змінювалася. Проте такий рівень функціонування цієї ланки антиоксидантного захисту є недостатнім для забезпечення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, оскільки загальним для всіх груп хворих було зменшення значень Φ_{AOC} відносно показників відповідних контрольних груп: у хворих, обстежених у 1992-1999 рр., – на 26,5 %, у 2000-2002 рр. – на 45,0 %, у 2005-2006 рр. – на 55,7 %.

При цьому рівень залежності значень Φ_{AOC} від активності СОД і Е-КАТ за значеннями коефіцієнта кореляції Спірмена (r_s) суттєво знизився в групі хворих, обстежених у 2005-2006 рр. Так, у 1992-1999 рр. r_s між Φ_{AOC} і СОД дорівнював 0,529 ($p=0,000$), а для Φ_{AOC} і Е-КАТ – 0,585 ($p=0,000$); у 2000-2002 рр. – $r_s=0,755$ ($p=0,000$) і $r_s=0,584$ ($p=0,000$) відповідно; у 2005-2006 рр. – $r_s=0,306$ ($p=0,041$) і $r_s=0,277$ ($p=0,065$) відповідно. Тоді як r_s між Φ_{AOC} і ТБК-АП не зазнавав значних змін і становив у 1992-1999 рр. -0,511 ($p=0,000$), у 2000-2002 рр. – -0,554 ($p=0,000$), у 2005-2006 рр. – -0,561 ($p=0,000$). На наш погляд, це є проявом дисфункції всієї системи антиоксидантного захисту організму, а не лише її ферментної ланки, оскільки за умов тривалого окисного

стресу потужність її неферментної складової є недостатньою для підтримання прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, а підвищення ролі неферментних компонентів може супроводжуватися додатковим утворенням радикальних продуктів [4].

Отримані результати відповідають досвіду тривалого спостереження, який свідчить про те, що патогенетичні механізми, ініційовані безпосередньо в гострий період прямого контакту з іонізуючим випромінюванням, продовжують функціонувати, підтримані комплексом негативних факторів (екологічних, економічних, психоемоційних і т. ін.) та зниженням резервних можливостей регуляторних систем [6]. Отже, подальші дослідження доцільно спрямувати на визначення прогностично значущих біохімічних критеріїв ризику розвитку патологічних станів у віддалений період після Чорнобильської аварії.

ВИСНОВОК. У хворих, які зазнали дії факторів Чорнобильської аварії, з патологією органів травлення, бронхолегеневої та нервової систем при обстеженні в різні терміни протягом 1992-2006 рр. реєстрували ознаки поступового посилення прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу, що в цілому відповідає тенденціям збільшення захворюваності населення України, яке постраждало внаслідок аварії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
2. Бебешко В.Г. Медичні наслідки Чорнобильської аварії // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології: Зб. наук. пр. – К., 2005. – С. 5-24.
3. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Метод. рекомендації / Наук. центр радіац. медицини АМН України; Уклад.: Л.М. Овсяннікова, С.М. Альохіна, О.В. Дробінська та ін. – К., 1999. – 18 с.
4. Дубинина Е.Е., Коновалов П.В., Солитернова И.Б. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 1. – С. 125-132.
5. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: МАИК "Наука/Интерпериодика", 2001. – 343 с.
6. Health effects of Chernobyl accident: Monograph in 4 parts / Ed. A. Vozianov, V. Bebeshko, D. Bazyka. – Kyiv: DIA, 2003. – 512 p.
7. Moskovitz J., Yim M.B., Chock P.B. Free radicals and disease // Arch. Biochem. Biophys. – 2002. – **397**, № 2. – P. 354-359.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК ЗВЕНО В РАЗВИТИИ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ПОСТРАДАВШИХ ВСЛЕДСТВИЕ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АВАРИИ

Л.М. Овсянникова, А.А. Чумак, А.Н. Коваленко, Е.В. Носач,
С.М. Алёхина, А.В. Кубашко, С.Б. Верескун
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ АМН УКРАИНЫ

Резюме

Представлены результаты исследования особенностей изменений состояния антиоксидантной защиты организма у больных с наиболее распространёнными соматическими заболеваниями (патология органов пищеварения, бронхолёгочной и нервной систем), которые подверглись воздействию ионизирующего излучения вследствие Чернобыльской аварии, в условиях длительного окислительного стресса. Установлено постепенное усиление прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса в течение 1992-2006 гг.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: окислительный стресс, соматическая патология, Чернобыльская авария.

OXIDATIVE STRESS AS A COMPONENT OF SOMATIC PATHOLOGY DEVELOPMENT IN THE SUFFERERS OF CHORNOBYL ACCIDENT

L.M. Ovsyannikova, A.A. Chumak, O.M. Kovalenko, O.V. Nosach,
S.M. Alyokhina, A.V. Kubashko, S.B. Vereskun
RESEARCH CENTER FOR RADIATION MEDICINE, ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE

Summary

The peculiarities of changes of antioxidative defence state in patients with the most widespread somatic diseases pathology of digestive, bronchopulmonary and nervous systems), who had been exposed to ionizing radiation due to Chornobyl accident, under condition of prolonged oxidative stress were studied in dynamics. A graduated aggravation of prooxidative-antioxidative imbalance during 1992-2006 was determined.

KEY WORDS: oxidative stress, somatic pathology, Chornobyl accident.

Адреса для листування: Л.М. Овсяннікова, Науковий центр радіаційної медицини АМН України, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ДНК У ТКАНИНАХ ТВАРИН ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ

I.В. Мазепа, М.А. Мазепа, А.І. Мазепа¹

ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹

Вивчено спонтанну та індуковану перекисом водню хемілюмінесценцію ДНК, отриманої з органів і тканин здорових та уражених лейкозом щурів і мишей. Встановлено, що здатність ДНК випромінювати світло у вигляді хемілюмінесценції при лейкозі підвищується, а одним із механізмів підсилення світіння ДНК при лейкозі є процес її денатурації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лейкоз, ДНК, спонтанна хемілюмінесценція ДНК, індукована перекисом водню хемілюмінесценція ДНК.

ВСТУП. Нами встановлено, що при злоякісному рості знижується стабільність вторинної структури ДНК, яка проявляється зменшенням температури молекулярного плавлення, збільшенням інтервалу молекулярного переходу "спіраль-клубок", зміною електронної структури макромолекули, утворенням нових функціональних груп та зміною величини окисно-відновного потенціалу [1]. Дослідження хемілюмінесценції ДНК при злоякісному рості набуває особливої актуальності у зв'язку з відкриттям ДНК-мембранного комплексу, ліпідні компоненти якого здатні визначати структурні й функціональні характеристики ДНК.

З огляду на вищевикладене, доцільно вивчити вплив перексиду водню, що є ефективним стимулятором вільнорадикальних реакцій, на хемілюмінесценцію ДНК при лейкозі, в патогенезі якого, як вказує Н.М. Емануель, вільнорадикальні механізми займають пріоритетне місце [2].

У межах поставленого завдання необхідно було:

а) вивчити залежність хемілюмінесценції препаратів ДНК від умов мікрооточення – рН, осмотичного тиску, концентрації реагуючих речовин;

б) дослідити вплив перексиду водню на специфіку світіння препаратів ДНК печінки, селезінки і пухлини щурів, уражених еритромієлозом Швеця, та ДНК селезінки мишей, уражених лейкозом Раушера.

© I.В. Мазепа, М.А. Мазепа, А.І. Мазепа, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на білих безпородних щурах і мишах лінії BALB/c. Щурам підшкірно імплантували клітини еритромієлозу Швеця, мишам – внутрішньоочеревинно клітини селезінки мишей з індукованим лейкозом Раушера.

Препарати ДНК печінки і селезінки здорових та уражених лейкозом тварин отримували за допомогою методу J. Margit [3] з незначними модифікаціями і додатковою ферментативною обробкою проназою та РНК-азою. Хемілюмінесценцію ДНК вивчено за допомогою квантометричної установки, змонтованої на основі електронно-обчислювального пристрою типу ЕВУ-1-4, детектором якої був ФЕУ-39, встановлений у затемнений термостатичний кожух. На верхньому торці кожуха розміщувалась термостатична робоча камера, а в ній – кювета з досліджуваним розчином ДНК і перексидом водню.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Враховуючи коливання основних фізико-хімічних констант у тканинах за умов ракової трансформації, перш за все констант ізоїонії та ізоосмії, необхідно було дослідити характер впливу різних величин рН і осмотичного тиску середовища на хемілюмінесцентні властивості ДНК. Величини рН у межах від 4,5 до 8,5 одиниць, як показали наші дослідження, істотних зрушень в основних параметрах хемілюмінесценції ДНК не спричиняли. У наших дослідах використано величини рН фізіологічного діапазону (7,40-7,45).

Осмотична сила основного фосфорного буфера складала 0,2 М. Шляхом розведення осмотичну силу фосфорного буфера і реагуючої суміші доводили до 0,04; 0,02; 0,01 і 0,005 М. Різні величини осмотичного тиску в реагуючій суміші істотних відмінностей параметрів хемілюмінограм ДНК не викликали.

Резюмуючи результати дослідів, виконаних з метою вибору умов запису хемілюмінесценції ДНК, було вирішено використати такі параметри реєстрації хемілюмінесценції ДНК: загальний об'єм реагуючої суміші – 10 мл, кількість ДНК у мілілітрі – 200 мкг, кількість 3 % пероксиду водню – 1 мл, розчинник ДНК і пероксиду водню – 0,2 М фосфатний буфер з рН 7,45, рН середовища – 7,40-7,45.

Аналіз світіння препаратів ДНК проведено за такими показниками: A_{ϕ} – амплітуда фону, A_c – амплітуда спонтанного світіння, h – амплітуда швидкого спалаху, H – амплітуда повільного спалаху, $S(H_2O_2)$ – світлосума індукованого пероксидом водню світіння.

Абсолютні величини основних препаратів хемілюмінограм ДНК, отриманих із тканин здорових і уражених лейкозом щурів, представлено в таблиці 1.

З матеріалу таблиці видно, що препарати ДНК досліджуваних тканин здорових тварин

здатні спонтанно випромінювати світло у вигляді хемілюмінесценції. При введенні пероксиду водню в систему, яка складається із розчинника і ДНК, з'являється швидкий спалах, амплітуда якого неоднакова для різних видів досліджуваних препаратів нуклеїнової кислоти. Загальною направленістю у зрушеннях швидкого спалаху є збільшення абсолютних величин для препаратів ДНК, отриманих з органів щурів, уражених лейкозом.

Після швидкого спалаху настає деякий спад світіння ДНК, що переходить у поступовий розвиток повільного спалаху, параметри якого (амплітуда і світлосума світіння) змінюються з уже відзначеною тенденцією до швидкого спалаху. Зокрема, величина амплітуди повільного спалаху і світлосума для препаратів ДНК печінки, селезінки й, особливо, пухлини лейкозних щурів достовірно перевищують рівні цього показника для ДНК печінки і селезінки контрольних щурів.

Вплив вірусного лейкозу на хемілюмінесцентні властивості ДНК вивчено на препаратах ДНК селезінки здорових і уражених лейкозом Раушера мишей. Показники ініційованої H_2O_2 хемілюмінесценції препаратів ДНК тканин здорових та уражених лейкозом мишей представлено в таблиці 2.

Таблиця 1 – Показники ініційованої H_2O_2 хемілюмінесценції (ХЛ) препаратів ДНК тканин здорових та уражених еритромієлозом щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувана тканина		Спонтанна ХЛ A_c , відносних одиниць	Ініційована ХЛ		
			H, відносних одиниць	H, відносних одиниць	$S(H_2O_2)$, імп. $\cdot 10^3 \cdot 10^3C$
Печінка	Контроль	1,36±0,08	7,41±0,39	9,22±1,22	1005±22
	Еритромієлоз	1,28±0,13	11,48±0,90	17,46±2,34	1704±131
		p>0,5	p<0,01	p<0,01	p<0,001
Селезінка	Контроль	1,18±0,06	5,75±0,37	6,93±0,98	906±38
	Еритромієлоз	1,12±0,04	7,07±0,37	10,53±0,62	1157±64
		p>0,5	p<0,05	p<0,01	p<0,01
ПУХЛИНА		1,14±0,14	10,87±2,12	22,30±2,59	2202±228
		*p>0,2	*p>0,1	*p<0,001	*p<0,001

Примітка. *p – порівняно з ДНК печінки контрольних щурів.

Таблиця 2 – Показники ініційованої H_2O_2 хемілюмінесценції препаратів ДНК селезінки здорових та уражених лейкозом мишей ($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувана тканина		Спонтанна ХЛ A_c , відносних одиниць	Ініційована ХЛ		
			H, відносних одиниць	H, відносних одиниць	$S(H_2O_2)$, імп. $\cdot 10^3 \cdot 10^3C$
Селезінка	Контроль	1,18±0,06	5,75±0,37	6,93±0,98	906±38
	лейкоз	1,12±0,04	7,07±0,37	10,53±0,62	1157±64
	p	>0,5	<0,05	<0,01	<0,01

При аналізі даних таблиці видно, що препарати ДНК селезінки здорових мишей за основними параметрами світіння (амплітуда швидкого і повільного спалаху, світлосума ініційованого світіння) близькі до отриманих при дослідженні ДНК селезінки здорових щурів. За умов лейкозного пошкодження селезінки амплітуда спалахів і світлосума світіння достовірно перевищують рівні контрольних величин.

При зіставленні параметрів хемілюмінесценції ДНК селезінки мишей і щурів, уражених лейкозом, видно, що амплітуда швидкого спалаху і світлосума світіння ДНК мишей перевищують показники світіння ДНК щурів з перещепленим лейкозом.

Оскільки ДНК не здатна до спонтанного випромінювання світла, можна констатувати, що відзначене явище хемілюмінесценції ДНК при введенні пероксиду водню зумовлене властивостями останнього. Однак при введенні в систему "фосфатний буфер – стандартний сольовий розчин" чистого пероксиду водню наставав тільки швидкий спалах, а за ним – різкий спад світіння, інтенсивність якого при досягненні стаціонарного світіння лише незначно перевищувала рівень слабкої спонтанної хемілюмінесценції.

На основі викладеного можна стверджувати, що у формуванні повільного спалаху, який виникає при додаванні пероксиду водню до розчину ДНК, реакція розкладання пероксиду водню особливого значення не має.

Оскільки додавання пероксиду водню в систему "фосфатний буфер – стандартний сольовий розчин" повільного спалаху не викликає, визначальною структурою у виникненні повільного спалаху досліджуваних препаратів є ДНК.

Роль денатурації в посиленні хемілюмінесцентних властивостей ДНК при лейкозі досліджена шляхом порівняння показників

світіння нативних і денатурованих температурою препаратів ДНК печінки здорових і уражених лейкозом щурів.

Встановлено, що денатуровані препарати ДНК печінки при дії пероксиду водню проявляють більш виражену здатність випромінювати світло у вигляді хемілюмінесценції, ніж нативні. Виявлені відмінності на хемілюмінограмах по світлосумі ініційованого світіння між денатурованими препаратами ДНК печінки здорових і уражених лейкозом щурів статистично не достовірні.

Узагальнюючи викладений вище матеріал, можна констатувати, що здатність ДНК випромінювати світло у вигляді хемілюмінесценції при лейкозі підвищується, хоча інтенсивність випромінювання в органах тварин виражена неоднаково. Оскільки параметри хемілюмінесценції препаратів ДНК, отриманих з тканин уражених лейкозом щурів, кількісно неоднакові, але з максимальними порушеннями в ДНК пухлини щурів і селезінці уражених лейкозом мишей, то можна припустити, що в структурі виявлених зрушень світіння нуклеїнових кислот при лейкозі певну роль відіграє ступінь пошкодження тканини раковим процесом. Порівняльний аналіз параметрів хемілюмінесценції нативних і денатурованих препаратів ДНК дає підстави припустити, що одним із механізмів посилення світіння ДНК при лейкозі є процес денатурації.

ВИСНОВКИ. На основі проведених досліджень встановлено, що препарати ДНК з тканин здорових експериментальних тварин не проявляють хемілюмінесцентних властивостей, тоді як зразки ДНК, отримані з тканин уражених лейкозом тварин мають виражену здатність випромінювати світло. Одним із механізмів посилення хемілюмінесцентних властивостей ДНК при злоякісному рості є процес денатурації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мазепа І.В., Мазепа М.А., Мазепа А.І. ДНК як біоіндикатор забруднення біосфери важкими металами // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 46. – С.186-187.

2. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. -М.: Наука, 1977. – 414 с.

3. Marmur J., Doty P. Heterogeneity of Deoxyribonucleic Acids // Nature. – 1959. – **153**, № 4673. – P. 1427-1429.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ДНК В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ

И.В. Мазепа, М.А. Мазепа, А.И. Мазепа¹
ПРИКАРПАТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ¹

Резюме

Изучена спонтанная и индуцированная перекисью водорода хемилюминесценция ДНК, полученной из органов и тканей здоровых и пораженных лейкозом крыс и мишей. Установлено, что способность ДНК излучать свет в виде хемилюминесценции при лейкозе повышается, а одним из механизмов усиления свечения ДНК при лейкозе является процесс её денатурации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лейкомия, ДНК, спонтанная хемилюминесценция ДНК, индуцированная перекисью водорода хемилюминесценция ДНК.

CHEMILUMINESCENT PROPERTIES OF DNA IN TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER MALIGNANT GROWTH

I.V. Mazepa, M.A. Mazepa, A.I. Mazepa¹
PRECARPATHIAN NATIONAL UNIVERSITY BY VASYL STEFANYK
IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY¹

Summary

It has been studied spontaneous and induced by hydrogen peroxide chemiluminescence of DNA obtained from organs and tissues of healthy and leucosis-damaged rats and mice. It has been revealed that ability of DNA to light radiation in chemiluminescent manner increases under leucosis. One of the mechanisms of enhanced DNA luminescence under leucosis is the process of its denaturation.

KEY WORDS: leukemia, DNA, spontaneous chemiluminescence of DNA, chemiluminescence of DNA induced by hydrogen peroxide.

Адреса для листування: І.В. Мазепа, вул. Мельничука, 8/7, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ АНТИБІОТИКІВ КЛАСУ ФТОРХІНОЛОНІВ

А.В. Тарновська, В.П. Отчич, Д.І. Санагурський
Львівський національний університет імені Івана Франка

Досліджено активність ферментів глутатіонової ланки – глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази у зародках в'юна на різних етапах розвитку за умов впливу антибіотиків класу фторхінолонів – бороцину та флюміквілу. Показано, що ці фторхінолони зумовлюють зростання активності досліджуваних ферментів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антиоксидантний статус, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, зародки в'юна, фторхінолони, бороцин, флюміквіл.

ВСТУП. В останні роки зріс попит на синтетичні хіміотерапевтичні препарати для лікування різноманітних інфекційних захворювань. Особливу групу серед цих препаратів становлять фторовмісні антибіотики – фторхінолони. Завдяки наявності в їх структурі атома фтору в них виявлено нові властивості [6]. На відміну від впливу на клітинні процеси прокариот шляхом інгібування ДНК-гірази, дія фторхінолонів на еукаріоти реалізується на мембранному рівні. За рахунок наявності 3-карбоксі та 4-оксигруп антибіотики можуть зв'язуватись зі складовими мембрани, що призводить до дестабілізації мембранної структури, порушення роботи мембранних ферментів та пошкодження і загибелі клітини. Деякі з фторовмісних речовин використовують для лікування захворювань центральної нервової та ендокринної систем, запальних процесів, а інші – як онкологічні та противірусні препарати. Представниками антибіотиків класу фторхінолонів є бороцин та флюміквіл. Проте механізм їх взаємодії з ембріональною клітиною, а також ступінь токсичності до кінця не з'ясовано. Відомо, що при нормальній життєдіяльності організму в клітині утворюються вільні радикали – метаболічно активні сполуки, які порушують обмін речовин у ній [3, 4, 5]. Їх утворення активується при різних стресових ситуаціях [1]. Для захисту від пошкоджень у клітині існує механізм нейтралізації вільних радикалів, який включає роботу антиоксидантної (АО) системи. До ферментів АО комплексу належать глутатіонпероксидаза (ГПО) та глутатіонредуктаза (ГР),

© А.В. Тарновська, В.П. Отчич, Д.І. Санагурський, 2006.

що знешкоджують пероксидами [1, 2]. Метою нашої роботи було дослідження зміни активності ферментів антиоксидантної системи у зародках в'юна на різних етапах розвитку за умов впливу бороцину та флюміквілу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом досліджень були зародки в'юна (*Misgurnus fosillis* L.) в період 1, 3 та 5 год розвитку. Яйцеклітини одержували та запліднювали за А.А. Нейфахом. Овуляцію стимулювали шляхом внутрішньом'язового введення самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру відбирали через 36 год після стимуляції. Сім'яники одержували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Ікру запліднювали в чашках Петрі суспензією сперміїв. Через 5-10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували при температурі 20-22 °С у фізіологічному розчині Гольтфретера. Для дослідження впливу бороцину на активність ферментів глутатіонової ланки його додавали в інкубаційне середовище у 0,005 %, 0,001 % та 0,0001 % концентраціях. Вимірювали активність ГПО та ГР. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі. Результати досліджень опрацьовано статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У попередніх наших дослідженнях показано, що бороцин та флюміквіл у досліджуваних концентраціях зумовлюють функціонування системи перекисного окиснення ліпідів та супероксиддисмутази на досить високому рівні [7],

а також спричиняють зростання активності ГПО на всіх етапах розвитку (рис. 1). Ймовірно, зростання ензиматичної активності ГПО зумовлене підвищенням концентрації пероксиду водню. ГПО бере участь у знешкодженні як H_2O_2 , так і органічних гідропероксидів. Відновлення $ROOH$, особливо ліпідів і ДНК, припиняє пероксидацію і попереджує появу токсичних вторинних метаболітів. Спорідненість ГПО з H_2O_2 вища, ніж у каталази, тому перша ефективніша при низьких концентраціях субстрату, тоді як у захисті клітини від оксидативного стресу, зумовленого високими концентраціями H_2O_2 , ключова роль належить каталазі. Слід зазначити, що активація ГПО пов'язана не тільки з реакцією знешкодження пероксиду водню, але й з детоксикацією інших пероксидів, перш за все ліпідних, що входять до складу біомембран [1, 2].

Відомо, що функціонування ГПО тісно спряжене із функціонуванням ГР, яка регенерує окиснений глутатіон. При дослідженні активності ГР нами показано, що дія фторхінолонів у досліджуваних концентраціях призводить до зростання активності ферменту на всіх етапах розвитку порівняно з контролем (рис. 2). Ймовірно, зростання ензиматичної активності ГР зумовлене підвищенням концентрації пероксиду водню.

ВИСНОВКИ. Антибіотики фторхінолонового класу зумовлюють зростання активності ферментів глутатіонової ланки зародків в'юна на всіх етапах розвитку. Такі зміни активності досліджуваних ферментів можуть бути спричинені специфічним перебігом реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів, що узгоджується з даними літератури [8].

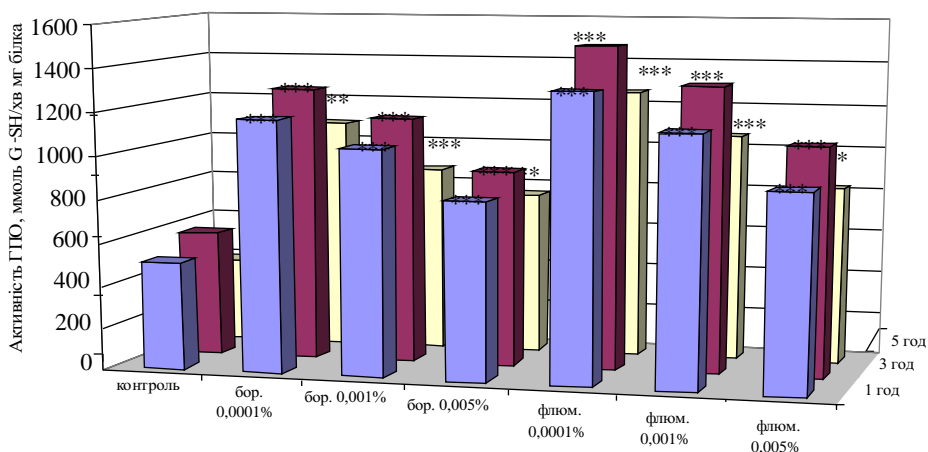


Рис. 1. Активність глутатіонпероксидази у зародках в'юна за впливу антибіотиків фторхінолонового ряду (бороцину та флюміквілу) в різних концентраціях ($p \geq 0,99$).

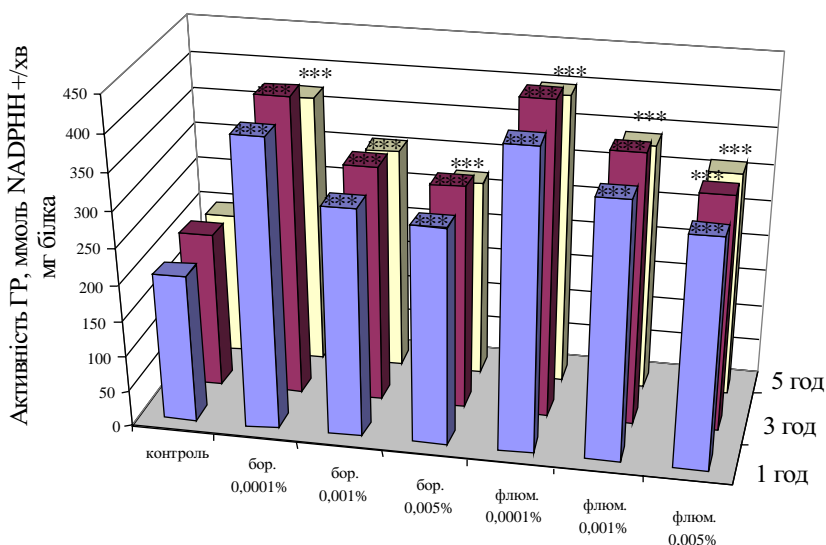


Рис. 2. Активність глутатіонредуктази у зародках в'юна за впливу антибіотиків фторхінолонового ряду (бороцину та флюміквілу) в різних концентраціях ($p \geq 0,99$).

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и ПОЛ // Усп. совр. биол. – 1991. – 111, № 5. – С. 922-930.
2. Бурлакова Е.Б. Роль антиокислительной активности липидов в клеточном метаболизме // Витамины. – 1975. – Вып. 8. – С. 37-42.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
4. Грубинко В.В., Леус Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб // Гидробиол. журн. – 2001. – 37, № 1. – С. 68-78.
5. Мукалов И.О., Гойда Е.А., Кусень С.И. Перекисное окисление липидов на ранних этапах развития вьюна // Укр. биохим. журн. – 1980. – 52, № 4. – С. 473-477.
6. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Фторхинолоны. – М.: Биоинформ, 1995. – 208 с.
7. Тарновська А.В., Дика М.В., Санагурський Д.І. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний статус у зародків в'юна за умов впливу фторхінолонів // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – 2004. – 6, № 1, частина 2. – С. 260-265.
8. Winstone G.W., Di-Giulio R.T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // Aquat. Toxicol. – 1991. – 19, № 2. – P. 137-161.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА В ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА ПРИ ВЛИЯНИИ АНТИБИОТИКОВ КЛАССА ФТОРХИНОЛОНОВ

А.В. Тарновская, В.П. Отчич, Д.И. Санагурский
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ФРАНКА

Резюме

Исследовано активність ферментів глутатионного звена – глутатионпероксидази и глутатионредуктазы (ГР) в зародышах вьюна на разных этапах развития при влиянии антибиотиков класса фторхинолонов – бороцина и флюмиквила. Показано, что эти фторхинолоны обуславливают возрастание активности исследуемых ферментов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антиоксидантный статус, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, зародыши вьюна, фторхинолоны, бороцин, флюмиквил.

ACTIVITY OF ENZYMES OF GLUTATHIONE LINK IN THE EMBRYOS OF LOACH UNDER INFLUENCE OF ANTIBIOTICS OF FLUORCHINOLONE CLASS

A.V. Tarnovska, V.P. Otchych, D.I. Sanagursky
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

Summary

The activity of enzymes of glutathione link – glutathione peroxidase and glutathione reductase in the embryos of loach on the different stages of development under influence of antibiotics of fluorquinolone class – borocine and flumequiles has been researched. It has been shown that these fluorquinolones predetermine the increase of activity of the explored enzymes.

KEY WORDS: antioxidant status, glutathione peroxidase, glutathione reductase, embryos of loach, fluorquinolones, borocine, flumequile.

Адреса для листування: А.В. Тарновська, Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "ФІБРАБЕТ" НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

О.І. Острівка

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Комбіноване введення попередника оксиду азоту L-аргініну та ентеросорбенту "Фібрабет" білим щурам на фоні експериментального токсичного гепатиту, викликаного нітритом натрію та хлоридом кадмію, послаблює тяжкість перебігу захворювання та зменшує ступінь деградації біополімерних компонентів печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: L-аргінін, нітрит натрію, хлорид кадмію, білковий обмін, ентеросорбент "Фібрабет".

ВСТУП. Враховуючи темпи зростання забруднення зовнішнього середовища ксенобіотиками, стає доцільним вивчення дії токсичних сполук на організм. До широко розповсюджених і небезпечних чинників належать оксид азоту, кадмієві сполуки, нітрити та нітрати, низькі дози радіації [2, 3, 14].

Нітрити та нітрати надходять в організм людини в основному з їжею і питною водою. Неконтрольоване застосування великої кількості азотистих добрив призвело до збільшення вмісту нітритів у ґрунті, а звідси і в питній воді. Окрім цього, нітрити та нітрати окремо як харчові добавки використовують для надання кольору м'ясним виробам, а також як консерванти [3].

Надходження нітросполук може здійснюватися й інгаляційним шляхом. Так, оксид азоту потрапляє в організм з вихлопними газами автомобілів, після чого захоплюється епітеліальними клітинами легень і утворює нітрити та нітрати.

До основних забруднювачів довкілля відносять кадмій та його солі. Він належить до металів, яким притаманна висока здатність акумулюватися в тканинах [6], особливо в печінці, нирках, крові й кістках. Іони кадмію можуть реагувати з функціональними групами білкових молекул, зокрема сульфгідрильними, викликаючи окиснювальний стрес, пригнічуючи ряд біокаталітичних процесів [12].

У літературі ми не зустрічали даних, де б вивчався сумісний вплив нітриту натрію та хлориду кадмію на білковий обмін у білих щурів. Ця поєднана дія має місце в повсякденному житті, на виробництві, в побуті. Наприклад, велика кількість людей працює на підприємствах, на яких вони постійно стикаються з речовинами, що містять нітрити, кадмій, які мають шкідливий вплив на організм людини.

Прогресування хронічних захворювань печінки вимагає як вивчення молекулярних механізмів пошкодження мембран гепатоцитів, так і пошуку нових, порівняно недорогих високоефективних гепатопротекторів. Серед основних методів лікування хворих з ураженням печінки та загальною інтоксикацією важливе місце займають способи виведення з організму токсичних продуктів метаболізму, зокрема ентеросорбція. Останнім часом усе частіше використовують металокомплекси, ентеросорбенти і попередник оксиду азоту – L-аргінін.

Метою нашого дослідження було вивчити ефективність коригувального впливу L-аргініну та ентеросорбенту "Фібрабет" на білковий обмін щурів за поєданого ураження нітритом натрію та хлоридом кадмію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих безпородних лабораторних щурах-самцях масою 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали хлоридом кадмію та нітритом натрію.

Хлорид кадмію вводили внутрішньошлунково в дозі 6 мг/кг маси тіла ($1/15 LD_{50}$), нітрит натрію – в дозі 70 мг/кг ($1/3 LD_{50}$). З метою корекції вводили сумісно L-аргінін у дозі 45 мг/кг та ентеросорбент "Фібрабет" у дозі 1 г/кг маси тіла щоденно від початку отруєння. Піддослідних тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – уражені нітритом натрію та хлоридом кадмію; 3-тя – уражені хлоридом кадмію та нітритом натрію, які отримували L-аргінін та ентеросорбент "Фібрабет". Для дослідження використовували сироватку крові. Декапітацію проводили під легким ефірним наркозом на 1, 3, 5-ту доби від моменту інтоксикації. Стан білкового обміну оцінювали за концентрацією загального білка та білкових фракцій у сироватці крові, електрофоретичне розділення білкових фракцій проводили на агаровому гелі за допомогою апарата для електрофорезу CORMAY GEL PROTEIN [7,11]; вміст сечовини визначали за стандартним набором реактивів (AT Реагент), Дніпропетровськ; стан системи NO оцінювали за допомогою діазореакції з реактивом Гріса з наступною спектрофотометрією шляхом визначення концентрації стабільного метаболіту NO_2 за методом [16].

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За сумісної дії нітрит натрію та хлориду кадмію вміст загального білка у сироватці крові зменшився

на 5-ту добу експерименту на 40 % відносно контрольних тварин (табл. 1). На фоні вираженої гіпопротеїнемії, яка виникає в основному за рахунок зменшення вмісту альбуміну, спостерігалось його зниження протягом усього експерименту. Найбільш виражені зміни відбувалися на 5-ту добу експерименту, що становило 58 % від рівня інтактних.

Наявність гіпопротеїнемії, яка супроводжується диспротеїнемією, очевидно, пов'язана з токсичним ураженням печінки, що призводить до пригнічення її функціональної здатності, встановленої нами в попередніх роботах.

Як відомо, печінка є основним місцем синтезу багатьох білків сироватки крові, який порушується за дії ксенобіотиків. Дані літератури свідчать про те, що зменшення вмісту загального білка в сироватці крові є причиною підвищення проникності судинних стінок, що проявляється зниженням онкотичного тиску крові та, як наслідок, виходом альбумінів у позаклітинний простір [7].

За сумісного ураження ксенобіотиками теж зазнали змін окремі фракції білків. Протягом усіх днів експерименту зменшувалася концентрація α_1 - та α_2 -глобулінів – у 2 і 2,3 раза відповідно. Це також можна пояснити пригніченням білоксинтезувальної функції печінки, яка повною мірою не синтезує дані фракції глобулінів [11].

Вміст β - та γ -глобулінів зріс вже на 3-тю добу експерименту відносно інтактних у 2,5 та 1,8 раза, хоча на 5-ту добу ці показники були дещо нижчими. Ймовірно, підвищення вмісту

Таблиця 1 – Вплив L-аргініну та ентеросорбенту "Фібрабет" на показники білкового обміну за умов ураження кадмію хлоридом та нітритом натрію ($M \pm m$)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні, n=6	Уражені хлоридом кадмію та нітритом натрію, n=18			Уражені тварини, кориговані L-аргініном та ентеросорбентом "Фібрабет", n=18		
			1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
NO_2	Сироватка крові	12,3±1,20	18,4±1,14*	23,5±1,06*	20,2±1,12*	18,5±1,14#	16,4±1,3#	14,2±1,14#
Сечовина	Сироватка крові	6,1±0,3	3,8±0,2*	3,0±0,4*	2,6±0,3*	3,6±0,1#	4,8±0,2#	5,4±0,4#
Загальний білок, г/л	Сироватка крові	68,4±2,6	52,8±3,0*	43,6±3,4*	40,3±2,5*	53,3±2,8 #	60,2±3,4 #	62,0±4,2 #
Альбуміни, %	Сироватка крові	53,3±3,5	40,1±3,1*	36,2±2,8*	32,2±3,0*	38,4±3,4 #	40,0±3,1 #	48,2±2,9 #
α_1	Сироватка крові	5,3±0,4	4,0±0,34*	3,6±0,5*	3,8±0,5*	4,4±0,2 #	4,8±0,4 #	5,0±0,5 #
α_2	Сироватка крові	9,0±1,0	6,3±0,8*	5,2±0,9*	4,4±0,9*	6,9±0,8 #	7,3±0,8 #	8,0±0,6 #
β	Сироватка крові	12,8±1,1	18,4±1,3*	17,6±0,9*	17,0±0,8*	16,3±0,7 #	15,5±1,1 #	14,8±0,8 #
γ	Сироватка крові	17,9±2,6	28,4±2,5*	25,3±2,1*	24,8±1,8*	22,6±1,2 #	20,3±1,5 #	19,4±1,3 #

Примітка. * – різниця достовірна відносно інтактних тварин ($p < 0,05$); # – різниця достовірна відносно уражених тварин ($p < 0,05$).

даних фракцій було реакцією ретикуло-ендотеліальної системи печінки на токсичну дію цих токсикантів.

Концентрація сечовини в сироватці крові зменшилася на 5-ту добу експерименту в 1,5 раза відносно інтактних. Це, очевидно, може бути ще одним доказом порушення функції печінки за дії ксенобіотиків, що впливає на її здатність синтезувати сечовину.

Вміст NO_2 в сироватці крові зріс на 3-тю добу після інтоксикації, порівняно з контрольними тваринами, у 2 рази. На 5-ту добу експерименту після ураження ця різниця була меншою і збільшилася в 1,3 раза. Отже, під впливом ксенобіотиків відбулася стимуляція синтезу NO за рахунок індукції NO -синтази [8, 9].

У сучасній літературі зустрічаються твердження, що донаторам NO притаманна сприятлива дія при токсичному ураженні печінки, тому для корекції токсичного гепатиту ми вирішили взяти попередник оксиду азоту – L-аргінін у комплексі з ентеросорбентом "Фібрабет" [4, 10]. Энтеросорбент містить природні харчові волокна, антиоксиданти (поліфеноли), вітаміни та мікроелементи [5, 14].

Після поєднаного введення L-аргінину та ентеросорбенту "Фібрабет" в уражених щурів в усі дні експерименту спостерігали підви-

щення вмісту загального білка та альбуміну порівняно з ураженими тваринами (див. табл. 1). Відбулися також нормалізація усіх фракцій глобулінів та підвищення концентрації сечовини в сироватці крові. Корекція запропонованими середниками сприяла зменшенню вмісту NO в сироватці крові на 3-тю добу експерименту в 1,3 раза відносно уражених тварин, який наблизився майже до норми на 5-ту добу.

Отже, ентеросорбент "Фібрабет", зв'язуючи токсини, сприяє нормалізації показників білкового обміну. Донор NO – L-аргінін чинить захисну дію на гепатоцити печінки за рахунок гальмування розпаду білково-вуглеводних комплексів [10].

ВИСНОВКИ. 1. Комбінована дія кадмію хлориду та натрію нітриту призводить до порушення білкового обміну в організмі щурів.

2. Поєднане введення L-аргінину та ентеросорбенту "Фібрабет" послаблює тяжкість перебігу захворювання, що проявляється підвищенням функціональної здатності печінки (нормалізацією білкового обміну), та попереджує надмірний синтез оксиду азоту. Поєднання даних коригувальних середників дозволяє використовувати цю комбінацію при отруєнні важкими металами та нітратами на ранніх етапах розвитку токсичного гепатиту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.

2. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.

3. Журавлева В.Ф., Цапков М.М. Токсичность нитратов и нитритов // Гигиена и санитария. – 1983. – № 1. – С. 62-65.

4. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.И., Безверхая И.С. Аминокислоты в медицине. – К.: Здоров'я, 1982. – 198 с.

5. Земсков В.С., Шор-Чудновский М.Е., Кортель Н.Т. О возможном механизме лечебного эффекта энтеросорбции // Клиническая хирургия. – 1988. – № 3. – С. 61-62.

6. Ерстенюк Г.М. Стан лігандних форм гемоглобіну у щурів за умов кадмієвої інтоксикації // Мед. хімія. – 2004. – 3, № 6. – С. 101-103.

7. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по

клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.

8. Лазебник Л.Б., Дроздова В.Н., Барышников Е.Н. Роль оксида азота (NO) в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. – 2005. – № 2. – С. 4-10.

9. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота // Вестник Рос. АМН. – 2004. – № 9. – С. 44-48.

10. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин – окись азота // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1996. – № 1. – С. 35-39.

11. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1973. – 245 с.

12. Михалева Л.М. Патологическая анатомия экспериментальной интоксикации, вызванной хлоридом кадмия: Автореф. дис... канд. мед. наук:

14.00.15. – М., 1990. – 31 с.

13. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1997. – 116 с.

14. Шугалей И.В., Целинский И.В., Малинина Т.В. О токсическом действии нитрита натрия // Гигиена и санитария. – 1991. – № 4. – С. 49-53.

15. Anaya-Prado R., Toledo-Pereyra L.H., Guo R.F. et al. The attenuation of hemorrhage-induced liver injury by exogenous nitric oxide, L-arginine and inhibition of inducible nitric oxide synthase // Invest. Surg. – 2003. – 16 (5). – P. 247-261.

16. Green L.C., Wagner D.A., Glowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – 126. – P. 131-138.

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА И ЭНТЕРОСОРБЕНТА "ФИБРАБЕТ" НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

О.И. Остривка

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Комбинированное введение предшественника оксида азота L-аргинина и энтеросорбента "Фибрабет" белым крысам на фоне экспериментального токсического гепатита, вызванного нитритом натрия и хлоридом кадмия, ослабляет тяжесть хода заболевания и уменьшает степень деградации биополимерных компонентов печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **L-аргинин, нитрит натрия, хлорид кадмия, белковый обмен, энтеросорбент "Фибрабет".**

INFLUENCE OF L-ARGININE AND ENTEROSORBENT "FIBRABET" ON SOME INDEXES OF PROTEIN METABOLISM UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

O.I. Ostrivka

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The combined introduction of precursor of nitrogen oxide L-arginine and enterosorbent "Fibrabet" to the white rats against a background of experimental toxic hepatitis, caused by sodium nitrite and cadmium chloride, loosens the severity of disease course and diminishes the degree of degradation of biopolymer components of liver.

KEY WORDS: **L-arginine, cadmium chloride, sodium nitrite, protein metabolism, enterosorbent "Fibrabet".**

Адреса для листування: *О.І. Острівка, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ІММОБІЛІЗОВАНОГО НА ГІДРАТЦЕЛЮЛОЗНІЙ МЕМБРАНІ ПРЕПАРАТУ ПЕРОКСИДАЗИ ХРОНУ

I.I. Романовська, O.B. Осійчук
ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. O.B. БОГАТСЬКОГО НАН УКРАЇНИ

Методом ковалентної іммобілізації пероксидази хрону на гідратцелюлозній мембрані "Діацелл" було отримано активний гетерогенний каталізатор, що зберігав 88 % пероксидазної активності в широкому діапазоні рН (3,0-12,0) і температур (15-70 °С), багаторазового використання, стабільний при зберіганні (6 місяців), здатний каталізувати реакції окиснення фенольних сполук як у водних розчинах, так і в середовищі полярних органічних розчинників (метанол, етанол, ацетон). Одержаний іммобілізований препарат з високим ступенем біоконверсії (70-100 %) трансформує фенол, *p*-крезол, *p*-хлорфенол.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: іммобілізація, пероксидаза хрону, гідратцелюлозна мембрана, біокаталізатор.

ВСТУП. Розробка та пошук ефективних методів видалення високотоксичних фенольних сполук з розчинів продовжують залишатися актуальними.

Серед існуючих методів утилізації фенолів ефективний ферментативний спосіб з використанням пероксидази хрону [11, 12], недоліками якого є однократність застосування та нестабільність ензиму.

Тому актуальним є закріплення ферментів на носіях, пошук яких триває. При цьому враховується можливість отримувати біокаталізатори багаторазового використання з новими функціональними властивостями, підвищеною стабільністю при використанні й зберіганні.

Відомі методи іммобілізації пероксидази (адсорбція, включення в гелі, ліпосоми і т.ін.) [6, 10] часто не дозволяють одержувати високоактивні, стабільні, багаторазового використання ферментні препарати, крім того, нерідко є багатостадійними і характеризуються високою вартістю у зв'язку із застосуванням фірмових препаратів пероксидази.

Тому становило інтерес розробити метод ковалентної іммобілізації частково очищеної пероксидази хрону (ПОХ) на гідратцелюлозній мембрані, вивчити фізико-хімічні властивості отриманого ферментного препарату та його використання для видалення фенольних сполук з розчинів.

Пероксидаза (К.Ф. 1.11.1.7) – фермент класу оксидоредуктаз, який каталізує у присут-

ності пероксиду водню окиснення фенолів, ароматичних амінів тощо [9].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Пероксидазу виділяли з коренів хрону за модифікованим нами методом Баха [4]. В отриманому ферментному препараті визначали спектральний показник чистоти ($RZ = A_{403} / A_{278} = 1,0$) і активність по пірогалолу (100 Од/мг ферменту).

Концентрацію пероксидази та пероксиду водню визначали спектрофотометрично (СФ-46), використовуючи молярні коефіцієнти поглинання ϵ 102000 М⁻¹см⁻¹ при 403 нм і ϵ 72,4 М⁻¹см⁻¹ при 230 нм відповідно.

За одиницю пероксидазної активності брали таку кількість ферменту, що каталізував утворення 1 мг пурпурогаліну з пірогалолу за 20 с при рН 7,0 і температурі 20 °С.

Як носій використовували гідратцелюлозну мембрану "Діацелл" з розміром пор 0,4 мкм.

Процес іммобілізації пероксидази на гідратцелюлозній мембрані полягав ось у чому: в ємність, що містила 200 см³ 0,25 моль/дм³ періодату натрію, вносили 2 г гідратцелюлозної мембрани і перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 год, після чого мембрану відокремлювали, промивали 500 см³ дистильованої води та інкубували в 200 см³ 0,016 ммоль/дм³ Na-фосфатному буферному розчині (рН=7,0), що містив пероксидазу заданої активності. Після 20 год інкубації у колбу вносили 0,2 г борогідриду натрію і залишали на 12 год при 4 °С. Гідратцелюлозну мембрану

з іммобілізованою на ній пероксидазою промивали дистильованою водою, висушували до постійної маси і зберігали при 4 °С.

Ступінь зв'язування пероксидази з носієм оцінювали за різницею вмісту білка у вільному та іммобілізованому ферменті, застосовуючи метод Лоурі в модифікації Хартрі [8].

Міцність зв'язування пероксидази з носієм вивчали в динамічних умовах у середовищі Na-фосфатного буферного розчину при рН 7,0 протягом 7 год. Міцність зв'язування характеризували відношенням різниці значень активності іммобілізованого ферменту в початковий момент і через певний час до активності ПОХ у початковий момент ($A_{\text{дин.}}^0 - A_{\text{ім.}}^t / A_{\text{ім.}}^0 \cdot 100\%$) [1].

Кількість вільних альдегідних груп носія визначали згідно з [5].

РН-Оптимум активності іммобілізованої пероксидази вивчали в діапазоні значень рН 3,0-12,0 з використанням відповідних буферних розчинів; термооптимум – в інтервалі температур 10-70 °С при рН 7,0 і концентраціях пірогалолу та пероксиду водню 1,0 ммоль/дм³.

Реакції окиснення фенолів (фенолу, *n*-хлорфенолу, *n*-крезолу) (0,25-200 ммоль/дм³) пероксидом водню (0,25-200 ммоль/дм³) проводили при 37 °С у середовищі 0,016 моль/дм³ Na-фосфатного буферного розчину з рН 7,0 та активністю пероксидази 0,5-50 Од/мг. Окиснення фенолів контролювали 4-аміноантипіриновим методом [3].

Кратність використання іммобілізованої пероксидази вивчали за реакцією окиснення фенолу. Для цього іммобілізований препарат

вносили у колбу, що містила 10 см³ буферного розчину з 1 ммоль/дм³ фенолу й 1 ммоль/дм³ пероксиду водню. Через 30 хв мембрану з препаратом ПОХ переносили у колбу з аналогічними розчинами. Ступінь біоконверсії фенолу оцінювали за залишком субстрату, віднесеного до його вихідної концентрації, і виражали у відсотках. Кратність використання ферменту досліджували до моменту досягнення 50 % конверсії фенолу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Методом періодатного окиснення гідратцелюлозної мембрани і наступної взаємодії альдегідних груп, що утворилися (підтверджено наявністю смуги поглинання при 1740 см⁻¹ в ІЧ-спектрах, кількісний вміст яких становив 36 %, тобто 100 % від теор.) з аміногрупами пероксидази і відновленням борогідридом натрію, були отримані активні іммобілізовані препарати ПОХ.

Вивчення впливу масового співвідношення ПОХ:носій показало, що істотне збільшення концентрації ферменту призводить до підвищення пероксидазної активності й становить 88 % при співвідношенні ПОХ:носій 0,2:1 (табл. 1). Зниження активності, можливо, зумовлено конформаційними змінами молекули ферменту при іммобілізації.

Іммобілізація пероксидази на досліджуваному целюлозному носії забезпечувала кількісне зв'язування введеного в реакцію білка.

Вивчення міцності зв'язування пероксидази з носієм показало, що фермент зберігав 100 і 86 % початкової активності впродовж 4, 7 год відповідно у динамічних умовах при рН 7,0.

Таблиця 1 – Вплив співвідношення фермент:носій на збереження пероксидазної активності ($M \pm m$, $n=6$)

Масове співвідношення фермент:носій	Збереження пероксидазної активності	
	Од/мг	% від вих.
0,01:1	52,2±2,3*	52
0,02:1	68,0±1,8*	68
0,05:1	76,1±2,6*	76
0,1:1	82,4±2,1*	82
0,2:1	88,0±2,5*	88

Примітка. * – різниця достовірна порівняно з контролем ($p > 0,001$).

Таблиця 2 – Залежність пероксидазного окиснення фенольних сполук від їх концентрації

[Субстрат], ммоль/дм ³	Ступінь біоконверсії, %					
	фенол		<i>n</i> -хлорфенол		<i>n</i> -крезол	
	Вільна ПОХ	Імоб. ПОХ	Вільна ПОХ	Імоб. ПОХ	Вільна ПОХ	Імоб. ПОХ
0,25	100	100	100	100	100	100
0,50	100	100	89	100	100	100
1,0	87	96	65	85	85	95
10,0	78	90	58	78	74	90
50,0	60	82	42	68	58	79
100,0	43	76	26	59	39	75
200,0	17	61	7	47	15	57

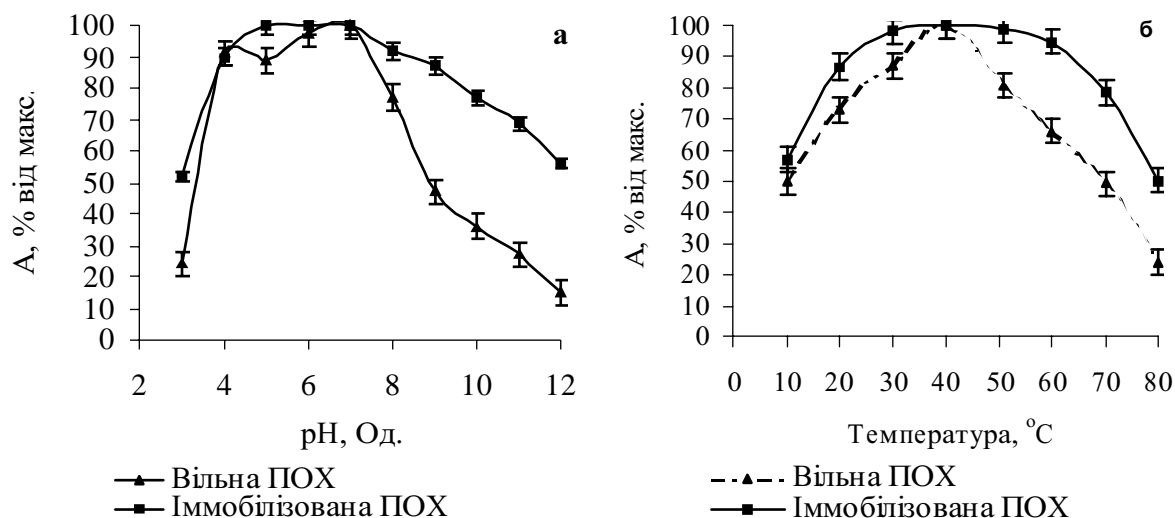


Рис. 1. Залежність каталітичної активності (А) вільної та іммобілізованої пероксидази від рН (а) і температури (б) інкубаційного середовища.

Слід зазначити, що в умовах дослідження не спостерігалася дифузія білка з поверхні гідратцелюлозної мембрани, що підтверджує ковалентний спосіб іммобілізації ферменту.

При вивченні залежності пероксидазної активності іммобілізованої ПОХ від рН інкубаційного середовища встановили, що рН-оптимум і рН-профіль активності ферменту розширені й зміщені в ділянку лужних значень (рис. 1а). Причиною цього може бути елімінація позитивного заряду аміногруп на поверхні молекули ферменту при іммобілізації.

Вивчення рН-стабільності вільної та іммобілізованої ПОХ показало, що при рН 5,5 (температура 37 °C) через 4 год інкубації активність іммобілізованої ПОХ становила 100 %, тоді як вільного ферменту – 67 %.

Вивчення залежності пероксидазної активності іммобілізованого препарату від температури інкубаційного середовища в інтервалі 15-80 °C показало розширення термооптимуму і термопрофілю активності ПОХ в ділянку низьких і високих температур (15-70 °C – для іммобілізованої ПОХ і 25-45 °C – для вільної) (рис. 1б).

Порівняння констант термоінактивації, розрахованих з кінетичних кривих термоінактивації вільної та іммобілізованої ПОХ, показало, що іммобілізована ПОХ більш термостабільна, ніж вільна форма ферменту ($2,7 \cdot 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ і $9,1 \cdot 10^{-6} \text{ c}^{-1}$ відповідно) (рис. 2).

Зменшення константи термоінактивації іммобілізованої пероксидази свідчить про те, що мікрооточення іммобілізованого ферменту відрізняється від мікрооточення ферменту в розчині.

Відомо, що пероксидаза являє собою нековалентний комплекс геміну з апоперокси-

дазою, що утворюється за рахунок координаційних, а також гідрофобних та іонних зв'язків. Міцність комплексу "гемін-апобелок" залежить від температури середовища, рН і т. д. [9]. Гемін – досить гідрофобна молекула, що під дією неводних розчинників або детергентів легко відокремлюється від білка [2]. Апофермент, що утворюється, значно менш стабільний, ніж вільний, і швидко денатурує, внаслідок чого відбувається зниження ферментативної активності.

Тому становило інтерес вивчити вплив ковалентної іммобілізації ПОХ на збереження її ферментативної активності в середовищі органічних розчинників (етанол, метанол, ацетон).

Як свідчать дані, наведені на рисунку 3, іммобілізована ПОХ зберігала 62, 57, і 38 % початкової активності в середовищі метанолу, етанолу та ацетону відповідно, а вільна ПОХ – 7, 5 і 2 % відповідно.

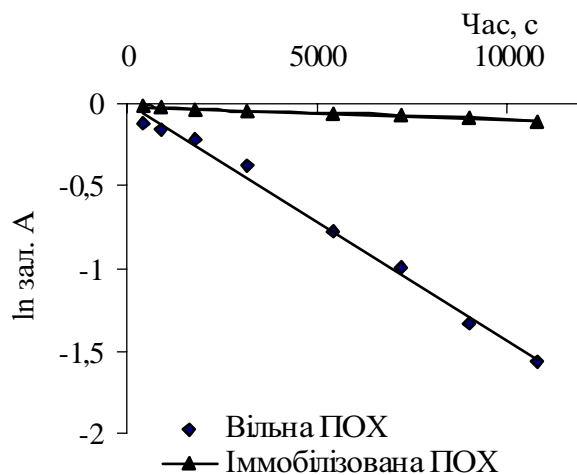


Рис. 2. Термоінактивація вільної та іммобілізованої ПОХ.

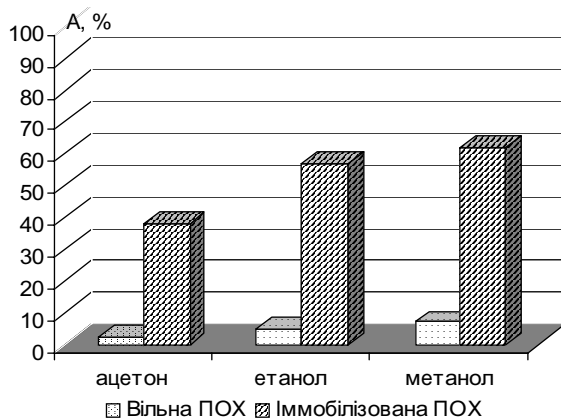


Рис. 3. Збереження активності препаратів ПОХ у середовищі органічних розчинників.

Вивчення зберігання ковалентноімобілізованої на гідратцелюлозній мембрані ПОХ (4 °С) показало кількісне збереження активності протягом 6 міс., тоді як вільна ПОХ через 1 міс. втрачала до 62 % вихідної активності при зберіганні в Na-фосфатному буферному розчині (рН-7,0).

Оскільки в літературі недостатньо відомостей про багаторазове використання іммобілі-

зованих форм пероксидази хрому, становило інтерес вивчити окиснення фенольних сполук (фенол, п-крезол, п-хлорфенол) за допомогою ПОХ, іммобілізованої на гідратцелюлозній мембрані.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 2, препарат іммобілізованої ПОХ каталізував окиснення фенолу, п-крезолу, п-хлорфенолу (25-200 ммоль/дм³) в 1,4-6,7 раза ефективніше порівняно з вільним ферментом.

При вивченні пероксидазного окиснення досліджуваних фенолів в усіх випадках відзначали утворення полімерних продуктів темно-коричневого кольору (поліоксифеніленів), які адсорбувалися на поверхні гідратцелюлозної мембрани [7].

Слід зазначити, що кратність використання іммобілізованої ПОХ у реакції окиснення фенолу становила 22 рази.

ВИСНОВОК. Було отримано високоактивний, стабільний, багаторазового використання іммобілізований препарат пероксидази, що зберігав високу каталітичну активність як у водних, так і органічних середовищах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Григорьева Д.Л., Веселова И.А., Шеховцева Т.И. Определение ртути (II) с использованием пероксидазы, ковалентно иммобилизованной на модифицированных силикагелях // Вестник Московского университета. Сер. 2: Химия. – 2003. – **44**, № 3. – С. 178-182.
2. Давыдова Г.Ф., Ермаков О.А., Панасенко А.И. и др. Лекарственные препараты из растительного сырья. Peroxidaza // Химия растительного сырья. – 1998. – **2**, № 1. – С. 15-18.
3. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
4. Михлин Д.М. Биологическое окисление. – М.: Изд-во Академии наук СССР, 1956. – 442 с.
5. Туркова Я. Аффинная хроматография. – М.: Мир, 1980. – 571 с.
6. Akhzar S., Khan A., Husain Q. Simultaneous purification and immobilization of bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidases on bioaffinity support // J. of Chemical Technology and Biotechnology. – 2005. – **80**, № 2. – P. 198-205.
7. Davidenko T.I., Oseychuk O.V., Sevastyanov O.V., Romanovskaya I.I. Peroxidase oxidation of phenols // Appl. Biochem. and Microb. – 2004. – **40**, № 6. – P. 542-546.
8. Huang T.L., Han Y.W., Callihan C.D. Application of the Lowry method for determination of cell concentration in fermentation of waste celluloses // Biotechnology letters. – 1971. – **49**, № 6. – P. 574-576.
9. Kulys J., Vidziunaite R., Schneider P. Properties of peroxidase // Enzyme Microb. Technol. – 2003. – **22**, № 3. – P. 455-463.
10. Li B., Takahashi H. New immobilization method for enzyme stabilization involving a mesoporous material and an organic / inorganic hybrid gel // Biotechnology Letters. – 2000. – **22**, № 24. – P. 1953-1958.
11. Singh A., Billinsley K.A., Ward O.P. Transformation of polychlorinated biphenyls with oxidative enzymes // Bioprocess Engineering. – 2000. – **23**, № 3. – P. 421-425.
12. Wagner M., Nicell J.A. Detoxification of phenolic solutions with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide // Water Research. – 2002. – **36**. – P. 4041-4052.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА ГИДРАТЦЕЛЛЮЛОЗНОЙ МЕМБРАНЕ ПРЕПАРАТА ПЕРОКСИДАЗЫ ХРЕНА

И.И. Романовская, О.В. Осейчук
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. А.В. БОГАТСКОГО НАН УКРАИНЫ

Резюме

Методом ковалентной иммобилизации пероксидазы хрена на гидратцеллюлозной мембране "Диацелл" был получен активный гетерогенный катализатор, сохраняющий 88 % пероксидазной активности в широком диапазоне pH (3,0-12,0) и температур (15-70 °C), многократного использования, стабильный при хранении (6 месяцев), способный катализировать реакции окисления фенольных соединений как в водных растворах, так и в среде полярных органических растворителей (метанол, этанол, ацетон). Полученный иммобилизованный препарат с высокой степенью биоконверсии (70-100 %) трансформирует фенол, *n*-крезол, *n*-хлорфенол.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **иммобилизация, пероксидаза хрена, гидратцеллюлозная мембрана, биокатализатор.**

PHYSICO-CHEMICAL STUDY OF HORSERADISH PEROXIDASE PREPARATION, IMMOBILIZED ON HYDROCELLULOSE MEMBRANE

I.I. Romanovska, O.V. Osyichuk
PHYSICO-CHEMICAL INSTITUTE BY O.V. BOHATSKY OF NAS OF UKRAINE

Summary

Using the horseradish peroxidase covalent immobilization method on the hydrocellulose membrane "Diacell" was obtained an active heterogenous catalyst 88 % of peroxidase activity in wide pH (3,0-12,0) and temperature (15-70 °C) range, with repeated usage, stable at storage (6 months) and able to catalyse the oxidative reaction of phenolic compounds both in aqueous and polar organic solvents (methanol, ethanol, acetone) media. The immobilized preparation obtained is able to transform the phenol, *n*-cresol, *n*-chlorophenol with a high degree of bioconversion (70-100 %).

KEY WORDS: **immobilization, horseradish peroxidase, hydrocellulose membrane, biocatalyst.**

Адреса для листування: I.I. Романовська, Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся
до нашої сторінки в Інтернеті:
www.tdmu.edu.te.ua

КОРЕКЦІЯ ПЕЧІНКОВО-НИРКОВИХ ПОРУШЕНЬ, ВИКЛИКАНИХ ТОКСИЧНИМИ УРАЖЕННЯМИ ХІМІЧНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Т.Б. Корильчук

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У дослідіах на білих щурах було експериментально доведено ефективність використання полісорбу та ехінацеї при печінково-нирковому ураженні хімічної етіології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: печінково-ниркове ураження, полісорб, ехінацея.

ВСТУП. Проблему печінково-ниркових взаємозв'язків активно вивчають понад сто років, і на даний час вона не втратила своєї актуальності. Навпаки, через суттєві зміни у структурі захворювань печінки і нирок до неї з'явився додатковий інтерес [10]. Проблема пошуку препаратів для лікування печінково-ниркового ураження хімічної етіології залишається надзвичайно актуальною. Розробка ефективних і доступних способів видалення з організму ксенобіотиків або ендогенних токсичних сполук є одним із перспективних шляхів розв'язання проблеми терапії токсичного ураження печінки і нирок. До таких способів належить перш за все ентеросорбція, яка полягає в пероральному прийманні речовин, що мають абсорбуючі властивості [1, 2]. Серед різноманітних препаратів для сорбційної терапії в медичній практиці найширше використовують вуглецеві, кремнієві та полімерні сорбенти. Із кремнієвих сорбентів найбільш відомий полісорб (аеросил-300). Полісорб має високу хімічну чистоту (99,8 %) і гідрофільність, проявляє високий ступінь осмотичної дії та насиченості й значну адсорбційну активність [3].

В останні роки все більшу увагу дослідників привертають препарати ехінацеї [6]. Наявність у різних частинах рослини широкого спектра БАР зумовлює прояви різнобічних фармакологічних властивостей препаратів цієї рослини. Світову славу ехінацея здобула як імуномодулятор та засіб, що проявляє протимікробну та протизапальну, антиоксидантну та протиалергічну, радіопротекторну дії [4, 7, 8]. Багато дослідників у наукових працях впроваджує препарати ехінацеї, які сприяють адаптації

систем організму до екстремальних умов навколишнього середовища [5, 9]. На світовому ринку є значна кількість препаратів ехінацеї для перорального застосування: "Ехінацея-ратіофарм", "Есберитокс", "Ехінацея стада", "Ехінагард", "Ехінапекс", "Дореіnum", "Ехінофіт", "Ехан", "Епіфіт" тощо [6].

Метою роботи було експериментально вивчити доцільність застосування полісорбу та ехінацеї при печінково-нирковому ураженні хімічної етіології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення поставленої мети було проведено досліди на 284 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,14-0,18 кг. Усіх тварин, яких відбирали для чергової серії дослідів, піддавали детальному обстеженню. Звертали увагу на їх поведінку, стан шкіри, волоссяного покриву і слизових оболонок. Контрольних та піддослідних щурів утримували в одному і тому ж приміщенні на звичайному раціоні віварію з температурою повітря 22-25 °С. Вибір цього виду піддослідних тварин зумовлений тим, що в них характер ураження печінки й нирок хімічними агентами та, особливо, морфологічні зміни близькі до тих, що виникають у людей.

Комбіноване ураження тетрахлорметаном і етиленгліколем моделювали шляхом уведення тваринам CCl_4 підшкірно в дозі 4 мл/кг у вигляді 50 % розчину на рослинній олії щоденно протягом 4 діб і з тієї ж самої доби 1 % розчину етиленгліколю з питною водою протягом 7 діб. Дослідження проводили на 8-му добу.

Як засоби корекції токсичних уражень CCl_4 і етиленгліколем використовували полісорб у дозі 500 мг/кг внутрішньошлунково зондом з

© Т.Б. Корильчук, 2006.

4-ї по 7-му добу у вигляді водної суспензії та імуномодулюючий засіб – настойку кореня ехінацеї пурпурової (ESBERITOX) (Schaper & Brummer, Німеччина) у дозі 20 мл/кг маси тварини інтрагастрально з 3-ї по 7-му добу досліду. Гострі досліди проводили через 24 год після останнього введення коригувального агента. Матеріалом для дослідження були плазма крові, цільна кров, гомогенати печінки і нирок, сеча. Активність аланінамінотрансферази (АлАТ) в сироватці крові визначали за методом Reitman і Frankel. Активність процесів вільнорадикального окиснення досліджували у тканині печінки й нирок. У гомогенатах печінки і нирок визначали активність супероксиддисмутази (СОД), вміст сульфгідрильних і дисульфідних груп, вітаміну Е. Вивчали показники імунного статусу. Так, концентрацію імуноглобулінів класів А, М, G визначали біохімічним методом згідно з Badin, Ronsellet у модифікації Є.І. Ларського і М.П. Кравченко. Циркуючі імунні комплекси (ЦІК) визначали за методикою Ю.А. Гриневича і А.Н. Алферової. Стан ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом МСМ, які визначали при довжині хвилі 254 (МСМ₁) і 280 нм (МСМ₂), за методом Н.І. Габріеляна і співавторів. Вивчали вміст креатиніну і сечовини в сироватці крові й сечі. Усі цифрові результати підлягали статистичній обробці загальноприйнятими методами з використанням середнього арифметичного (М), стандартної похибки середнього арифметичного, t-критерію Стьюдента, рівня значущості p. Зміни вважали достовірними при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналізуючи отримані нами результати, можна констатувати, що полісорб має позитивний вплив на стан плазматичних мембран гепатоцитів. На це вказує зниження активності АлАТ (0,59±0,05) ммоль/л при застосуванні полісорбу та (0,80±0,06) ммоль/л при ураженні ксенобіотиками (p<0,05). Значних змін зазнавала активність переокиснення ліпідів. Так, вміст малонового діальдегіду (МДА) у крові за введення полісорбу зменшувався на 59 % відносно уражених тварин (p<0,05).

Активність процесів переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці та нирках також значно змінювалася. Так, вміст МДА у печінці знижувався в 1,4 раза під впливом корекційних схем полісорбу, рівень дієнових кон'югат (ДК) – теж в 1,4 раза. У нирках зміни показників ПОЛ були аналогічними. Введення полісорбу приводило до зниження вмісту МДА до (0,023±0,001) мкмоль/кг під впливом полісорбу відносно ураження (0,081±0,003) мкмоль/кг та

(0,015±0,001) мкмоль/кг при контролі. Показник ДК становив (0,026±0,001) ммоль/кг порівняно з ураженням (0,031±0,001) ммоль/кг (контроль – (0,015±0,001) ммоль/кг). Про вплив полісорбу на показники антиоксидантного захисту тварин, уражених ксенобіотиками, свідчать отримані нами результати дослідження, представлені у таблиці 1. Так, рівень вільних сульфгідрильних груп у печінці під впливом ентеросорбенту дещо знизився, хоча зміни були недостовірними. Вміст дисульфідних груп вірогідно зменшувався в 1,45 раза. Концентрація вітаміну Е у печінці також зазнавала достовірних змін. А активність СОД вірогідно зростала під впливом коригувального середника і була на 35,9 % вищою, ніж при ураженні. Показники антиоксидантного захисту в нирках мали позитивну динаміку під впливом полісорбу.

Застосування полісорбу позитивно впливало на показники імунного статусу організму. На це вказує зниження вмісту ЦІК у крові у 2,2 раза. Після введення полісорбу спостерігалась тенденція до зменшення кількості імуноглобулінів. Так, показники імуноглобуліну А під впливом полісорбу знизилися від (1,20±0,10) г/л при ураженні до (1,10±0,05) г/л при застосуванні сорбенту. Показники імуноглобуліну G становили (7,10±0,05) г/л при ураженні та (6,81±0,07) г/л при використанні полісорбу. Імуноглобулін М при токсичному ураженні становив (1,71±0,05) г/л та змінювався під впливом полісорбу до (1,01±0,05) г/л. Достовірно знижувався вміст імуноглобулінів G та М. Застосування полісорбу мало виражений позитивний вплив на показники ендогенної інтоксикації. Так, показники МСМ₁ при токсичному ураженні становили (470,0±44,1) ум. од., при застосуванні полісорбу знижувалися до (342,0±7,2) ум. од. Показники МСМ₂ зменшувалися на 74,6 % під впливом полісорбу. Так, при ураженні вони становили (725,0±14,5) ум. од., а при корекції полісорбом – (184,0±12,6) ум. од., зміни були достовірними. Позитивна динаміка спостерігалась і при дослідженні креатиніну та сечовини. Так, після застосування полісорбу концентрація креатиніну в крові зменшилася на 36,3 %, сечовини – на 16,5 %, а в сечі зросла, відповідно, на 23,2 та 29,4 % (зміни вірогідні порівняно з ураженими тваринами).

Застосування ехінацеї мало позитивний вплив на стан плазматичних мембран гепатоцитів, на що вказує тенденція до зниження вмісту АлАТ (на 27,5 % порівняно з нелікованими щурами). При ураженні він становив (0,80±0,06) ммоль/л, при корекції ехінацеєю – (0,58±0,08) ммоль/л. Подібна тенденція спостерігалась і відносно одного з найбільш пока-

Таблиця 1 – Вплив полісорбу на стан антиоксидантної системи у печінці та нирках білих щурів при експериментальному печінково-нирковому ураженні ($M \pm m$)

Умови досліджу	Показники			
	SH, ммоль/кг	-S-S, ммоль/кг	СОД, ум. од./кг	Вітамін Е, мкмоль/кг
Печінка				
Контроль	3,73±0,10	1,64±0,17	26,06±0,3	87,70±0,87
CCl ₄ +етиленгліколь	2,69±0,07 $p_1 < 0,05$	3,36±0,17 $p_1 < 0,05$	11,50±0,28 $p_1 < 0,05$	55,06±0,70 $p_1 < 0,05$
CCl ₄ +етиленгліколь+ полісорб	2,78±0,04 $p_2 > 0,05$	2,31±0,08 $p_2 < 0,05$	17,93±0,47 $p_2 < 0,05$	63,94±0,49 $p_2 < 0,05$
Нирки				
Контроль	4,52±0,21	0,87±0,12	17,80±0,20	84,59±1,20
CCl ₄ +етиленгліколь	1,46±0,20 $p_1 < 0,05$	2,69±0,14 $p_1 < 0,05$	9,68±0,14 $p_1 < 0,05$	52,35±0,87 $p_1 < 0,05$
CCl ₄ +етиленгліколь+ полісорб	3,60±0,07 $p_2 < 0,05$	1,1±0,07 $p_2 < 0,05$	15,50±0,16 $p_2 < 0,05$	71,65±0,26 $p_2 < 0,05$

зових параметрів активності ліпідної пероксидації – МДА, вміст якого зменшувався під впливом препарату ехінацеї на 17,3 % відносно уражених тварин ($p < 0,05$).

Дослідження процесів перекисного окиснення ліпідів у печінці та нирках також засвідчило наявність у ехінацеї певної антиокиснювальної активності. Так, вміст МДА у печінці знизився на 38,5 %, а ДК – на 21,1 %, що достовірно менше, ніж в уражених тварин, котрим ехінацею не вводили. У нирках зміни показників ПОЛ були також вираженими. Введення ехінацеї приводило до зниження вмісту МДА на 32,1 %, а ДК – на 22,6 %.

Отримані нами результати вказують на позитивний вплив ехінацеї на показники антиоксидантного захисту уражених тварин. Так, рівень вільних сульфгідрильних груп у печінці зріс в 1,45 раза, та не досягав групи контролю всього на 4,4 %. Показники дисульфідних груп зменшилися в 1,3 раза, проте не досягали групи контролю на 36,9 %. Нами відмічено також достовірно зростання вмісту СОД, показник якої був на 33 % вищим, ніж в уражених тварин. Концентрація вітаміну Е у печінці також мала тенденцію до підвищення на 22,4 %. Показники антиоксидантного захисту в нирках теж зазнавали позитивної динаміки під впливом ехінацеї. Рівень SH-груп зростав у гомогенаті нирок на 51,3 %, а рівень S-S-груп знижувався на 20,1 % порівняно з нелікованими щурами. Активність СОД у нирках підвищувалась майже до рівня здорових тварин, а вміст вітаміну Е був більшим, ніж в уражених щурів, на 25,4 %, що достовірно вище, ніж у тварин, яким корекцію не проводили. Позитивні зміни від застосування ехінацеї зафіксовані нами і сто-

совно показників, які характеризують імунний статус організму. На це вказує зменшення вмісту ЦІК у крові в 1,4 раза. Після введення середника спостерігалось також достовірно зменшення вмісту імуноглобулінів А, G та M (відповідно, на 15,8, 12,7 та 44,4 %). Цей препарат мав певний позитивний вплив і на показники ендогенної інтоксикації. Так, показники МСМ₁ становили (448,0±27,0) ум. од. під дією ехінацеї та (470,0±44,1) ум. од. при ураженні ($p > 0,05$). Показники МСМ₂ знижувалися при застосуванні коригувальних схем з (725,0±14,5) до (248,0±20,1) ум. од. ($p < 0,05$). Достовірні зміни спостерігалися при дослідженні креатиніну та сечовини. Так, після введення ехінацеї концентрація креатиніну в крові зменшилася на 42,5 %, сечовини – на 28,8 %, а в сечі зросла, відповідно, на 23,9 і 26,9 % ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. Результати наших досліджень показали, що введення полісорбу тваринам з печінково-нирковими ураженнями хімічної етіології приводило до зниження активності процесів ліпопереокиснення та покращання стану антиоксидантного захисту. Введення ехінацеї було менш ефективним стосовно показників переокиснення ліпідів та антиоксидантної системи, цей препарат мав менш виражений ефект щодо показників ендогенної інтоксикації, проте вказував на виражені позитивні зміни даних імунного статусу. Плануються подальше перспективне вивчення поєданого застосування ехінацеї та полісорбу і підбір інших препаратів з метою удосконалення методів корекції печінково-ниркових уражень внаслідок дії ксенобіотиків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Білик Л.С. Эффективность энтеросорбции полисорбом при тяжелой форме поражения печени // *Ліки*. – 1995. – № 1. – С. 78-79.
2. Беляков Н.А., Соломенников А.В., Малахова М.Я. и др. Динамика биохимических показателей крови при проведении энтеросорбции // *Физиология человека*. – 1989. – **15**, №1. – С. 143-147.
3. Земсков В.С., Шор-Чудновский М.Е., Картель Н.Е. О возможном механизме лечебного эффекта энтеросорбции // *Клин. хирургия*. – 1988. – № 3. – С. 61-62.
4. Марушко Ю.В., Марушко Т.В. Застосування ехінацеї, гранул кверцетину та концентрату лактобактерій у лікуванні дітей, хворих на тонзиліт, міокардіодистрофію // *Фітотерапія в Україні*. – 2000. – № 2. – С. 9-11.
5. Нейко Є.М., Шевчук І.М. Клініко-патогенетична ефективність антиоксидантів та дезагрегантів при хронічному гепатиті. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 212 с.
6. Самородов В.П., Поспелов С.В. Эхинацея на рубеже XXI века. Проблемы, тенденции, перспективы // *Вісн. Полтавського державного сільськогосподарського інституту*. – 2000. – № 3. – С. 90-97.
7. Чекман І.С. Клініко-фармакологічні властивості ехінацеї // *Ліки України*. – 2001. – № 3. – С. 25-26.
8. Яковлева І.Ю., Войтенко Г.М., Купраш Л.П. та ін. Вивчення протизапальних властивостей препаратів ехінацеї пурпурової, горобини звичайної, дуба звичайного // *Фітотерапія в Україні*. – 2000. – № 1. – С. 19-20.
9. Bendich A., Phillips M., Tengerdy R., Pryor W. Antioxidant nutrients and immune functions // *Free Radic. Biol. and Med.* – 2003. – **11**, № 6. – P. 615.
10. Brent T.A., Rumack B.H. Role of free radicals in toxic hepatic injury. 1. Free radical biochemistry // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 2003. – **31**, № 1. – P. 139-171.

КОРРЕКЦИЯ ПЕЧЕНОЧНО-ПОЧЕЧНЫХ НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ТОКСИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

Т.Б. Корильчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В опытах на белых крысах было экспериментально обосновано эффективность использования полисорба и эхинацеи при печеночно-почечном поражении химической этиологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: печеночно-почечное поражение, полисорб, эхинацея.

CORRECTION OF HEPATO-RENAL DISORDERS CAUSED BY TOXIC INJURIES OF CHEMICAL ETIOLOGY

T.B. Korylchuk

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The efficacy of Polysorb and Echinacea using at hepato-renal disorders of chemical etiology was experimentally substantiated on white rats.

KEY WORDS: hepato-renal disorders, Polysorb, Echinacea.

Адреса для листування: Т.Б. Корильчук, вул.Бойківська, 4а, Тернопіль, 46020, Україна.

СТАН ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ АМІЗОНОМ У ПОЄДНАННІ З ЛІПОФЛАВОНОМ

Н.І. Кукурудз, В.І. Герелюк

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На основі дослідження показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту організму в 98 хворих на генералізований пародонтит виявлено активацію процесів вільнорадикального окиснення паралельно зі зниженням рівня активності антиоксидантної системи захисту організму. Застосування амізону та ліпофлавоу в комплексній терапії генералізованого пародонтиту забезпечує позитивний лікувальний ефект протягом 6 місяців спостереження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: генералізований пародонтит, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантний захист, амізон, ліпофлавоу.

ВСТУП. Згідно із сучасним науковим уявленням про патогенез більшості захворювань, у їх розвитку надають важливого значення активації процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), дезадаптації антиоксидантних систем (АОС) організму і формуванню "окисного стресу" [3, 15]. Порушення стаціонарного перебігу процесів ВРО спричиняється впливом різних екзо- та ендогенних факторів, котрі призводять до надмірної генерації активних форм кисню (АФК) і метаболітів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які прямо або опосередковано сприяють поглибленню патологічного процесу [4, 6, 15]. Нормальний перебіг процесів ВРО регулює ендогенна антиоксидантна система (АОС) [1, 14]. Антиоксиданти попереджують руйнування мембранних ферментативних компонентів, деструкцію біологічних мембран, переривають ланцюгову реакцію ПОЛ. При посиленні процесів ПОЛ підсилюється використання антиоксидантів, що спричиняє зменшення їх кількості з паралельним зростанням вмісту кінцевих продуктів ПОЛ (ТБК-активних продуктів) [3, 13].

Як свідчать дані сучасних наукових досліджень, однією з головних ланок патогенезу генералізованого пародонтиту (ГП) є активація процесів ВРО та зменшення активності АОС [5]. Для оцінки стану процесів ПОЛ багато авторів вивчають рівень продуктів, що реагують

з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів) в крові, тканинах пародонта, слині, зміни яких залежать переважно від ступеня тяжкості захворювання [10, 11, 12].

Важливим компонентом АОС є церулоплазмін (ЦП), що відіграє роль універсального позаклітинного інгібітора вільних радикалів, перехоплювача O_2 у вогнищах запалення, де фагоцитуючі клітини виділяють масу АФК, тому має виражену протизапальну дію, СОД-подібну дію, каталітично активний відносно великої кількості продуктів ПОЛ. Зростання кількості та активності ЦП у гостру фазу запалення розцінюється як компенсаторна реакція організму [4]. Виражену антиоксидантну активність проявляє трансферин (ТФ), який, зв'язуючи іони заліза, оберігає біологічні субстрати від їх токсичної дії та одночасно відіграє важливу роль у неспецифічному захисті організму. Узгоджену дію антиоксидантів ЦП і ТФ виділено в окрему прооксидантно-антиоксидантну систему крові, яка бере участь у підтриманні окиснювального гомеостазу. Оскільки при ГП відбувається порушення процесів ВРО, що проявляється активацією ПОЛ та послабленням АОС організму, перспективними є вивчення та застосування лікарських засобів з антиоксидантними властивостями, які б сприяли покращанню метаболічних процесів, зменшенню запального процесу в тканинах пародонта. У пошуку можливих шляхів лікування ГП нас

© Н.І. Кукурудз, В.І. Герелюк, 2006.

зацікавили вітчизняні препарати з широким спектром фармакологічної дії, в тому числі з антиоксидантними властивостями, – амізон та ліпофлавіон (ліпосомальна форма кверцетину).

Метою нашого дослідження стало вивчення впливу амізону та ліпофлавіону на стан процесів ПОЛ, АОС організму у хворих на ГП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення мети клінічні спостереження та дослідження біохімічних показників проведено у 17 здорових осіб та 98 хворих на ГП початкового-I та II-III ступенів розвитку. Діагноз встановлювали за даними об'єктивного обстеження, пародонтальних індексів і проб, рентгенограм. Використовували класифікацію захворювань тканин пародонта М.Ф. Данилевського (1996).

Стан процесів ПОЛ визначали за показником вмісту кінцевого продукту ПОЛ – ТБК-активних продуктів – тест із 2-тіобарбітуровою кислотою (за методикою Е.І. Темірбулатова та Е.І. Селезньова) [9]. Антиоксидантний захист аналізували за активністю церулоплазміну (ЦП) сироватки крові та насиченістю залізом трансферину (ТФ), які визначали за методом Г.О. Бабенка [2].

Залежно від способу лікування хворих на ГП було поділено на дві групи: основну (початковий-I ступінь розвитку – 17 осіб, II-III – 19 осіб, II-III (загострений перебіг) – 15 осіб) і контрольну (початковий-I ступінь розвитку – 15 осіб, II-III ступінь розвитку – 17 осіб, II-III ступінь розвитку (загострений перебіг) – 15 осіб). Усім пацієнтам проводили професійну гігієну порожнини рота, ретельно знімали зубні відкладення, усували інші пошкоджувальні фактори (лікування апроксимального карієсу, заміна нераціональних пломб і т. д.). У комплексне лікування всіх хворих на хронічний ГП (основна група) додатково включали місцеві аплікації композиції гелеподібної консистенції з амізону, етонію і "Силларду-П", яку виготовляли перед застосуванням, вводили в пародонтальні кишені, аплікували на ясна і покривали затвердіваючою захисною пародонтальною пов'язкою. Курс лікування складав 6-8 процедур з інтервалом 1-2 дні. Пацієнти з хронічним ГП II-III ступенів розвитку додатково отримували амізон у таблетках всередину (по 0,25 г 3 рази на добу впродовж 14 днів) для загальної дії. У разі II-III ступенів розвитку (загострений перебіг захворювання) хворим додатково призначали амізон всередину (по 0,25 г 3 рази на добу протягом 14 днів) та місцево в пародонтальні кишені вводили 1-1,5 мл ліпосомальної емульсії ліпофлавіону і через 20-30 хв. вносили запропоновану лікувальну композицію "Амізон-етоній-

"Силлард-П" без використання затвердіваючої пародонтальної пов'язки. Пацієнти контрольної групи отримували традиційну терапію. Обстеження проводили до лікування, по закінченні курсу лікування – на 14-ту добу і через 1 та 6 місяців після лікування. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою персонального комп'ютера і програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Excel. Використовували t-критерій Стьюдента, реалізований у пакеті "STATISTICA-6".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження свідчать про те, що у хворих на ГП збільшується інтенсивність процесів ПОЛ (табл. 1). Підтвердженням цього є вірогідне зростання середнього рівня ТБК-активних продуктів у сироватці крові хворих на ГП початкового-I ступеня розвитку, порівняно зі здоровими, на 10,9 % ($p < 0,05$). Ступінь підвищення рівня досліджуваного показника залежить від тяжкості патологічного процесу. Так, у хворих на ГП II-III ступенів розвитку та при загостреному перебізі захворювання (див. табл. 1) вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові зростає, відповідно, на 33,7 та 40,9 % ($p < 0,05$) порівняно з даними у здорових осіб. Активність ПОЛ у хворих на ГП призводить до змін в АОС, зокрема до зростання активності ЦП у сироватці крові, яка найяскравіше збільшена при загостреному перебізі ГП, дещо менша при хронічному перебізі ГП II-III ступенів розвитку і ще менша при ГП початкового-I ступеня розвитку і була вірогідно вищою, порівняно з нормальними показниками, на 62,26, 50,2 та 20,95 % відповідно ($p < 0,05$). Разом із тим, насиченість ТФ залізом у хворих на ГП виявилася достовірно нижчою за середній рівень у групі здорових осіб при початковому-I, II-III ступенях розвитку та загостреному перебізі, відповідно, на 12, 21,1 та 23,85 % ($p < 0,05$). Нами також проведено вивчення показника співвідношення ЦП/ТФ, який дає найчіткіше уявлення про стан АОС окиснювального гомеостазу, спрямованість його зсувів при патологічних процесах. Встановлено, що цей показник збільшується із зростанням тяжкості розвитку ГП. У хворих на ГП початкового-I, II-III ступенів розвитку та при загостреній формі перебігу він вірогідно перевищує середні величини у здорових, відповідно, в 1,38, 1,90 та 2,06 рази ($p < 0,05$).

Виявлені нами порушення ліпопероксидазних реакцій при ГП узгоджуються з даними інших авторів, отриманими як в експерименті, так і в умовах клініки, ускладнюють перебіг хвороби і вимагають відповідної медикамен-

тозної корекції лікування та профілактики рецидиву захворювання [7, 12, 13].

Застосування традиційної терапії у хворих контрольної групи початкового-I ступеня розвитку сприяло позитивній динаміці змін з боку досліджуваних показників (див. табл. 1), які достовірно відрізнялися від їх значень до початку лікування. Однак у даної групи хворих зберігалася вірогідна різниця між рівнями їх величин у здорових осіб у всі терміни спостереження і тільки рівень ТБК-активних продуктів через місяць після лікування наближався до значень у здорових. Застосування на тлі традиційної терапії композиції "Амізон-етоній-Силлард-П" забезпечило нормалізацію процесів ПОЛ, що проявилось зниженням вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові через два тижні лікування до рівня у здорових з подальшою тенденцією до зменшення через 1 і 6 місяців спостереження. Оцінка змін у

співвідношеннях системи ПОЛ та АОС також показала наявність позитивних зрушень з боку активності ЦП, насичення ТФ крові залізом та їх співвідношення ЦП/ТФ, значення яких перебували на рівні нормальних величин і тільки через 6 місяців після лікування спостерігалось незначне відхилення від норми. Необхідно відзначити, що позитивна динаміка досліджуваних показників сироватки крові у пацієнтів основної групи була вірогідною не тільки з вихідними даними до лікування, а й з їх значеннями у хворих контрольної групи, що вказує на виражений антиоксидантний ефект застосованої схеми лікування.

На основі проведеної оцінки лікування хворих контрольної групи на ГП II-III ступенів розвитку виявлено позитивну динаміку з боку всіх досліджуваних показників, які вірогідно відрізнялися від їх значень до лікування, але, разом із тим, збереглася достовірна різниця

Таблиця 1 – Показники про- та антиоксидантних систем організму у хворих на генералізований пародонтит під впливом лікування (M±m)

Показники	Групи обстежених								
	Здорові	Контрольна група				Основна група			
		До лікування	Після лікування			До лікування	Після лікування		
		2 тиж.	1 міс.	6 міс.		2 тиж.	1 міс.	6 міс.	
Початковий-I ступінь розвитку									
	n=17	n=15	n=15	n=15	n=13	n=17	n=17	n=16	n=15
ТБК-АП, нмоль/мл	3,62±0,10	4,07±0,13 ¹	3,80±0,13 ^{1,2}	3,71±0,13 ²	3,81±0,14 ^{1,2}	4,07±0,13 ¹	3,57±0,11 ^{2,3}	3,46±0,14 ^{1,2,3}	3,49±0,13 ^{1,2,3}
ЦП, ум. од.	30,16±1,86	36,48±1,87 ¹	31,80±2,43 ^{1,2}	32,98±2,13 ^{1,2}	34,43±2,13 ^{1,2}	36,35±1,90 ¹	30,26±1,81 ^{2,3}	30,42±1,43 ^{2,3}	31,68±1,56 ^{1,2,3}
ТФ, ум. од.	0,218±0,007	0,192±0,009 ¹	0,208±0,009 ^{1,2}	0,205±0,006 ^{1,2}	0,192±0,006 ¹	0,192±0,006 ¹	0,211±0,009 ^{1,2}	0,215±0,006 ^{2,3}	0,206±0,008 ^{1,2,3}
ЦП/ТФ, ум. од.	138,43±10,89	191,00±11,78 ¹	154,39±13,03 ^{1,2}	160,56±11,00 ^{1,2}	179,89±13,43 ^{1,2}	189,01±10,26 ¹	143,79±10,89 ²	141,93±8,01 ^{2,3}	152,6±10,55 ^{1,2,3}
II-III ступені розвитку (хронічний перебіг)									
	n=17	n=17	n=17	n=17	n=14	n=19	n=19	n=19	n=16
ТБК-АП, нмоль/мл	3,62±0,10	4,84±0,12 ¹	4,18±0,14 ^{1,2}	4,03±0,13 ^{1,2}	4,09±0,15 ^{1,2}	4,85±0,13 ¹	3,64±0,13 ^{2,3}	3,52±0,11 ^{1,2,3}	3,70±0,14 ^{2,3}
ЦП, ум. од.	30,16±1,86	45,30±1,89 ¹	36,98±2,19 ^{1,2}	38,42±2,09 ^{1,2}	41,49±1,94 ^{1,2}	45,15±1,88 ¹	30,74±1,63 ^{2,3}	30,87±1,59 ^{2,3}	31,70±1,95 ^{1,2,3}
ТФ, ум. од.	0,218±0,007	0,172±0,006 ¹	0,194±0,007 ^{1,2}	0,188±0,006 ^{1,2}	0,179±0,008 ^{1,2}	0,171±0,005 ¹	0,219±0,006 ^{2,3}	0,215±0,006 ^{2,3}	0,211±0,007 ^{1,2,3}
ЦП/ТФ, ум. од.	138,43±10,89	263,50±13,67 ¹	190,68±12,81 ^{1,2}	207,62±12,86 ^{1,2}	231,49±16,26 ^{1,2}	261,30±14,14 ¹	141,28±8,50 ^{2,3}	142,62±7,25 ^{2,3}	149,70±9,36 ^{1,2,3}
II-III ступені розвитку (загострений перебіг)									
	n=17	n=15	n=15	n=13		n=15	n=15	n=14	
ТБК-АП, нмоль/мл	3,62±0,10	5,10±0,16 ¹	4,20±0,17 ^{1,2}	4,00±0,14 ^{1,2}		5,08±0,16 ¹	3,69±0,14 ^{2,3}	3,56±0,13 ^{2,3}	
ЦП, ум. од.	30,16±1,86	47,20±1,52 ¹	40,87±1,74 ^{1,2}	37,59±1,60 ^{1,2}		47,44±1,48 ¹	30,07±1,65 ^{2,3}	30,36±1,26 ^{2,3}	
ТФ, ум. од.	0,218±0,007	0,166±0,006 ¹	0,189±0,007 ^{1,2}	0,186±0,005 ^{1,2}		0,167±0,006 ¹	0,220±0,005 ^{2,3}	0,217±0,005 ^{2,3}	
ЦП/ТФ, ум. од.	138,43±10,89	285,01±12,95 ¹	216,18±11,27 ^{1,2}	201,71±8,37 ^{1,2}		286,26±13,28 ¹	136,89±7,84 ^{2,3}	139,89±6,29 ^{2,3}	

Примітка. ¹ p<0,05 – до величини у здорових; ² p<0,05 – до вихідних даних; ³ p<0,05 – між основною і контрольною групами; ТБК-АП – ТБК-активний продукт.

при порівнюванні їх значень із значеннями здорових.

Застосування додатково амізону всередину хворими основної групи на ГП II-III ступенів розвитку на тлі комплексної терапії забезпечило нормалізацію рівня ТБК-активних продуктів у сироватці крові в усі терміни спостереження. У даної групи хворих виявлено також позитивні зміни з боку показників АОС, які проявлялися нормалізацією активності ЦП, насичення ТФ залізом та співвідношення ЦП/ТФ через 2 тижні та 1 місяць з незначною тенденцією до відхилення від норми через 6 місяців після лікування. Поряд із цим, виявлено достовірну різницю в позитивній динаміці всіх досліджуваних показників порівняно з їх значеннями у хворих контрольної групи (див. табл. 1).

На особливу увагу заслуговують хворі на ГП II-III ступенів розвитку (загострений перебіг), у яких до лікування виявлено найбільші зміни досліджуваних показників порівняно з попередніми групами пацієнтів. У зв'язку з цим, у схему комплексної терапії, застосованої в основній групі хворих, для підсилення фармакодинамічних ефектів амізону додатково включено ліпофлавіон (ліпосомальну форму кверцетину). Терапевтичний ефект препарату зумовлений комплексною дією його компонентів: блокадою 5-ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти за рахунок кверцетину, а також антигіпоксичною та антиоксидантною діями лецитинових ліпосом [8]. У результаті проведеного лікування досягнуто нормалізації досліджуваних показників як через 2 тижні, так і через 1 місяць після проведеного лікування при наявності вірогідної різниці порівняно з контрольною групою хворих. У цих хворих також виявлено позитивну динаміку з боку досліджуваних показників, але жоден з них не досягав рівня їх значень у здорових (див. табл. 1).

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданти и антигипоксанты в акушерстве (Оксидативный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами). – С.Пб.: Изд-во ДЕАН, 2001. – 400 с.
2. Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. – К.: Здоров'я, 1968. – 137 с.
3. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наукова думка,

Отримані дані свідчать про те, що застосована схема лікування хворих на ГП II-III ступенів розвитку та при загостреному його перебізі забезпечує позитивний антиоксидантний ефект паралельно з нормалізацією клінічних показників, і вказують на доцільність її використання в комплексному лікуванні ГП.

ВИСНОВКИ. 1. Результати, отримані при вивченні показників ВРО в сироватці крові хворих на ГП, вказують на зростання інтенсивності процесів ПОЛ та послаблення АОС організму при поглибленні патологічного процесу в пародонті, що проявляється підвищенням рівня ТБК-активних продуктів, збільшенням активності церулоплазміну паралельно зі зменшенням насичення ТФ крові залізом, зростанням співвідношення ЦП/ТФ.

2. Лікування хворих на ГП традиційною терапією сприяє зниженню активності процесів ПОЛ у сироватці крові, активації показників АОС. Однак зміни досліджуваних параметрів вірогідно відрізняються від їх значень у осіб із здоровим пародонтом.

3. Амізон у комплексній терапії хворих на ГП як місцево в комбінації з етонієм та "Силлардом-П" при початковому-I ступені розвитку, так і додатково всередину при II-III ступенях розвитку поряд з позитивною динамікою клінічних ознак захворювання сприяє нормалізації процесів ПОЛ та АОС, що дозволяє досягти стійкої ремісії захворювання.

4. Комбіноване застосування амізону та ліпофлавіону в комплексній терапії хворих на ГП II-III ступенів розвитку (загострений перебіг) об'єктивно продемонструвало їх виражений антиоксидантний ефект, з яким можна пов'язати нормалізацію клінічних та біохімічних параметрів.

5. Комплексна терапія ГП із застосуванням запропонованих схем лікування засвідчує доцільність їх використання у хворих із запально-дистрофічними захворюваннями пародонта.

1991. – 256 с.

4. Беленічев І.Ф., Губський Ю.І., Левицький Е.Л. та ін. Антиоксидантна система захисту організму // Соврем. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 24-31.

5. Воскресенский О.Н., Ткаченко Е.К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита // Стоматология. – 1991. – № 4. – С. 5-10.

6. Капелько В.И. Активные формы кислорода,

антиоксиданти и профилактика заболеваний сердца // Росс. мед. журн. – 2003. – 11, № 21. – С. 21-27.

7. Катеринок В.Ю., Мельничук Г.М., Рожко М.М., Катеринюк О.І. Вплив комплексного лікування на показники окисно-антиоксидантної системи крові хворих на генералізований пародонтит II ступеня важкості / Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии: Сб. науч. трудов. – Харьков, 2004. – Вып. 8. – С. 18-21.

8. Ковалев В.Б., Ковзан В.В., Кончина Е.Ю. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина //Укр. мед. альманах. – 1999. – 2, № 4. – С. 176-184.

9. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8-10.

10. Машченко И.С. Болезни пародонта. – Днепропетровск: Коло, 2003. – 272 с.

11. Силенко Ю.І. Роль вільнорадикальних, гемо-

коагулюючих та імунних механізмів в патогенезі генералізованого пародонтиту // Проблеми екології та медицини. – 1999. – 3, № 5. – С. 78-84.

12. Чечотіна С.Ю., Дев'яткіна Т.О. Корекція спонтанного пародонтиту альта новою маззю в комбінації з застосуванням альтану досередини // Ліки. – 2003. – № 3-4. – С. 68-72.

13. Ярова С.П., Осипенкова Т.С. Ефективність методу диференційної корекції перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту // Вісник стоматології. – 2001. – № 1. – С. 28-31.

14. Galley H.F., Howdle P.D., Walker B.E., Webster N.R. The effects of intravenous antioxidants in patients with septic shock // Free Radic. Biol. Med. – 1997. – 23. – № 5. – P. 694-774.

15. Lawrence D.A., Colinas R.J., Walsh A.C. Influence of oxygen partial pressure on human and mouse myeloid cell line characteristics // Fundamental and Applied Toxicology. – 1996. – 29, № 2. – P. 287-293.

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ И ИХ КОРРЕКЦИЯ АМИЗОНОМ В СОЧЕТАНИИ С ЛИПОФЛАВОНОМ

Н.И. Кукурудз, В.И. Герелиук

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

На основании исследования показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма у 98 больных с генерализованным пародонтитом обнаружено активацию процессов свободнорадикального окисления параллельно со снижением уровня активности антиоксидантной системы защиты организма. Применение амизона и липофлавона в комплексной терапии генерализованного пародонтита обеспечивает положительный лечебный эффект в течение 6 месяцев наблюдения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: генерализованный пародонтит, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная защита, амизон, липофлавоно.

THE STATE OF PROCESSES OF FREE RADICAL LIPIDS OXIDATION IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS AND THEIR CORRECTION WITH AMIZON IN COMBINATION WITH LIPOFLAVON

N.I. Kukurudz, V.I. Hereliuk

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

While investigating the indices of lipid peroxidation and antioxidant body defense in 98 patients with generalized periodontitis we detected activation of the free radical oxidation processes in the reduction of body defense antioxidant system activity. The use of amizon and lipoflavon in complex treatment of generalized periodontitis ensures positive therapeutic effect during 6 months of observation.

KEY WORDS: generalized periodontitis, free radical oxidation, antioxidant defense, amizon, lipoflavon.

Адреса для листування: Н.І. Кукурудз, вул. М.Грушевського, 7, кв. 4, Івано-Франківськ, 76008, Україна.

ВПЛИВ СИСТЕМИ “L-АРГІНІН/NO” НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНУ ХАРАКТЕРИСТИКУ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

Т.В. Буслик, Н.О. Сибірна

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА

Показано, що введення аміногуанідину (AG) за умов цукрового діабету 1-го типу мало нормалізуючий вплив на функціональний стан еритроциту. Такий висновок базується на експериментальних даних про кількість еритроцитів, концентрацію загального та фетального гемоглобіну, кількість та добову продукцію ретикулоцитів і гемолітичну стійкість еритроцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **цукровий діабет 1-го типу, еритроцити, L-аргінін, аміногуанідин.**

ВСТУП. У розвитку ускладнень за умов цукрового діабету (ЦД) 1-го типу важливу роль відіграють порушення в судинній системі організму, появу яких пов'язують, зокрема, з патологічними змінами в системі еритроциту, що супроводжуються підвищенням глікозилювання білків, а також змінами у структурі мембран клітин [1]. Еритроцити є першою ланкою системи крові, що реагує на метаболічні зміни, оскільки вони не мають складної клітинної організації і не здатні повною мірою підтримувати внутрішньоклітинний гомеостаз.

У наших попередніх дослідженнях показано, що за умов ЦД 1-го типу значно зростає експресія індукцибельної форми NO-синтази (iNOS) [3], яка каталізує утворення NO у значній кількості. У результаті цього активізуються вільнорадикальні процеси, оскільки NO взаємодіє з супероксиданіон-радикалом (O_2^-) [2], утворюючи токсичний пероксинітрид ($ONOO^-$), який має деструктивний вплив на клітинні структурні елементи.

З огляду на вищесказане, метою нашої роботи було дослідження впливу основного субстрату NOS – L-аргінину та селективного інгібітора iNOS – аміногуанідину (AG) на морфофункціональні характеристики еритроцитів у нормі та за умов ЦД 1-го типу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 56 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-210 г. Експериментальний ЦД (ЕЦД) викли-

кали шляхом внутрішньочеревного введення стрептозотоцину ("Sigma", США) з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла. Тваринам per os вводили з питною водою L-аргінін ("Reanal", Угорщина) у концентрації 1,25 г/л протягом 21 дня та AG ("Sigma", США) у концентрації 1 г/л протягом 30 днів. Роботу з лабораторними щурами виконували згідно з правилами, що передбачені Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів за участю експериментальних тварин.

У всіх групах тварин досліджували кількість еритроцитів, кількість і добову продукцію ретикулоцитів, концентрацію загального гемоглобіну (Hb) і вміст фетального гемоглобіну (HbF) [4] та гемолітичну стійкість еритроцитів, яку визначали за методом І.А. Терескова та І.І. Гительсона [4]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За умов стрептозотоцинового діабету кількість еритроцитів у периферичній крові щурів знижувалась (на 23 %), водночас ми спостерігали зростання концентрації загального Hb (на 22 %) та подвоєння вмісту HbF (табл. 1). На нашу думку, отримані результати свідчать про компенсаторну відповідь організму на стан гіпоксії, що є характерним для даної патології. Введення як AG, так і L-аргінину контрольній групі тварин спричиняло зменшення кількості еритроцитів

та зростання концентрації загального Hb. Натомість, за умов ЕЦД вплив досліджуваних речовин мав різнонаправлений характер: AG дещо збільшував кількість еритроцитів, при цьому концентрація Hb істотно знижувалась, водночас введення L-аргініну викликало зменшення кількості еритроцитів і підвищення концентрації Hb (див. табл. 1).

Вміст ретикулоцитів у периферичній крові щурів за умов ЦД зріс на 14 %. Даний показник в основному визначався двома факторами: швидкістю (кількістю) виходу ретикулоцитів у кров'яне русло та швидкістю дозрівання ретикулоцитів у периферичній крові (перехід в еритроцити). Тому ми досліджували також добову продукцію ретикулоцитів, що є визначальним показником стану еритропоетичної функції кісткового мозку. З отриманих результатів видно, що добова продукція ретикулоцитів при досліджуваній патології зростала у 3,92 раза. Під впливом екзогенного L-аргініну в контрольній групі тварин кількість ретикулоцитів знижувалась при незмінній добовій продукції. У разі введення AG як у нормі, так і при патології спостерігали зростання добової продукції ретикулоцитів. Це може свідчити про те, що аміногуанідин за умов даної патології є фактором інтенсифікації продукції еритроцитів.

На наступному етапі ми досліджували структурно-функціональний стан мембрани еритроцитів за даних умов. При цукровому діабеті простежувалася знижена стійкість еритроцитів (табл. 2) внаслідок збільшення вмісту функціонально старих еритроцитів [1].

"Старіння" еритроцитів відбувалося через накопичення продуктів ПОЛ на біологічних мембранах. Продукти ПОЛ знижували здатність еритроцитів до деформації, пошкоджували інтиму судин, сприяли розвитку атеросклерозу. Такі зміни зумовили хронічні ускладнення за умов цукрового діабету, зокрема, діабетичні ангіопатії [1].

Введення L-аргініну призвело до зменшення тривалості гемолізу еритроцитів у тварин з ЕЦД, яке відбувалося на фоні зростання часу гемолізу максимальної кількості еритроцитів та максимальної частки гемолізованих еритроцитів, що зумовлено підвищенням стійкості фізіологічно зрілої популяції. Це може бути спричинено активацією неокисного метаболізму L-аргініну. Продуктом аргіназної реакції є орнітин – попередник у біосинтезі поліамінів, яким притаманна пригнічувальна дія на синтез NO de novo [2].

При введенні аміногуанідину як у контролі, так і за умов стрептозотоцинового діабету спостерігалось підвищення стійкості еритроцитів порівняно з хворими тваринами, які не отримували аміногуанідин. Це є наслідком інгібування процесів неферментативного глікозилювання, а також зниження вмісту пероксинітриту при пригніченні активності індукцибельної NO-синтази, яка при даній патології відіграє провідну роль у синтезі NO.

ВИСНОВКИ. Метаболічні порушення, що розвиваються внаслідок ЦД, значно ускладнюють функціонування систем підтримання

Таблиця 1 – Цитологічні та фізико-хімічні показники периферичної крові щурів за досліджуваних умов ($M \pm m$, $n=8-10$)

Показники Групи	К-сть ер., $\times 10^6$ в 1 мкл	Конц. Hb, г/л	Вміст HbF, %	Кількість ретикулоцитів, ‰	Добова продукція ретикулоцитів
Контроль (К)	12,45 \pm 0,66	157,8 \pm 15,2	17,44 \pm 0,24	10,83 \pm 1,02	105,78 \pm 10,03
К+AG	9,73 \pm 0,53*	206,7 \pm 12,2*	18,75 \pm 0,92*	13,4 \pm 1,8	401,27 \pm 39,97*
К+L-Arg	6,40 \pm 0,56*	206,6 \pm 12,2*	20,94 \pm 0,74*	5,33 \pm 2,02	111,94 \pm 10,85*
Діабет (Д)	9,56 \pm 0,74*	202,5 \pm 12,4*	34,52 \pm 3,03*	12,6 \pm 1,21*	415,38 \pm 39,98*
Д+AG	10,33 \pm 0,25**	157,6 \pm 8,8**	19,93 \pm 1,56**	22,5 \pm 2,23**	590,25 \pm 40,58**
Д+L-Arg	8,53 \pm 0,76**	225,2 \pm 18,9**	20,1 \pm 0,24**	4,67 \pm 1,67	132,83 \pm 13,77

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – різниця вірогідна порівняно з контролем, $p < 0,05$; ** – різниця вірогідна порівняно з ЦД, $p < 0,05$.

Таблиця 2 – Показники кислотних еритрограм за досліджуваних умов ($M \pm m$, $n=8-10$)

Показники Групи	Тривалість гемолізу, хв	Час max гемолізу, хв	max частка гемоліз. еритр. за 0,5 хв, %
К	9,86 \pm 0,60	4 \pm 0,13	26,35 \pm 1,41
К+AG	13,5 \pm 0,73*	3,56 \pm 0,24*	25,21 \pm 1,57*
К+L-Arg	9 \pm 0,19*	5,12 \pm 0,10*	32,66 \pm 1,37*
Д	9,14 \pm 0,65*	3,64 \pm 0,18*	21,54 \pm 1,25*
Д+AG	13 \pm 0,41**	4 \pm 0,13**	21,49 \pm 2,52**
Д+L-Arg	8,77 \pm 0,17**	4,79 \pm 0,16**	33,38 \pm 1,44**

гомеостазу, важливою ланкою якого є еритроцит периферичної крові. Зростання загального вмісту гемоглобіну, вмісту фетального гемоглобіну та пришвидшення еритропоезу слід розглядати як компенсаторну реакцію організму, спрямовану на збільшення кисневої ємності крові у відповідь на генералізовану тканинну гіпоксію за умов дослідної патології.

Блокування синтезу оксиду азоту за умов ЕЦД шляхом застосування селективного інгібітора iNOS (аміногуанідину) мало нормалізуючий вплив на досліджувані показники, що свідчить про доцільність його застосування з профілактичною метою для попередження розвитку діабетичних ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И. Патогенез инсулинзависимого сахарного диабета // Проблемы эндокринологии. – 1985. – **31**, № 5. – С. 48-59.

2. Бондаренко Н.О., Галстян Г.Р., Кузнецова Т.В. и др. Метаболизм L-аргинина у больных сахарным диабетом с диабетической полинейропатией и язвенными дефектами стоп // Проблемы эндокринологии. – 2004. – **50**, № 1. – С. 3-9.

3. Сибірна Н.О., Бурда В.А., Люта М.Я. Активність різних ізоформ NO-синтази еритроцитів за умов цукрового діабету 1 типу // Клін. та експериментал. патологія. – 2004. – **3**, № 2. – С. 210-212.

4. Сибірна Н.О., Великий М.М. Цитологічні та фізико-хімічні методи дослідження крові: Методичний посібник. – Львів, ЛДУ, 1997. – 69 с.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ “L-АРГИНИН/NO” НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА

Т.В. Буслик, Н.О. Сибирная

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО
Резюме

Показано, что при сахарном диабете 1-го типа введение аминогуанидина (AG) имело нормализующее влияние на функциональное состояние эритрона. Такой вывод был сделан на основании экспериментальных данных о количестве эритроцитов, концентрации общего и фетального гемоглобина, количестве и суточной продукции ретикулоцитов, а также гемолитической стойкости эритроцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 1-го типа, эритроциты, L-аргинин, аминогуанидин.

EFFECT OF "L-ARGININE/NO" SYSTEM UPON ERYTHROCYTE MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS

T.V. Buslyk, N.O. Sybirna

LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

Summary

The normalized effect of aminoguanidine on the erythron system functional state under experimental diabetes mellitus was shown. This conclusion is based on the experimental data concerning erythrocyte and reticulocyte content, the total and fetal hemoglobin concentration, amount and daily production of reticulocytes and hemolytic resistance of erythrocytes.

KEY WORDS: L-arginine, aminoguanidine, erythrocytes, type 1 diabetes mellitus.

Адреса для листування: Н.О. Сибірна, вул. Дорошенка, 50, кв. 4, Львів, 79000, Україна.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО АНАЛОГА ВАЗОПРЕСИНУ НА СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ У БЛИХ ЩУРІВ

В.І. Швець, І.Д. Шкробанець

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Введення щурам синтетичного аналога вазопресину призводить до різкої активації системи плазмового фібринолізу з підвищенням інтенсивності як неферментативного, так і ферментативного лізису фібрину, що супроводжується значним збільшенням урокіназної активності сечі. У структурі сумарної фібринолітичної активності плазми крові зростає частка високоефективного ферментативного фібринолізу, що зумовлює накопичення в плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вазопресин, гемостаз, тромбоцити, фібриноліз.

ВСТУП. Взаємодія двох гомеостатичних систем – регуляції агрегатного стану крові й підтримки водно-солевого балансу – в останні роки викликає все більшу увагу дослідників [3]. Установлено, що вазопресин не тільки впливає на тонус судин і спричиняє антидіуретичний ефект на рівні дистальних канальців нирок, але й прямо діє на функцію тромбоцитів та сприяє виділенню VIII фактора згортання крові через стимуляцію V_2 -рецепторів. З останнім фактом пов'язують ефективність агоніста V_2 -рецепторів десмопресину при хворобі Вілебранда і тяжких формах порушення гемостазу, зокрема при уремійній кровотечі та цирозі печінки [7].

Відомо, що тривала дегідратація зменшує об'єм циркулюючої крові, підвищує гематокрит і в'язкість крові [6], що, за відомою тріадою Вірхова, збільшує гемостатичний потенціал і створює передтромботичний стан [4]. Водночас встановлено, що при зростанні гематокриту еластичність згортка крові знижується, а його здатність до деформації підвищується. Доведено, що критичне значення напруги зсуву, яке відповідає критичній схильності згортка до розпаду, є значно більшим за фізіологічний максимум [8]. Проте механізми, за допомогою яких реалізується зв'язок між змінами гормональної регуляції водно-солевого обміну і гемостатичними параметрами, залишаються нез'ясованими. Можливо, при дегідратації, яка через гіперосмолярність плазми крові підвищує секрецію вазопресину [7], саме даний гормон впливає на певні ланки системи регуляції агре-

гатного стану крові, підтримуючи її оптимальні реологічні параметри.

Метою роботи було з'ясування зміни тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, коагуляційного гемостазу, протизгортальної системи крові й фібринолізу при внутрішньовенному введенні щурам синтетичного аналога вазопресину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Екзогенний вазопресин (Adiuretinum, Ciba, Швейцарія) вводили в яремну вену в дозі 1/100 від маточного розчину – по 0,3 мл/кг маси тіла під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла) за 1 год до водного навантаження, яке проводили для пригнічення синтезу ендогенного вазопресину [7].

Кров збирали з черевної аорти, використовуючи як стабілізатор 3,8 % розчин натрію цитрату (1:9). Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів, а також за індексом їх спонтанної агрегації. Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації плазми, протромбіновий і тромбіновий час, активований парціальний фібриноліз, потенційну активність плазміногену, активність антиплазмінів та антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономера в крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна).

Дослідження часу рекальцифікації проводили в плазмі, отриманій після центрифугу-

© В.І. Швець, І.Д. Шкробанець, 2006.

вання крові протягом 5 хв при 1500 об./хв. У пробірку, поміщену у водяну баню, вносили 0,2 мл буфера Міхаеліса з 0,025 М хлористим кальцієм. Через 1 хв додавали 0,2 мл плазми й одразу вмикали секундомір. Пробірку періодично струшували і відмічали час утворення ниток фібрину (згортка). Для визначення активованого парціального тромбoplastинового часу фіксували час рекальцифікації безтромбоцитарної плазми після стандартизованої контактної (каоліном) та фосфоліпідної (кефаліном) активації згортання крові. Визначали протромбіновий час.

При дослідженні активності антитромбіну III розведену плазму інкубували зі стандартною кількістю тромбіну з активністю 10 NIH/мл (частина тромбіну при цьому з'єднується з антитромбіном III), потім за часом згортання фібриногену визначали залишкову активність тромбіну. Для визначення активності фактора XIII фіксували час розчинення згортка плазми в щавлевокислій сечовині після інкубації плазми з монойодоцтовою кислотою, котра блокує активацію фактора XIII. При цьому час розчинення згортка залежав від вихідної активності фактора Лакі-Лорана в досліджуваній плазмі.

Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові проводили за лізисом азофібрину: при

інкубації азофібрину в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові, утворювався плазмін. Інтенсивність фібринолізу оцінювали за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі (спектрофотометр "СФ-46") в присутності ϵ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між зазначеними показниками відповідала інтенсивності ферментативного фібринолізу [5]. Визначення розчинних комплексів фібрин-мономера в плазмі крові проводили за аналізом їх рецепторної взаємодії зі спеціальним штамом золотистого стафілокока, яку враховували візуально за аглютинацією бактеріальних клітин. Для визначення урокіназної активності сечі здійснювали інкубацію плазміногену із сечею (котра містить урокіназу), внаслідок чого утворювався плазмін, активність якого визначали за ступенем лізису азофібрину.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми "BioStat" з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Після введення синтетичного аналога вазопресину показники активованого парціального тромбoplastинового часу, протромбінового і тромбі-

Таблиця 1 – Вплив внутрішньовенного введення синтетичного аналога вазопресину на систему регуляції агрегатного стану крові у білих щурів за умов водного навантаження ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Контроль (n=11)	Введення аналога вазопресину (n=11)
Активованій парціальний тромбoplastиновий час, с	37,07 \pm 2,06	35,94 \pm 2,6 p>0,7
Протромбіновий час, с	18,94 \pm 1,23	20,94 \pm 1,16 p>0,3
Тромбіновий час, с	12,90 \pm 0,80	11,81 \pm 0,88 p<0,4
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	4,42 \pm 0,43	1,88 \pm 0,27 p<0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	39,62 \pm 1,86	29,10 \pm 2,52 p<0,05
Активність антитромбіну III, %	92,93 \pm 2,65	92,65 \pm 4,33 p>0,1
Активність XIII фактора, %	82,77 \pm 3,35	84,27 \pm 3,87 p>0,8
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мл за 1 год	3,87 \pm 0,26	12,41 \pm 0,94 p<0,001
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мл за 1 год	0,56 \pm 0,09	0,95 \pm 0,14 p<0,05
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мл за 1 год	3,31 \pm 0,26	11,47 \pm 0,98 p<0,001
Концентрація в крові розчинних комплексів фібрин-мономера, мкг/мл	не визначаються	7,90 \pm 0,80
Урокіназна активність сечі, од.	35,66 \pm 1,83	64,27 \pm 4,39 p<0,001

Примітка. p – ступінь достовірності відмінностей показників відносно контролю; n – число спостережень.

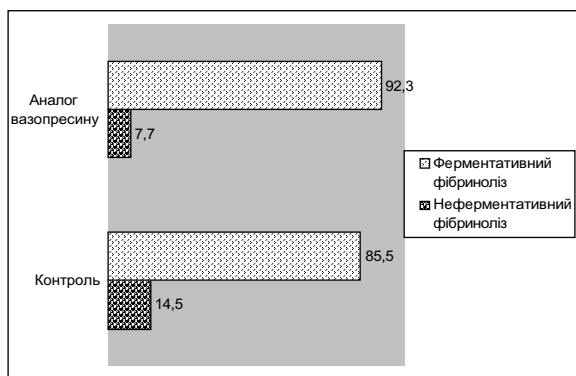


Рис. 1. Вплив синтетичного аналога вазопресину на структуру сумарної фібринолітичної активності плазми крові (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу).

нового часу, активності антитромбіну III і активності фібринстабілізуючого фактора практично не змінювались. Водночас спостерігалось зниження у 2,4 раза відсотка адгезивних тромбоцитів та в 1,4 раза – індексу їх спонтанної агрегації (табл. 1).

Більш значних змін зазнавала фібринолітична система плазми крові: сумарна фібринолітична активність збільшувалась у 3,2 раза, неферментативний фібриноліз зростав в 1,7 раза, а інтенсивність ензиматичного лізису фібрину була в 3,5 раза вищою за таку у тварин контрольної групи. Внаслідок інтенсифікації плазматичного фібринолізу в крові у досить великій кількості накопичувались розчинні комплекси фібрин-мономера. Урокізна активність сечі також зростала і перевищувала контроль на 80,2 %.

Зміни структури плазматичного сумарного фібринолізу характеризувались (рис. 1) зниженням частки неферментативного фібринолізу з 14,5 до 7,7 % при відповідному зростанні частки ензиматичного лізису фібрину з 85,5 до 92,3 %.

Відомо, що гемодинамічні умови, поряд із прокоагулянтними факторами, впливають на величину порогової активації внутрішньосудинного згортання крові [2]. Зокрема, тривала дегідратація внаслідок зменшення об'єму циркулюючої крові підвищує гематокрит і в'яз-

кість крові [3]. За таких умов погіршення реологічних характеристик крові призводить до інтраваскулярної гемокоагуляції [4]. Одним із захисних механізмів, спрямованих на збереження мікроциркуляції, є підвищення еластичності згортка крові пропорційно збільшенню гематокриту [6]. Водночас встановлено, що синтетичний аналог лізин-вазопресину реместин підвищує активність тканинного активатора плазміногена, а також викликає дозозалежне підсилення фібринолітичної активності крові [1], що відповідає результатам нашого дослідження.

Крім того, нами виявлений факт пригнічення тромбоцитарної ланки первинного гемостазу під впливом синтетичного аналога вазопресину, що також запобігає внутрішньосудинному мікротромбоутворенню. Можливо, вазопресин має прямий вплив на функціональну активність тромбоцитів [7] або реалізує свої протиагрегаційні ефекти через біологічно активні речовини ендотеліальних клітин [9].

ВИСНОВКИ. 1. Внутрішньовенне введення синтетичного аналога вазопресину не впливає на інтенсивність тромбіногенезу і фібриногенезу та не змінює протизгортальний потенціал крові у білих щурів.

2. Синтетичний аналог вазопресину знижує функціональну активність тромбоцитів, про що свідчить суттєве зменшення відсотка адгезивних тромбоцитів та індексу їх спонтанної агрегації.

3. Введення щурам синтетичного аналога вазопресину призводить до різкої активації системи плазматичного фібринолізу з підвищенням інтенсивності як неферментативного, так і ферментативного лізису фібрину, що супроводжується значним збільшенням урокізнальної активності сечі. У структурі сумарної фібринолітичної активності плазми крові зростає частка вискоєфективного ферментативного фібринолізу, що призводить до накопичення в плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голубева М.Г., Григорьева М.Е. Влияние аналога лизил-вазопресина реместина на некоторые показатели системы гемостаза у крыс // Вестник МГУ. – Сер. 12. – 2002. – № 2. – С. 8-11.
2. Гузевых А.П. Пороговая гидродинамическая активация внутрисосудистого тромбообразо-

вания: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. – М.: МГУ, 2000. – 24 с.

3. Киричук В.Ф. Жидкое состояние крови и его регуляция // Клинические и теоретические аспекты тромбогенеза: Материалы "Круглого стола". – Саратов, 2001. – С. 3.

4. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. – М.: Триада-Х, 1997. – 480 с.

5. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-мессенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 37 с.

6. Малачилаева Х.М. Морфо-функциональный анализ микроциркуляции крови при дегидратации и коррекции перфтораном: Автореф. дис. ... канд.

мед. наук. – М., Рос. гос. мед. ун-т, 2000. – 20 с.

7. Наточин Ю.В. Вазопрессин: механизм действия и клиническая физиология // Проблемы эндокринологии. – 2003. – **49**, № 2. – С. 43-50.

8. Riha P., Wang X., Liao R., Stoltz J.-F. Kinetics of blood coagulation, elasticity and fracture strain of clots // Biorheology. – 1999. – **36**, № 1-2. – P. 153.

9. Suzuki Y., Takami H., Tamai Y. et al. Synergistic disaggregation of platelets by the products of endothelial cells or their analogs // Haematologia. – 2000. – **30**. – P. 81-90.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО АНАЛОГА ВАЗОПРЕССИНА НА СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦИИ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ У БЕЛЫХ КРЫС

В.И. Швець, И.Д. Шкробанец

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Введение крысам синтетического аналога вазопрессина приводит к резкой активации системы плазменного фибринолиза с повышением интенсивности как неферментативного, так и ферментативного лизиса фибрина, что сопровождается значительным увеличением урокиназной активности мочи. В структуре суммарной фибринолитической активности плазмы крови возрастает доля высокоэффективного ферментативного фибринолиза, что обуславливает накопление в плазме крови растворимых комплексов фибрин-мономера.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **вазопрессин, гемостаз, тромбоциты, фибринолиз.**

INFLUENCE OF EXOGENOUS ANALOG OF VASOPRESSIN ON THE SYSTEM OF REGULATION OF AGGREGATE BLOOD STATE IN ALBINO RATS

V.I. Shvets', I.D. Shkrobanets'

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The introduction of a synthetic analog of vasopressin to rats results in a sharp activation of the system of plasma fibrinolysis with elevation of the intensity of both nonenzymatic and enzymatic fibrin lysis which is accompanied by a considerable increase of the urokinase urinary activity. The role of highly effective enzymatic fibrinolysis increases within the pattern of the total fibrinolytic activity, resulting in accumulation of soluble complexes of fibrin-monomer in blood plasma.

KEY WORDS: **vasopressin, hemostasis, thrombocytes, fibrinolysis.**

Адреса для листування: В.І. Швець, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.

УДК 616.24-002-085.322:638

ЗАСТОСУВАННЯ ФІТОСИРОПУ "БАЛЬЗАМ ГРУДНИЙ" У КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ЗАПАЛЬНИХ ХВОРОБ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

В.М. Хворостінка, І.А. Ільченко

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті наведено результати застосування комплексного фітопрепарату – сиропу "Бальзам грудний" – при лікуванні хворих на запальні захворювання дихальних шляхів. Використання фітосиropу "Бальзам грудний" проявляло протикашльову дію, сприяло покращанню відходження харкотиння та поліпшувало стан слизової оболонки бронхіального дерева.

Висока ефективність та добра переносимість фітосиropу "Бальзам грудний" дозволяють широко застосовувати його при лікуванні запальних захворювань дихальних шляхів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запальні захворювання дихальних шляхів, кашель, фітосиrop "Бальзам грудний", лікування.

ВСТУП. Різноманітні запальні захворювання дихальних шляхів (ЗЗДШ) супроводжуються розвитком локальної симптоматики та проявляються найчастіше однотипними клінічними ознаками: кашлем, болем у грудній клітці, утрудненням дихання. Наявність цих симптомів передусім залежить від етіології захворювання, реактивності організму, наявності фонової патології тощо [2, 4].

Незважаючи на те, що дана група хвороб характеризується відносно невисокими показниками тяжкості перебігу та смертності, вони обумовлюють суттєвий дискомфорт, втрату працездатності та медичні витрати.

Клінічна картина ЗЗДШ може бути дуже варіабельною, до того ж прояви захворювань при різній етіології найчастіше дуже схожі.

Стратегія лікування пацієнтів із ЗЗДШ спрямована на полегшення симптомів захворювання, попередження ускладнень, скорочення тривалості хвороби та швидке відновлення працездатності [2, 3, 4].

Клінічні результати терапії оцінюють за темпами одужання пацієнтів, тривалістю симптоматики, частотою розвитку гнійних і негнійних ускладнень, можливими несприятливими ефектами, що виникають під час лікування [1, 4].

© В.М. Хворостінка, І.А. Ільченко, 2006.

Серед численних лікарських засобів, які використовують у комплексній терапії ЗЗДШ, особливе місце посідають протикашльові препарати, засоби, що впливають на реологічні властивості харкотиння та покращують дренажну функцію бронхіального дерева.

Особливої уваги заслуговують препарати, які виготовляються з лікарських рослин. Високий вміст біологічно активних речовин рослин проявляє комплексну дію на патологічно змінені функції дихальних шляхів, а завдяки своєму природному походженню такі препарати добре переносяться хворими, практично не викликають побічних ефектів, зокрема алергічних реакцій. У зв'язку з цим, викликає певний інтерес новий комбінований препарат, який виготовляють з лікарських рослин, – фітосиrop "Бальзам грудний", (виробництва ТОВ "Натурлайн", Україна). До складу сиропу входять екстракти лікарських рослин (оману, алтеї, солодки, чебрецю, ромашки, липи, звіробою), які проявляють відхаркувальну, протикашльову, бронхолітичну, протинабрякову та судинозужувальну дію.

Метою дослідження було вивчення ефективності та безпечності застосування фітосиropу "Бальзам грудний" при лікуванні хворих на ЗЗДШ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В умовах спеціалізованих терапевтичних відділень Обласної клінічної лікарні м. Харкова було обстежено та проліковано 22 пацієнти віком від 18 до 60 років. З них у 10 було встановлено діагноз гострого бронхіту, в 12 – хронічного обструктивного бронхіту в стадії загострення.

До схеми лікування хворих, поряд з антибіотикотерапією, вітамінними препаратами, призначали фітосироп "Бальзам грудний", який застосовували по 2 чайні ложки 3 рази на день. Тривалість лікування становила 14-15 днів.

Досліджували динаміку клінічних симптомів захворювання і деяких лабораторних та інструментальних показників.

Для зручності оцінювання основних клінічних ознак застосовували шкалу наявності окремих симптомів у балах (від 0 до 5), які вимірювали щоденно.

Динаміку лабораторних та інструментальних показників оцінювали двічі: на початку лікування хворих та наприкінці курсу лікування – через 14-15 днів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На початку лікування в обстежуваних хворих мали місце сухий (38 %) та вологий продуктивний (62 %) кашель, біль у грудній клітці (95 %), задишка (64 %), загальна слабкість (100 %), зниження працездатності (100 %).

Завдяки лікуванню, яке проводили, позитивна динаміка клінічних ознак захворювання, які досліджували, відмічалась вже на 3-тю добу лікування та характеризувалась зменшенням інтенсивності та зміною характеру кашлю, покращанням відходження харкотиння, полегшенням дихання (табл. 1).

Окрім зниження інтенсивності кашлю, змінювався й характер харкотиння, що виділялось. На початку лікування, мали місце ознаки запальних змін слизової оболонки бронхіального дерева, про що свідчила наявність у харкотинні епітеліальних клітин різних ділянок бронхів і елементів крові. По закінченні курсу лікування з використанням фітосиропу "Бальзам грудний" відмічали зменшення ознак запалення в харкотинні (табл. 2).

Перетворення кашлю з непродуктивного в продуктивний досягалося завдяки розрідженню харкотиння та покращанню стану слизової оболонки бронхів. Цьому сприяло й застосування фітосиропу "Бальзам грудний", складові компоненти якого проявляли протикашльовий ефект, переважно за рахунок периферичної дії його складових екстрактів лікарських рослин.

Усі пацієнти переносили лікування добре. Будь-яких негативних ефектів чи алергічних реакцій під час застосування фітосиропу зафіксовано не було.

ВИСНОВКИ. 1. Натуральний лікарський препарат "Бальзам грудний" є ефективним засобом при лікуванні ЗЗДШ.

2. Фітосироп проявляє позитивний ефект як при сухому кашлі, так і при продуктивному з поганим відходженням харкотиння.

3. Екстракти лікарських рослин, що входять до складу фітосиропу "Бальзам грудний", гармонійно доповнюють один одного, посилюючи дію та поширюючи діапазон лікувальних можливостей.

4. Клінічна ефективність і добра переносимість фітосиропу "Бальзам грудний" дають можливість широко застосовувати його в комплексному лікуванні хворих на ЗЗДШ.

Таблиця 1 – Динаміка клінічних ознак ЗЗДШ у обстежених хворих під впливом лікування

Клінічні ознаки	Наявність клінічних ознак у балах (від 1 до 5)			
	До лікування	3 доба	7 доба	11 доба
Кашель	5	4	2,5	1
Біль у грудній клітці	5	3	2	0
Утруднення дихання	4	3	1,5	1

Таблиця 2 – Якісні зміни харкотиння під впливом лікування

Складові харкотиння	До лікування, %	Після лікування, %
Трахеобронхіальний епітелій	44,2	14,7
Дрібний циліндричний епітелій	28,8	10,2
Альвеолярний епітелій	9,4	0
Плаский поверхневий та проміжний епітелій	22,3	6,8
Нейтрофільні гранулоцити	66,8	12,4

ЛІТЕРАТУРА

1. Авдеев С.Н., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Применение метода индуцированной мокроты для оценки интенсивности воспаления дыхательных путей // Пульмонология. – 1998. – № 2. – С. 81-87.
2. Возіанова Ж.І., Печінка А.М. Гостре респіраторне захворювання – проблема з багатьма невідомими // Мистецтво лікування. – 2002. – № 5. – С. 6-11.
3. Карлухин Г.И. Острые негриппозные респираторные инфекции. – К.: Гиппократ, 2000. – 320 с.
4. Del Mar C.B., Glasziou P. Upper respiratory tract infection // Clin. Evid. – 2002. – 7. – P. 1391-1399.

ПРИМЕНЕНИЕ ФИТОСИРОПА "БАЛЬЗАМ ГРУДНОЙ" В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ДИХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

В.М. Хворостинка, И.А. Ильченко

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В статье наведены результаты применения комплексного фитопрепарата – сиропа "Бальзам грудной" – при лечении больных из воспалительными заболеваниями дыхательных путей. Использование фитосиропа "Бальзам грудной" проявляло противокашлевое действие, способствовало улучшению отхождения мокроты и улучшало состояние слизистой оболочки бронхиального дерева.

Высокая эффективность и хорошая переносимость фитосиропа "Бальзам грудной" позволяют широко применять его при лечении воспалительных заболеваний дыхательных путей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспалительные заболевания дыхательных путей, кашель, фитосироп "Бальзам грудной", лечение.

THE USING OF PHYTOSYRUP "BALM PECTORAL" IN COMPLEX TREATMENT OF INFLAMMATION OF RESPIRATORY PATHWAYS

V.M. Chvorostinka, I.A. Ilchenko

KHARKIV STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The results of clinical research of complex phytopreparation – syrup "Balm pectoral" in treatment of patients with inflammatory respiratory pathways diseases are represented in this article. During the treatment by phytosyrup "Balm pectoral" the cough was decreased, the improvement of phlegm spitting and the condition of bronchial tree mucosa were observed.

High efficiency and satisfactory tolerance of phytosyrup "Balm pectoral" allow to recommend it for treatment of patients with inflammatory respiratory pathways diseases.

KEY WORDS: inflammatory respiratory pathways diseases, cough, phytosyrup "Balm pectoral", treatment.

Адреса для листування: В.М. Хворостінка, ХДМУ, кафедра факультетської терапії, пр.Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.

ОКИСНЮВАЛЬНИЙ СТРЕС ЯК МОЖЛИВА ПРИЧИНА РОЗРИВУ АНЕВРИЗМИ АОРТИ

М.В. Князева, С.В. Іваннікова

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА
ГО "НОВЕ МИСЛЕННЯ У МЕДИЦИНІ"
ХАРКІВСЬКА ОБЛАСНА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ МОЗ УКРАЇНИ

Продуктування активних форм кисню нейтрофілами та іншими клітинами крові, окиснювальний стрес активують процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). ПОЛ належить до універсальних неспецифічних реакцій, які беруть участь у патогенезі багатьох захворювань, у тому числі в розвитку аневризми аорти (АА). Порівняння характеристик ПОЛ (концентрації дієнових кон'югатів, малонного діальдегіду, шифових основ), загальної антиоксидантної активності, показників запалення в сироватці й клітинах крові хворих з АА із загрозою розриву з тими ж характеристиками в інших клінічних групах із судинною патологією дозволяє запропонувати обрані характеристики як доповнення до біохімічного комплексу діагностики розриву АА.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: окиснювальний стрес, перекисне окиснення ліпідів, аневризма аорти.

ВСТУП. Серед головних пошкоджувальних факторів у хворих з критичними станами слід перш за все виділити ендогенну інтоксикацію та окиснювальний стрес [2]. Одним із патогенетичних факторів синдрому метаболічної інтоксикації є накопичення "середніх молекул" (СМ) (300-5000 Да). Окиснювальний стрес виникає за умов неконтрольованої генерації активних форм кисню (АФК), що пошкоджують усі біологічні структури, і супроводжує критичні стани, наприклад аневризму аорти (АА) із загрозою розриву. Діагностика розриву АА є однією з проблем сучасної судинної хірургії. Слід зазначити, що біохімічні аспекти виникнення та механізму розриву АА містять комплекс питань, що стосуються метаболізму ліпідів, глікозаміногліканів (ГАГ), кальцифікації, фібринолізу і т. ін. Але ж роль АФК, що генеруються при цьому фагоцитами, в механізмі розриву не досліджувалась. Крім того, останнім часом у науковій літературі з'явилось припущення про те, що не тільки нейтрофіли, але й інші клітини крові, наприклад еритроцити, здатні до "дихального вибуху", внаслідок чого можуть виникати АФК, що активують перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Вивчення процесів ПОЛ і антиоксидантної активності (АОА) при АА із загрозою розриву може дещо додати до розглянутого нами в попередніх роботах біохімічного комплексу діагностики розриву АА [4].

© М.В. Князева, С.В. Іваннікова, 2006.

Метою дослідження було вивчення ролі окиснювального стресу в розриві стінки аорти у хворих з АА із загрозою розриву порівняно з іншими клінічними групами хворих із судинною патологією на основі дослідження процесів ПОЛ у нейтрофілах і еритроцитах на тлі показників запалення, загальної АОА та СМ у сироватці крові для пошуку біохімічних критеріїв розриву стінки аорти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 116 хворих: 10 осіб з АА (1-ша група), 13 хворих з діагнозом "аневризма аорти" із загрозою розриву (2-га група), 5 – з АА, що розірвалася на операційному столі (3-тя група), 5 – з "несправжною" АА (4-та група), 38 – із синдромом Леріша (СЛ) (5-та група), 40 – з атеросклерозом (АС) (6-та група), 5 – з каортацією аорти (7-ма група) і 15 донорів без судинної патології того ж віку (8-ма група). Усі хворі чоловіки були віком 50-76 років. У сироватці крові, еритроцитах і нейтрофілах хворих 2-ї, 5-ї і 6-ї груп визначали дієнові кон'югати (ДК), малоновий діальдегід (МДА) АОА [3, 5], СМ методом Н.І. Габріелян. У досліджуваних клітинах крові – шифові основи (ШО) [1]. У сироватці крові хворих усіх восьми груп уніфікованими методами визначали: швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), загальний білок (ЗБ), глікопротеїни (ГП), гексози, церулоплазмін (ЦП), серомукоїди (СД), сіалові кислоти (СК), фібриноген (Фг).

Статистичну обробку біохімічних даних здійснювали з урахуванням критерію Стьюдента із застосуванням електронних таблиць Microsoft "Excel".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження процесів ПОЛ у клітинах крові показало, що нейтрофіли хворих з АА із загрозою розриву (2-га група), порівняно з нейтрофілами хворих з АС (6-та група), на тлі зменшення вмісту ДК до (77±7) % і тенденції до зниження рівня МДА до (89±5) % характеризувались підвищенням вмісту кінцевих продуктів ПОЛ – ШО до (187±8) %. Це можна розглядати як елемент патологічного впливу на стінку аорти, оскільки, хоча ШО є малоактивними, все ж вони здатні до реактивності з різними біомолекулами, окремо білками, викликаючи окиснювальну модифікацію білків (ОМБ). При цьому ОМБ і ПОЛ відіграють значну роль у пошкоджувальній дії АФК. Слід зазначити, що в еритроцитах хворих з АА, тоді, коли рівні ДК і МДА не відрізнялись від значень при АС, спостерігались зміни ШО протилежного характеру, тобто зниження їх вмісту (до (75±7) %), що може свідчити про зрив адаптаційних процесів, деструкцію мембран еритроцитів, є ознакою поганого прогнозу перебігу захворювання, тому що в місцях свого накопичення перекиси створюють іонофорні ділянки, необхідні для роботи АТФ-аз [2]. Крім того, це впливає на реологічні властивості крові. У сироватці крові хворих 2-ї групи спостерігали зниження рівня МДА (до (82±5) %) і підвищення загальної активності АОС ((128±8) %), що може свідчити про перевагу інтенсивності роботи АОС над інтенсивністю ПОЛ на рівні цілого організму.

Аналіз ПОЛ у нейтрофілах хворих із СЛ (5-та група), порівняно з нейтрофілами хворих на АС, демонструє зниження всіх досліджуваних нами показників процесу: рівня ШО – в 3,3 раза, значень ДК і МДА – до (88±7) і (84±7) % відповідно, що може бути проявом підвищення

функціональної активності мембран. В еритроцитах хворих цієї групи спостерігалась така ж тенденція змін обраних показників, за винятком МДА, значення якого сягало (151±10) %. Це може знижувати здатність мембрани еритроцитів до деформації, збільшувати її пошкодження і підвищувати схильність клітин крові до агрегації. У сироватці крові хворих з СЛ було помічено зниження АОА до (75±7) %, тоді як рівні ДК і МДА не відрізнялись від значень у групі з АС. За даними літератури [1, 2], порушення рівноваги між антиоксидантами та прооксидантами є характерним для різних захворювань і може трактуватись як неспецифічний показник оксидативного стресу. Аналіз вмісту СМ, до яких також входять АФК і кінцеві продукти вільнорадикального окиснення, в сироватці крові хворих з АА показав його підвищення, порівняно з 6-ю групою (АС), на 25 % (що можна розглядати як ознаку ендогенної інтоксикації). Рівень середньомолекулярних пептидів (СМП) у сироватці крові хворих 2-ї, 5-ї і 6-ї груп не відрізнявся. Аналізуючи результати визначення показників запалення у хворих 1-7 груп порівняно зі значеннями у здорових осіб того ж віку (табл. 1), можна помітити, що зростання ступеня загрози розриву АА (1-3 групи) корелює з підвищенням значень ШОЕ, сіалових кислот, гексоз, глікопротеїнів, а також тенденцією до зростання Фг і зниження ЗБ.

За даними літератури, Фг у підвищених концентраціях може проявляти прооксидантну дію, неспецифічна дія білкових компонентів впливає на антирадикальну активність. В групі хворих із СЛ такі показники, як ШОЕ, СК, ЦП, гексози, ГП, ЗБ, не відрізнялись вірогідно від значень відповідних показників у 2-й групі, а вміст Фг і серомукоїдів збільшився. Ці результати, разом із нашими попередніми даними відносно вивчення сполучної тканини аорти [4], можуть свідчити про більш глибокі дистрофічні порушення структур сполучної тканини при СЛ, ніж при АА із загрозою розриву і при АС.

Таблиця 1 – Характеристика деяких показників запалення у хворих обраних клінічних груп (у % порівняно зі значеннями відповідних показників у здорових осіб, прийнятих за 100 %)

	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група	6 група	7 група
ШОЕ	350±15*	505±20	660±22**	110±10~	500±23>	250±17<	105±7
Фг	123±7	140±10	140±8	102±10~	200±13>	95±7<	105±7
СК	118±5	133±10	242±18**	121±8	148±11>	121±7<	103±10
СД	383±16*	121±7	138±18	110±10	497±23>	91±12<	105±7
ЦП	105±5	112±7	116±8	112±5	112±6>	80±8<	68±7
Гек-и	123±10	142±17	190±17**	106±10~	123±8	98±12<	82±7
ГП	167±16	167±19	180±19	129±10~	223±21	121±7<	103±10
ЗБ	83±9	92±7	79±5	93±6	83±5	102±7<	88±6

Примітка. * – вірогідна різниця між 1 і 2 групами; ** – між 2 і 3 групами; ~ – між 4 і 3 групами; > – між 5 і 6 групами; < – між 6 і 3 групами.

ВИСНОВКИ. Зростання загрози розриву АА супроводжується підвищенням вмісту СМ, посиленням запалення, АОА, дисбалансом первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ у сироватці крові, нейтрофілах, еритроцитах. Збільшення значень ШОЕ, СК, гексоз, ГП, Фг

у сироватці крові корелює зі ступенем загрози розриву АА. Обговорюється можливість включення досліджених показників запалення і ПОЛ до запропонованого попередньо біохімічного комплексу діагностики розриву АА.

ЛІТЕРАТУРА

1. Васильєва Е.М., Баканов М.И., Поддубная А.Е., Шор Т.А. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии // Клин. лаб. диагностика. – 2005. – № 2. – С. 8-12.

2. Каримов А.З. Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в развитии метаболической интоксикации при патологии // Лаб. диагностика. – 2005. – № 1 (31). – С. 7-13.

3. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Владими-

ров Ю.А. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59-62.

4. Князева М.В., Бабаєва О.І., Гончарова Л.С., Іванникова С.В. Значення показників сполучної тканини в біологічних рідинах у діагностиці розриву аневризми аорти // Клін. фармація. – 2002. – 6, № 1. – С. 23-27.

5. Yoshihara et al. Clin. Chem. Acta. – 1978. – 84. – P.1-9.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА РАЗРЫВА АНЕВРИЗМЫ АОРТЫ

М.В. Князева, С.В. Иванникова

ХАРКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА
ГО "НОВОЕ МЫШЛЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ"
ХАРЬКОВСКАЯ ОБЛАСТНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА МОЗ УКРАИНЫ

Резюме

Продуцирование активных форм кислорода нейтрофилами и другими клетками крови, окислительный стресс активируют процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ относится к универсальным неспецифическим реакциям, которые принимают участие в патогенезе многих заболеваний, в том числе в развитии аневризмы аорты (АА). Сравнение характеристик ПОЛ (концентрации диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, шиффовых оснований), общей антиоксидантной активности, показателей воспаления в сыворотке и клетках крови больных с АА с угрозой разрыва с теми же характеристиками в других клинических группах с сосудистой патологией позволяет предложить выбранные характеристики в качестве дополнения к биохимическому комплексу диагностики разрыва АА.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: окислительный стресс, перекисное окисление липидов, аневризма аорты.

OXIDATIVE STRESS AS A POSSIBLE REASON OF AORTIC ANEURYSM RUPTURE

M.V. Knyazyeva, S.V. Ivannikova

KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN
"NEW THOUGHT IN MEDICINE"
KHARKIV REGIONAL CLINICAL HOSPITAL OF MPH OF UKRAINE

Summary

Production of oxygen active forms by neutrophils and other blood cells, oxidative stress activate lipid peroxidation process (LPO). LPO is regarded as a universal unspecific reaction, that takes part in pathogenesis of many diseases, including aneurysm of aorta. The comparison of LPO features (concentrations of dien conjugates, malone dialdehydes), general antioxidant activity, markers of inflammation in blood cells and serum in patients with aortic aneurysm rupture danger with the same characteristics of the patients with another vessel pathology allows to propose selected features as an addition to biochemical complex of aortic aneurysm rupture diagnostics.

KEY WORDS: oxidative stress, lipid peroxidation, aortic aneurysm.

Адреса для листування: М.В. Князева, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ НІТРИТРЕДУКТАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ
ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУВ.А. Бурда, М.Я. Люта, А.М. Федорович, Н.О. Сибірна
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Досліджено кінетику утворення оксиду азоту (NO) нітритгемоглобіновим шляхом, який забезпечується нітритредуктазною активністю дезоксигемоглобіну, в нормі, за умов цукрового діабету, а також на фоні введення L-аргініну (основного субстрату NO-синтази) та аміногуанідину (селективного інгібітора індукційної ізоформи NO-синтази).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоглобін, оксид азоту, цукровий діабет, нітритредуктазна активність.

ВСТУП. Утворення NO може відбуватися під час відновлення нітритів за участю дихальних гемопротеїнів. Описаний В.П. Реутовим цикл NO забезпечує перетворення: $L\text{-arg} > \text{NO} > \text{NO}_2 / \text{NO}_3 > \text{NO}$ і складається з NO-синтазної та нітритредуктазної ланок [4, 5]. В еритроцитах нітритредуктазна реакція каталізується електронодонорними системами за участю NADH, NADPH, флавопротеїнів і дезоксигемоглобіну (дезоксигемоглобін). Гемовмісні білки виконують ряд високоспецифічних функцій, які визначаються наявністю порфіринового кільця в цих білках. Дані білки, завдяки порфіриновому кільцю, володіють системою спряжених зв'язків і делокалізованими рухливими π -електронами, можуть легко віддавати й приймати електрони і тому досить ефективно вступають в окисно-відновні реакції [2, 4, 5]. Таким чином, здатність гемовмісних білків відновлювати нітритні іони в NO перш за все визначається наявністю делокалізованих β -електронів у порфіриновому кільці. Відомо, що при діабеті збільшується модифікація глюкозою залишків лізину і N-кінцевого валіну β -ланцюгів гемоглобіну. Показано, що глікозильовані амінокислоти і білки – ефективні донори електронів і здатні відновлювати гемопротеїни та нітрит-іон в анаеробних умовах. Тому метою нашої роботи було дослідження нітритредуктазної ланки утворення NO за участю дезоксигемоглобіну при цукровому діабеті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на безпородних щурах-самцях масою © В.А. Бурда, М.Я. Люта, А.М. Федорович, Н.О. Сибірна, 2006.

120-135 г. Діабет спричиняли внутрішньо-черевним введенням стрептозотоцину (фірми "Sigma" США) в дозі 7 мг на 100 г маси. У дослід брали тварин через 2 тижні з рівнем глюкози 9 ммоль на 1 л крові. Одночасно щурам вводили per os аміногуанідин у концентрації 1 г/л питної води і L-аргінін у концентрації 1,25 г/л питної води протягом 3-х тижнів. Лігандні форми Hb визначали методом абсорбційної спектроскопії [1]. Кінетику нітритредуктазної здатності фіксували на Specord M-40 [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Окиснювальний процес перетворення Hb у Met-Hb під дією нітрит-іонів може бути спряженим із утворенням NO. Імовірно є наявність двох власних механізмів синтезу NO в еритроцитах: NO-синтазного і нітритгемоглобінового, який забезпечується нітритредуктазною активністю дезоксигемоглобіну [4].

Із представлених на рисунку 1 кінетичних кривих видно, що дезоксигемоглобін щурів із експериментальним стрептозотоциновим діабетом проявляє відносно більшу нітритредуктазну активність порівняно з дезокси-Hb контрольних тварин. Виявлений ефект пояснюється тим фактом, що при цукровому діабеті додатковими донорами електронів можуть бути глікозильовані амінокислотні залишки у складі гемоглобіну і пізні продукти глікозилювання. Відомо, що рівень HbA1c в еритроцитах щурів із розвинутим стрептозотоциновим діабетом зростає. Метаболічний цикл NO може активуватися при різноманітних гіпоксичних станах, оскільки за умов дефіциту O_2 відновлені й гемовмісні білки переносять електрони на іони

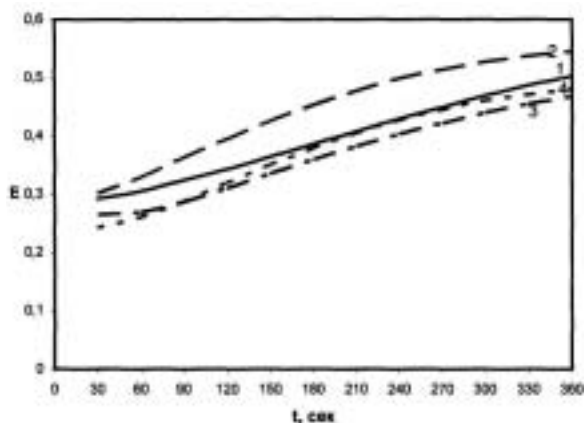


Рис. 1. Нітритредуктазна активність дезоксигемоглобіну в щурів: контрольних (1), із стрептозотоциновим діабетом (2), діабетичних, яким вводили L-аргінін (3), та діабетичних, яким вводили аміногуанідин (4).

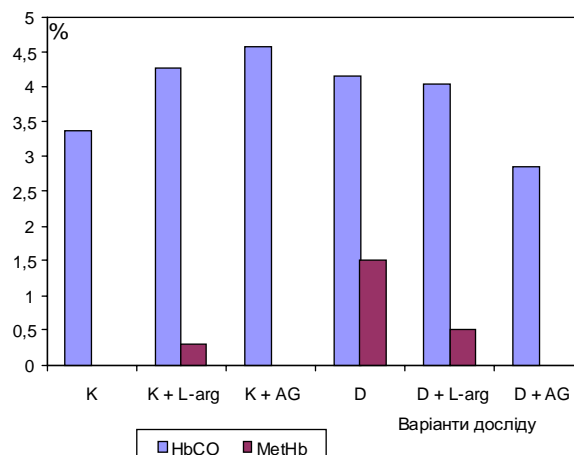


Рис. 2. Вміст лігандних форм гемоглобіну (MetHb, HbCO) у крові щурів у нормі та при стрептозотоциновому діабеті й за дії певних чинників.

NO_2^- , відновлюючи їх до NO . Аналіз лігандних форм гемоглобіну показав достовірне збільшення вмісту мет-Нб при цукровому діабеті та введенні L-аргініну (рис. 2). Це свідчить про те, що за умов діабету зростає частка нітритредуктазної ланки циклу оксиду азоту. При аналізі лігандних форм Нб також встановлено збільшення вмісту карбоксигемоглобіну (HbCO) в еритроцитах при діабеті, що є незаперечним доказом розвитку гіпоксії (див. рис. 2).

У досліджах *in vitro* було показано, що при взаємодії іонів NO_2^- з дезоксигемоглобіном здійснюється окисно-відновна реакція, в ході якої дезокси-Нб окиснюється в мет-Нб, а іони NO_2^- відновлюються в NO . Взаємодіючи з відновленим гемоглобіном, NO утворює стійкі Нб- NO -комплекси, а комплекси мет-Нб з NO не стабільні й тому легко розпадаються. Підтвердженням того є отримані нами електронні абсорбційні спектри переходу дезокси-Нб в нітросо-Нб.

Введення L-аргініну практично не змінювало досліджуваних нами показників у контрольних тварин. Проте у щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом спостерігалось зниження нітритредуктазної

активності дезокси-Нб (див. рис. 1). Це є своєрідна адаптація організму, пов'язана з депонуванням NO . Депонування NO , з одного боку, забезпечує захист від токсичної дії вільного NO за умов його гіперпродукції, а з іншого – може виконувати функції додаткового джерела оксиду азоту при його дефіциті [6]. Введення аміногуанідину *in vivo* щурам протягом трьох тижнів із питною водою нормалізувало фізико-хімічні властивості молекули Нб. Найімовірніше, це відбувається тому, що знижується концентрація оксиду азоту та пероксонітриту в результаті інгібування iNOS, а отже, зменшується інтенсивність процесів нітросилування по SH-групах молекули гемоглобіну. Показано зниження нітритредуктазної здатності дезокси-Нб за введення аміногуанідину діабетичним щурам, що свідчить про зменшення інтенсивності процесів нітросилування дезокси-Нб.

ВИСНОВОК. Введення аміногуанідину щурам із стрептозотоциновим діабетом нормалізувало нітритредуктазну ланку утворення оксиду азоту і тим самим запобігло структурним модифікаціям Нб, що мають місце при даній патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Білий О.І., Дудок К.П., Лук'янець В.М. Визначення вмісту гемоглобіну та його лігандних форм у цільній крові за методом абсорбційної спектроскопії. – Львів: Вид. ЛДУ, 1998. – 12 с.
2. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств ге-

моглобина // Усп. физиол. наук. – 2003. – **34**, № 2. – С. 33-45.

3. Патент UA 45158. Пристрій для отримання і дозованої подачі оксиду азоту NO і побудови кривих дисоціації оксигемоглобіну в присутності NO / Коровов В.М., Федорович А.М., Соколик Н.В. (Україна);

Опубл. в бюл. № 6 від 17.06.2002 р.

4. Реутов В.П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих и принцип цикличности // Биохимия. – 2002. – **67**, вып.3. – С. 353-376.

5. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азо-

та // Биохимия. – 1998. – **63**, № 7. – С.1029-1040.

6. Сибірна Н.О., Люта М.Я., Бурда В.А., Федорович А.М. Вплив аміногуанідину на фізико-хімічні властивості гемоглобіну за умов цукрового діабету 1-го типу // Біологія тварин. – 2005. – **7**, № 1. – С.194-200.

ИССЛЕДОВАНИЕ НИТРИТРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА

В.А. Бурда, М.Я. Лютая, А.Н. Федорович, Н.А. Сибирная
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ФРАНКО

Резюме

Исследовано кинетику образования оксида азота (NO) нитритгемоглобиновым путем, который обеспечивается нитритредуктазной активностью дезоксигемоглобина, в норме, при диабете, а также на фоне введения L-аргинина (основного субстрата NO-синтазы) и аминогуанидина (селективного ингибитора индуцибельной изоформы NO-синтазы).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемоглобин, оксид азота, сахарный диабет, нитритредуктазная активность.

INVESTIGATION OF HEMOGLOBIN NITRITE-REDUCTASE ACTIVITY UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS

V.A. Burda, M.Ya. Lyuta, A.M. Fedorovych, N.O. Sybirna
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO

Summary

The kinetics of nitric oxide (NO) production through nitrite-hemoglobin pathway which is carried out by desoxyhemoglobin nitrite reductase activity, was studied under normal conditions, under diabetes mellitus as well as after L-arginine (NO synthase main substrate) and aminoguanidine(selective inhibitor of inducible NO insoform of synthase) administration.

KEY WORDS: hemoglobin, nitric oxide, diabetes mellitus, nitrite-reductase activity.

Адреса для листування: В.А. Бурда, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

АКТИВАЦІЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ: КОРЕЛЯЦІЯ З ПАРАМЕТРАМИ ВІЛЬНОЇ ПОВЕДІНКИ

І.Ф. Беленічев, С.В. Павлов
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті представлено результати дослідження вільнорадикального окиснення при хронічному іммобілізаційному стресі. Показано роль окисної модифікації білків у розвитку когнітивного дефіциту. Патогенетично обґрунтовано застосування антиоксидантів-церебропротекторів як ефективних стреспротективних препаратів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний іммобілізаційний стрес, активація вільнорадикального окиснення, когнітивний дефіцит.

ВСТУП. Активація вільнорадикального окиснення (ВРО) є одним із факторів порушення фізіологічних функцій за умов хронічного іммобілізаційного стресу (ХІС). Активні форми кисню (АФК) при антиоксидантній недостатності, що розвивається при стресі, "атакують" білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти. Процеси переокиснення білків, ліпідів у головному мозку, на думку багатьох авторів, корелюють зі зміною поведінки тварин [5, 8].

Метою нашого дослідження було зіставлення параметрів поведінки тварин у відкритому полі й тесту умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) з вмістом продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) та активністю каталази у головному мозку, а також корекція цих порушень похідною хіназоліну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження було проведено на 30 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г, доставлених з віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. ХІС викликали двогодинною жорсткою іммобілізацією протягом 10 діб [9]. Тварин було розподілено на такі експериментальні групи: 1-ша – інтактна; 2-га – контрольна; 3-тя – щури, які за 2 год до моделювання стресу одержували per os ПК 66 у дозі 10 мг/кг (похідна хіназоліну, яка у дослідгах in vitro та in vivo виявляла високу антиоксидантну та ноотропну активність).

Через 2 год після останнього стресування у щурів вивчали поведінку за тестом "відкритого поля" та за УРПУ [6]. Після цього тварин декапітували під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Продукти ОМБ визначали

© І.Ф. Беленічев, С.В. Павлов, 2006.

у гомогенаті головного мозку за накопиченням альдегідфенілгідрозонів (АФГ) – ранній маркер окиснення білків та кетонфенілгідрозонів (КФГ) – пізній маркер деструкції білкової молекули [11]. У разі спонтанної ОМБ зазначені маркери вказують на загальну спрямованість ВРО в організмі, а при ініційованій ОМБ (до системи вводили середовище Фентона) дані показники характеризують резервно-адаптаційні можливості організму [7]. Активність каталази визначали спектрофотометрично за реакцією з молібдатом амонію.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів дослідження показав, що через 2 год після стресу у тварин знижувалась горизонтальна (ambulation) та вертикальна (rearing) активність – у 34,3 та 11,4 раза відповідно (табл. 1). Введення щурам ПК 66 підвищувало горизонтальну активність у 17,6 раза, вертикальну – у 6,4 відносно контролю.

Вивчення УРПУ у щурів з ХІС показало, що хронічний стрес призводить до значної зміни мнестичних функцій тварин. Так, навчання у "двочовниковій камері" показало наявність у тварин контрольної групи когнітивного дефіциту, який проявлявся зниженням латентного періоду УРПУ на 95 % відносно інтакту. Введення ПК 66 експериментальним тваринам призвело до значного антиамнестичного ефекту, який супроводжувався підвищенням латентного періоду в 123,3 раза відповідно до контролю (табл. 2).

Результати вивчення активності каталази та ступеня ОМБ показали, що когнітивний дефіцит розвивався на фоні активізації процесів

ВРО. Так, через 2 год після останнього стресування значно знижувалась активність каталази (на 62 %) у головному мозку відносно інтактної групи (табл. 3). Одночасно відзначалось підвищення концентрації АФГ та КФГ як при спонтанній, так і при ініційованій ОМБ, що свідчить про виснаження резервно-адаптаційних функцій організму за умов ХІС (табл. 4). Введення щурам ПК 66 призводило до достовірного зростання рівня каталази в 81,79 раза, крім того, знижувалась концентрація продуктів ОМБ.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що показники ВРО (активність каталази, ступінь ОМБ) корелюють з параметрами вільної поведінки та латентного періоду УРПУ. На нашу думку, розвиток когнітивного дефіциту за умов ХІС зумовлений тим, що окисне пошкодження білків під дією активних форм кисню призводить до модифікації рецепторів, які внаслідок цього не здатні викликати нормальну трансдукцію внутрішньоклітинного сигналу в нейрональній клітині. Крім того, продукти ОМБ, за даними низки авторів [2, 4], здатні посилювати експресію каспаз, які належать до сімейства IL-1 (3-конвертуючі протеази), що розгалужують ланцюг апоптози. Зазначений механізм досить точно відповідає сучасним уявленням про

апоптоз як про біохімічний механізм знищення деяких популяцій нервових клітин за умов ХІС [3]. Ці обставини є переконливим обґрунтуванням застосування церебропротекторів з антиоксидантним механізмом дії як ефективних стреспротективних засобів [1]. Наші попередні дослідження довели високу антиоксидантну та ноотропну активність ПК 66 [10].

ВИСНОВКИ. 1. Хронічний іммобілізаційний стрес у щурів супроводжується зниженням активності каталази та окисним пошкодженням білка.

2. При стресі у тварин знижуються латентний період УРПУ та вертикальна (ambulation) і горизонтальна (rearing) активність.

3. Зниження латентного періоду УРПУ та рухової активності корелює зі зменшенням активності каталази і підвищенням концентрації продуктів окисної модифікації білків у головному мозку.

4. Введення за 2 год до початку моделювання ХІС ПК 66 (10 мг/кг) призвело до підвищення активності каталази та зниження концентрації продуктів ОМБ; збереження умовного рефлексу і зростання рухової активності.

5. Механізм стреспротективної дії сполуки ПК 66 зумовлений її антиоксидантним та антиамнестичним ефектами.

Таблиця 1 – Параметри вільної поведінки тварин, які зазнали ХІС

Експериментальні групи тварин	Кількість горизонтальних рухів (за 3 хв)	Кількість вертикальних рухів (за 3 хв)
Інтактна	45,5 ± 2,31	15,2 ± 0,76
ХІС контроль	11,3 ± 2,8	3,8 ± 0,35
ПК 66 10 мг/кг+ ХІС	28,9 ± 2,5*	10,2 ± 0,78*

Примітка. Тут і далі: * – $p < 0,05$ відповідно до контролю.

Таблиця 2 – Латентний період УРПУ щурів після ХІС

Експериментальні групи тварин	Латентний період заходу до навчання, с	Латентний період заходу після 24 год після навчання, с
Інтактна	12,5±3,25	198,8±5,8
ХІС контроль	3,58±0,8	42,1±3,4
ПК 66 10 мг/кг+ ХІС	7,85±3,21*	165,5±8,5*

Таблиця 3 – Рівень активності каталази у головному мозку щурів, які зазнали ХІС, мкат/мг/хв

Експериментальні групи тварин	Каталаза, мкат/мг/хв
Інтактна	130,754±5,628
ХІС контроль	50,645±7,260
ПК 66 10 мг/кг+ ХІС	132,441±11,063*

Таблиця 4 – Окисна модифікація білків у гомогенаті головного мозку, од./г білка

Експериментальні групи тварин	Спонтанна ОМБ		Ініційована ОМБ	
	АФГ	КФГ	АФГ	КФГ
Інтактна	0,071±0,004	0,053±0,002	0,111±0,004	0,072±0,003
ХІС контроль	0,157±0,016	0,134±0,014	0,214±0,016	0,192±0,013
ПК 66 10 мг/кг + ХІС	0,093±0,008*	0,087±0,008*	0,140±0,008*	0,119±0,013*

ЛІТЕРАТУРА

1. Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Дунаев В.В. та ін. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) // Ліки. – 2000. – № 4. – С. 65-69.
2. Вьюшина А.В., Герасимова И.Г., Флеров М.А. Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс, селектированных по скорости выработки условного рефлекса пассивного избегания в норме и при стрессе // Бюл. exper. биол. и медиц. – 2002. – **133**, № 3. – С. 286-288.
3. Губский Ю.И. Токсическая гибель клетки: свободнорадикальное повреждение ДНК и апоптоз // Лік. та діагн. – 2001. – № 1. – С. 8-13.
4. Губский Ю.И., Беленічев И.Ф., Павлов С.В. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) // Совр. пробл. токсикол. – 2005. – № 3. – С. 20-26.
5. Гуляева Н.В., Левшина И.П. Характеристики свободнорадикального окисления и антирадикальной защиты мозга при адаптации к хроническому стрессу // Бюл. exper. биол. и медиц. – 1998. – № 8. – С. 153-156.
6. Дьюсбери Р. Изучение поведения животных. – М.: Наука, 1980. – 376 с.
7. Карелюк М.А. Определение активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 62-65.
8. Павлов С.В., Беленічев І.Ф., Шабельник К.П. Церебропротективна активність похідних (4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл) алкіл (аріл) карбонових кислот в умовах гострого іммобілізаційного стресу // Ліки. – 2005. – № 5-6. – С.51-55.
9. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных веществ. – К.: ГФЦ МЗ Украины, 2000. – 540 с.
10. Шабельник К.П., Коваленко С.І., Павлов С.В., Беленічев І.Ф. Синтез, фізико-хімічні властивості амідів (4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл) алкіл (аріл) карбонових кислот // Фарм. журн. – 2006. – № 1. – С. 54-62.
11. Halliwell B., Yutteridge M.C. Free Radical in Biology and Medicine. – Oxford: Clarendon Press. 1999. – 320 p.

АКТИВАЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ: КОРРЕЛЯЦИЯ С ПАРАМЕТРАМИ СВОБОДНОГО ПОВЕДЕНИЯ

И.Ф. Беленічев, С.В. Павлов

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В статье представлены результаты исследования свободнорадикального окисления в условиях хронического иммобилизационного стресса. Показана роль окислительной модификации белков в развитии когнитивного дефицита. Патогенетически обосновано применение антиоксидантов-церебропротекторов как эффективных стресспротективных препаратов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический иммобилизационный стресс, активация свободнорадикального окисления, когнитивный дефицит.

ACTIVATION OF FREE-RADICAL OXIDATION UNDER CONDITIONS OF CHRONICAL IMMOBILIZATION STRESS: CORRELATION WITH PARAMETERS OF FREE BEHAVIOUR

I.F. Belenichev, S.V. Pavlov

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

This article adduces the results of investigation of free-radical oxidation under conditions of chronic immobilization stress. The role of oxidative modification of proteins in development of cognitive deficit is shown. Application of antioxidants-cerebroprotectors as effective stress-protective preparations is substantiated pathogenetically.

KEY WORDS: chronic immobilization stress, activation of free-radical oxidation, cognitive deficit.

Адреса для листування: І.Ф. Беленічев, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНОГО ПОЛІФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ В ЩУРІВ З ГІПЕРТИРЕОЗОМ ТА ЗА УМОВ ВПЛИВУ СПОЛУК З АНТИТИРЕОЇДНИМ ЕФЕКТОМ

Ю.І. Губський, В.М. Кравченко, Л.М. Вороніна
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Встановлено порушення антиоксидантного захисту в організмі тварин за умов гіперфункції щитоподібної залози та виявлено модулюючий вплив тетракону (нової сполуки з антитиреоїдним ефектом) на активність досліджуваних ферментів. Показано відновлення функціональної здатності глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази і значне підвищення активності глутатіонредуктази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази порівняно з групою тварин з експериментальним гіпертиреозом. Механізм дії тетракону, можливо, пов'язаний з посиленням інтенсивності синтезу досліджуваних ферментів за умов гіпертиреоїдного стану в щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антиоксидантні ферменти, гіпертиреоз, щури, тиреостатики.

ВСТУП. Численні дослідження вітчизняних і закордонних авторів останніх років дозволили виявити майже універсальний компонент метаболічних порушень при різних захворюваннях – підвищення рівня перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Не є винятком у цьому відношенні й патологічні стани, які пов'язані зі зміною рівня тиреоїдних гормонів [2, 3, 4, 6, 8]. Надлишок тиреоїдних гормонів в організмі людини і тварин зумовлює виникнення оксидативного стресу і, як наслідок, розвиток оксидативного пошкодження в тканинах організму [9]. Причиною накопичення продуктів вільнорадикального пошкодження життєво важливих біомолекул при гіпертиреозі може бути зниження надійності ферментативної і неферментативної антиоксидантної системи (АОС) [2, 5, 7, 9, 10].

Метою даної роботи було вивчення активності антиокиснювальних ферментів глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази (ГР), глутатіон-S-трансферази (ГТ) та ферменту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФД) у щурів з експериментальним гіпертиреозом та на фоні введення досліджуваної в Національному фармацевтичному університеті сполуки з вираженою антитиреоїдною дією – тетракону порівняно з мерказолілом.

© Ю.І. Губський, В.М. Кравченко, Л.М. Вороніна, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проведено на щурі обох статей масою 160-180 г. Модельну патологію гіпертиреозу викликали шляхом введення тироксину в дозі 100 мкг/100 г протягом 12 діб. Стан гіпертиреозу оцінювали за вмістом тиреоїдних гормонів – тироксину і трийодтироніну в сироватці крові, зміною маси тіла тварин та морфологічними дослідженнями щитоподібної залози. Для проведення ензимологічних досліджень використовували гомогенат тканини печінки, яка, порівняно з іншими органами, характеризується найвищим рівнем активності глутатіонзалежних ферментів. Активність ферментів ГПО, ГР, ГТ і Г6ФД визначали за методами [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження активності глутатіонових ферментів представлено в таблиці 1. Як видно з таблиці, при відтворенні експериментального гіпертиреозу в щурів простежувалась виражена, але невірогідна тенденція до зниження активності селенонезалежної глутатіонпероксидази. Активність глутатіон-S-трансферази, яка не лише інактивує ліпоперекиси, але й бере участь у знешкодженні вторинних продуктів пероксидації, у гепатоцитах тварин з контрольною патологією пригнічувалась в 1,48 раза з досто-

вірною розбіжністю від інтактного значення ($p < 0,05$). Активність ферменту рециркування глутатіону – глутатіонредуктази в печінці гіпертиреоїдних щурів була в 1,26 раза вищою, ніж у тварин контрольної групи. Вивчення NADP-залежної глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що забезпечує відновленням NADP глутатіонредуктазу, показало вірогідне збільшення активності ферменту в гіпертиреоїдних щурів в 1,91 раза порівняно з групою тварин інтактного контролю.

Застосування досліджуваної сполуки тетракону справляло модулюючу дію різнобічної спрямованості та вираження на активність ГПО, ГТ, ГР. Під впливом тетракону нормалізація функціонування глутатіонпероксидази забезпечувалась невірогідним відносно контрольної патології відновленням активності селензалежного ізоферменту, збільшуючись на 15 %. Стосовно ферменту глутатіон-S-трансферази, ряд ізоферментів якого можуть утилізувати гідроперекиси ліпідів і вторинні продукти ПОЛ – альдегіди, вплив тетракону виявляв вірогідно значущу, порівняно з контрольною патологією,

здатність до нормалізації активності цього ферменту. Активність збільшувалася на 30 %, однак не досягала значень щурів групи інтактного контролю. За дії мерказолілу активність глутатіон-S-трансферази зростала майже в 2 рази і перевищувала показники у контрольних тварин більше ніж в 1,3 раза.

Введення тетракону на фоні тироксину приводило до додаткового вірогідного збільшення (на 20 %) активності глутатіонредуктази. У тварин цієї групи активність ГР була вищою в 1,52 раза, ніж у інтактних. Одержані дані узгоджуються з результатами інших авторів, які виявлене підвищення глутатіонредуктазної активності в гіпертиреоїдних щурів вважали за необхідне для збереження надійності антиоксидантної системи організму [7, 8, 9]. Введення мерказолілу проявляло подібну дію на глутатіонпероксидазну та глутатіонредуктазну активності в печінці тварин. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази вірогідно зростала порівняно з щурами з контрольною патологією за умов впливу тетракону. Однонаправлену дію чинив і препарат порівняння мерказоліл.

Таблиця 1 – Вплив тиреостатичного засобу тетракону та референс-препарату мерказолілу на показники АОС у печінці щурів з експериментальним тироксиновим гіпертиреозом

Показник	Дослідні групи тварин			
	Інтактний контроль (n=8)	Контрольна патологія (n=8)	Патологія+ тетракон (n=6)	Патологія+ мерказоліл (n=6)
Глутатіонпероксидаза (ГПО), нмоль NADPH/хв/мг білка	42,5±4,8	34,8±5,8	39,9±6,8	36,6±4,5
Глутатіон-S-трансфераза, нмоль ХНБ/хв/мг білка	324,3±16,0	218,8±6,2*	283,7±11,7**	435,8±31,6***
Глутатіонредуктаза, нмоль NADPH/хв/мг білка	15,5±1,7	19,6±0,7*	23,5±1,9**	22,4±1,8*
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, нмоль NADPH/хв/мг білка	3,85±0,41	7,36±0,32*	9,83±0,67***	10,29±0,97***

Примітка. * – зміни вірогідні відносно інтактного контролю ($p < 0,05$);
** – зміни вірогідні відносно контрольної патології ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. 1. Нова сполука з антитиреоїдним ефектом тетракон, похідна хімічної групи 2-оксо-4-гідроксигінолінів, нормалізує активність ферментативної антиоксидантної системи і збільшує активність ферментів, що

забезпечують глутатіонзалежні ферменти відновленням GTSH і NADPH, дещо відрізняючись за механізмами впливу від мерказолілу.

2. Підвищення активності досліджуваних ферментів за дії тетракону, можливо, пов'язане з інтенсифікацією процесів їх біосинтезу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. – С.Пб.: ИКФ "Фолиант", 2001. – 232 с.
2. Родионова Т.И., Костенко Н.А. Изменение перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности плазмы у больных с тяжелой формой

диффузного токсического зоба // Пробл. эндокринолог. – 2003. – **49**, № 5. – С. 42-44.
3. Сомова О.В. Влияние ундевиту на перекисное окисление липидов за умов різного тиреоїдного стану організму // Ендокринологія. – 1999. – **6**, № 2. – С. 287.
4. Тименина Р.С., Филоненко Т.А., Древаль А.В.,

Камынина Т.С. Перекисное окисление липидов и α -токоферол у больных диффузным токсическим зобом // Пробл. эндокринол. – 2000. – **46**, № 6. – С. 26-28.

5. Шаповал Г.С., Громова В.Ф. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 2. – С. 5-13.

6. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / Под ред. А.И. Кубарко и S. Jamashita. – Минск-Нагасаки, 1998. – 368 с.

7. Ademoglu E., Gokkusu C., Yarman S., Azizlerli H. The effect of methimazole on the oxidant and antioxidant system in patients with hyperthyroidism // Phar-

macol. Res. – 1998. – **38**, № 2. – P. 93-96.

8. Bednarek J., Wysocki H., Sowinski J. Oxidation products and antioxidant markers in plasma of patients with Graves' disease and toxic multinodular goiter: effect of methimazole treatment // Free Radic. Res. – 2004. – **38**, № 6. – P. 659-64.

9. Halliwell B. Antioxydant characterization: methodology and mechanism // Biochem. Pharmacol. – 1995. – **49**, № 10. – P. 1341-1348.

10. Vrca V.B., Skreb F., Cepelak I. et al. Supplementation with antioxidants in the treatment of Graves' disease; the effect on glutathione peroxidase activity and concentration of selenium // Clin. Chim. Acta. – 2004. – **341**, № 1-2. – P. 55-63.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОГО ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМОГО ПОЛИФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА У КРЫС С ГИПЕРТИРЕОЗОМ И ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИТИРЕОИДНЫМ ЭФФЕКТОМ

Ю.И. Губский, В.Н. Кравченко, Л.Н. Воронина

ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Установлены нарушения антиоксидантной защиты в организме животных при гиперфункции щитовидной железы и выявлено модулирующее влияние тетракона (нового соединения с антитиреоидным эффектом) на активность исследуемых ферментов. Показано восстановление функциональной способности глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы и значительное повышение активности глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сравнении с группой животных с экспериментальным гипертиреозом. Механизм действия тетракона, возможно, связан с усилением интенсивности синтеза исследуемых ферментов при гипертиреоидном состоянии у крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антиоксидантные ферменты, гипертиреоз, крысы, тиреостатики.

RESEARCH OF ANTIOXIDATIVE GLUTATHIONE-DEPENDENT POLYENZYMATIC COMPLEX ACTIVITY IN RATS WITH HYPERTHYROIDISM AND UNDER ANTITHYROID EFFECT COMPOUNDS INFLUENCE

Yu.I. Hubsy, V.M. Kravchenko, L.M. Voronina

INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMN OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

Antioxidative defence dysfunction in animal organisms under thyroid gland hyperfunction was ascertained and modulating influence of tetracon (a new compound with antithyroid effect) on enzymes activity under study was found. Functional capacity restoring of glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase and considerable increase of glutathione reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was shown in comparison with group of animals with experimental hyperthyroid function. Mechanism of tetracon action is suggested to be related to synthesis intensity increasing of investigated enzymes under hyperthyroid condition in rats.

KEY WORDS: antioxidant enzymes, hyperthyroidism, rats, thyreostatic drugs.

Адреса для листування: В.М. Кравченко, вул. Ахсарова, 18, кв. 230, Харків, 61202, Україна.

РОЛЬ МЕЛАТОНІНУ ЯК ЦИТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЕЗОФАГІТУ

О.С. Заячківська¹, М.Р. Гжегоцький¹, Ю.О. Поспішіль¹, З. Слівовський², С. Контурек²
*ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО¹
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ COLLEGIUM MEDICUM ЯГЕЛЛОНСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ²*

У статті наведено результати цитопротекторного впливу мелатоніну на слизову оболонку стравоходу (СОС) за умов моделювання гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби – езофагіту лужним пошкоджувальним розчином жовчі з трипсином у щурів за рахунок покращання локального кровотоку та морфологічних критеріїв СОС.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, цитопротекція, оксид азоту, езофагіт.

ВСТУП. Нещодавні епідеміологічні дослідження засвідчили значне зростання та глобальний характер поширення гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ), що сягає 10-20 % серед населення європейських країн [1]. Окрім того, ГЕРХ є важливим чинником ризику розвитку стравоходу Баррета й аденокарциноми стравоходу. Встановлено роль біологічного окиснення та порушення кровопостачання як важливих компонентів етіопатогенезу ГЕРХ [2, 4, 7]. Відомо також про виражену цитопротекторну дію мелатоніну, екстраепізеальний синтез якого перевищує у 400 разів продукцію шишкоподібною залозою та характеризується моделюючою дією на процеси міжклітинної сигнальної трансдукції, цитолізу та захисні реакції, вираженим антиоксидантним та вазотропним впливом тощо [5, 6, 9]. Водночас механізми цитопротекторної дії мелатоніну на слизову оболонку стравоходу (СОС) вивчено недостатньо, зокрема практично нічого невідомо про вплив на активність системи NOS/NO як компонента локальної стрес-лімітувальної системи органів травлення. Тому дослідження механізмів, через які реалізується цитопротекторний вплив мелатоніну за умов експериментального моделювання езофагіту лужним пошкодженням СОС, має важливе значення [8, 10].

Метою наших досліджень було вивчення впливу мелатоніну на морфофункціональні механізми цитопротекції СОС щурів при

© О.С. Заячківська, М.Р. Гжегоцький, Ю.О. Поспішіль, З. Слівовський, С. Контурек, 2006.

моделюванні езофагіту за умов алкалічного пошкодження стравоходу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для експериментів використовували білих щурів-самців лінії Вістар масою 250-300 г, усі дослідження проводили згідно з міжнародними вимогами щодо гуманного ставлення до тварин. Щурів було поділено на групи по 8-10 тварин, яким протягом 7 діб щодня, використовуючи для знеболювання кетамін гідрохлорид у дозі 50 мг/кг, внутрішньоочеревино (во), за допомогою перфузійної помпи (Infusion Pump-353, Medipan, Warsaw, Poland) через систему пластикових катетерів, введених per os на 3-4 см у стравохід, перфузували розчини зі швидкістю 20 мм/год. Щурам 1-ї групи (контрольної) вводили плацебо (10 мл фізрозчину), решта тваринам моделювали лужний тип пошкодження СОС, перфузуючи суміш жовчі (зібраної від попередньо прооперованих тварин) із трипсином (0,5 мл, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), об'ємом 10 мл з рН 7,4, попередньо підігріту до 37 °С. Причому щурам 3-ї групи за 1 год до експерименту во вводили мелатонін у дозі 20 мг/кг/день. Після завершення перфузування всім тваринам під наркозом проводили лапаротомію та експонували стравохід для дослідження стану кровотоку стравоходу (КТС) за допомогою лазерного доплерівського флоуметра (Laserflo, модель BPM 403A, Blood perfusion Monitor Vasamedics, St. Paul, Minnesota, США). Вимірювання КТС проводили у трьох місцях, отримані значення

вимірів обраховували і подавали у відсотках відносно значень, одержаних у щурів контрольної групи. Після вимірювання КТС стравохід видаляли, промивали водою і досліджували ураження СОС макроскопічно. Для візуалізації клітинних та тканинних компонентів СОС стравохід ділили на три частини (верхню, середню і нижню) для виготовлення серійних гістологічних зрізів товщиною 5 мкм з наступним фарбуванням гематоксилін еозином. Для оцінки патологічних змін СОС застосовували напівкількісний метод з виділенням ступеня вираження ураження епітеліальної вистілки та підлеглої строми з урахуванням альтеративних і гемодинамічних змін. Отримані дані обробляли з використанням статистичного стандарту програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0, послуговуючись для порівняння груп дисперсійним аналізом (ANOVA) з апостеріорним попарним порівнянням середніх значень (критерій Newman-Keuls). Результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На інтактній СОС (контроль, 1-ша група) будь-які макроскопічні зміни відсутні й КТС у середньому становив $(67,44 \pm 1,5)$ мл/хв/100 г тканини, що було взято за контрольну величину (100 %). Одночасно зміни у тварин 2-ї групи склали достовірне зменшення КТС $(67,71 \pm 3,48)$ %, а в 3-й групі – достовірне збільшення до $(91,19 \pm 2,14)$ % відносно контрольних значень 1-ї групи. Значне покращання кровотоку за умов впливу мелатоніну свідчить про те, що він сприяє відновленню мікроциркуляції та обмеженню процесів пошкодження за рахунок модифікації мультимодальної активності NOS/NO системи. Відомо, що даний компонент локальної стрес-лімітувальної системи обме-

жує деструктивний вплив пошкоджувальних чинників шляхом безпосереднього зменшення активації вільнорадикального окиснення за рахунок підвищення активності антиоксидантних ферментів [3]. З літературних джерел відомо також про групу механізмів для NOS/NO моделюючого впливу на активність цитокінів, локальних запальних та аутоімунних реакцій [9]. Локальне покращання кровопостачання стравоходу, можливо, за рахунок збільшення експресії та активності NOS, відіграє головну роль у мелатонініндукованій цитотропекції [5].

У тварин 2-ї групи утворились поверхневого типу ерозивні ураження з вираженою гіперемією, що найчастіше спостерігались у середній частині стравоходу; в епітеліальних елементах були виражені альтеративні зміни – вакуолізація та загибель клітин з акантолізисом, десквамацією поверхневих частин епітеліального шару СОС. У ділянках ураження наявні фокальні некрози, локальна імбібіція жовчю, поверхневі ерозії. Водночас зауважено виражений цитотропекторний вплив при застосуванні мелатоніну у тварин 3-ї групи, що можна пояснити його антиоксидантною, вазотропною та антигеморагічною діями.

ВИСНОВКИ. Встановлено, що посилення цитотропекторних властивостей СОС під час моделювання езофагіту в разі біліарно-трипсинового пошкодження як компонента ГЕРХ можливе через вплив на процеси біологічного окиснення за рахунок мобілізації NO/NOS активності локальної стрес-лімітувальної системи стравоходу. Цитотропекторний вплив мелатоніну реалізується внаслідок комплексного впливу, зокрема мембраностабілізуючої та вазотропної дій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Dent J., El-Serag H.B., Wallander M.-A., Johanson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systemic review // *Gut*. – 2005. – **54**, № 7. – P. 710-717.
2. Erbil Y., Turkoglu U., Barbaros U. et al. Oxidative damage in an experimentally induced gastric and gastroduodenal reflux model *Surg. Innov.* – 2005. – **12**, № 3. – P. 219-225.
3. Ercan F. Role of melatonin in reducing water avoidance stress induced degeneration of the gastrointestinal mucosa // *J. Pineal Res.* – 2004. – **36**. – P. 195-203.
4. Farnadi A. Reactive oxygen species: are the involved in the pathogenesis of GERD, Barrett's Esophagus, and latter's progression toward esophageal cancer // *Am. J. Gastroenterol.* – 2002. – **97**, № 1. – P. 22-26.
5. Konturek P.C., Konturek S.J., Majka J. Melatonin afforded protection against gastric lesions induced by ischemia-reperfusion due to its antioxidant and mucosal microcirculatory effect // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – **122**. – P. 73-77.
6. Liaw S.J. Beneficial role of melatonin on microcirculation in endotoxin-induced gastropathy in

rats: Possible implication of nitrogen oxide reduction // J. Formosan. Med. Assoc. – 2002. – **101**. – P. 129-135.

7. Poplawski C. Role of bile acids, prostaglandins and COX inhibitors in choronic esophagitis in a mouse model – World J. Gastroenterol // 2006. – **12**, № 11. – P. 1739-1742.

8. Salo J.A., Kivilaakso E. Role of bile salts and trypsin in the pathogenesis of experimental alkaline esophagitis // Surgery. – 1983. – **93**, № 4. – P. 525-532.

9. Storr M. Melatonin reduces non-adrenergic, non-cholinergic relaxant neurotransmission by inhibition of nitric oxide synthase activity in the gastrointestinal tract of rodents in vitro // J. Pineal Res. – 2002. – **33**. – P. 101-108.

10. Szentpali K. Changes in microcirculation of esophageal mucosa during acute experimental reflux. Pathogenic role of the biliary component // Magy Seb. – 2003. – **56**, № 2. – P. 61-67.

РОЛЬ МЕЛАТОНИНА КАК ЦИТОПРОТЕКТОРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭЗОФАГИТЕ

О.С. Заячковская¹, М.Р. Гжегоцкий¹, Ю.О. Поспишил¹, З. Сливовский², С. Контурек²

*ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Д. ГАЛИЦКОГО¹
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ COLLEGIUM MEDICUM ЯГЕЛЛОНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА²*

Резюме

В статье приводятся данные о цитопротекторном влиянии мелатонина на слизистую оболочку пищевода (СОП) во время моделирования гастроэзофагеальной рефлюксной болезни – эзофагита щелочным повреждающим раствором жёлчи с трипсином в крыс через улучшение локального кровотока и морфологических критериев СОП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, цитопротекция, оксид азота, эзофагит.

ROLE OF MELATONINE AS A CYTOPROTECTOR AT EXPERIMENTAL ESOPHAGITIS

O.S. Zayachkivska¹, M.R. Gzhegotsky¹, Yu.O. Pospishil¹, Z. Sliwowsky², S. Konturek²

*LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY D. HALYTSKY¹
INSTITUTION OF PHYSIOLOGY COLLEGIUM MEDICUM OF JAGIELLONIAN UNIVERSITY²*

Summary

Results of melatonin cytoprotective influence on rat esophageal mucosa at alkaline esophagitis model via improvement of esophageal mucosa local blood flow and morphological esophageal mucosa criteria are adduced in the article.

KEY WORDS: melatonin, cytoprotection, nitric oxide, esophagitis.

Адреса для листування: О.С. Заячківська, Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРОТИНОЇДІВ КУЛЬБАБИ ЛІКАРСЬКОЇ

О.Я. Цаль, Л.В. Бензель

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО

У сумарній витяжці з листків і квітів кульбаби лікарської виявлено 4 каротиноїди. Визначення суми каротиноїдів у листках і квітах проводили фотоколориметричним методом. У результаті проведених досліджень встановлено, що квіти містять 0,387 мг/г, а листки – 0,627 мг/г суми каротиноїдів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кульбаба лікарська, сумарна витяжка, каротиноїди, квіти, листки.

Кульбаба лікарська – одна з найпоширеніших на всій земній кулі рослин, яка з давніх часів має широке застосування завдяки різноманітному вмісту біологічно активних речовин [3].

Флора України нараховує 12 видів цієї рослини, найпоширенішим з яких є кульбаба лікарська [4].

Офіційною сировиною є корені кульбаби лікарської, які використовують як гіркоту для збудження апетиту, покращання діяльності травного тракту, як жовчогінний і легкий проносний засіб [1]. Застосовують рослину для лікування атеросклерозу, діабету, порушення обміну речовин, що супроводжується захворюваннями шкіри [3].

Поряд з коренями кульбаби широке використання в народній медицині та за кордоном має надземна частина, яка містить фенольні сполуки (флавоноїди, кумарини, хінони, фанолкарбонові кислоти), тритерпеноїди, стероїди, вищі жирні кислоти, вітаміни В₁, В₂, С, каротиноїди [3, 5, 6].

Свіжі листки і сік кульбаби застосовують для лікування атеросклерозу, анемії, ревматизму, подагри, С-авітамінозу, захворювань шкіри та очей.

Кульбаба – цінний харчовий продукт. Корені рослини використовують як замітник кави, листки – для виготовлення салатів, квіти – варення і напоїв [3].

Метою наших досліджень було вивчення вмісту каротиноїдів у листках та квітах кульбаби лікарської.

© О.Я. Цаль, Л.В. Бензель, 2006.

За допомогою хроматографії в тонкому шарі силікагелю і на пластинках "Силуфол" у системах розчинників "циклогексан-діетиловий ефір" (80:20), "гексан-діетиловий ефір" (80:20) розділено і виявлено в сумарних витяжках з листків і квітів 4 каротиноїди. Проявник – 10 % спиртовий розчин фосфорномолібденової кислоти. Після прогрівання пластинок при температурі 60-80 °С каротиноїди проявлялись у вигляді плям синього кольору на жовто-зеленому фоні.

Визначення суми каротиноїдів у листках і квітах кульбаби лікарської, зібраних у Львівській області, проводили колориметричним методом за Цирелем [2].

Метод базується на здатності каротиноїдів розчинятись в органічних розчинниках, утворюючи розчин жовтого кольору. Оскільки в органічних розчинниках розчинні й інші пігменти, їх відділяли від каротиноїдів за допомогою сорбенту. Вимірювання оптичної густини забарвленого розчину проводили при довжині хвилі 250 нм.

Для отримання витяжки в колбу вносили 3 г подрібненої сировини, 5 г безводного сульфату натрію, 10 г оксиду алюмінію, 0,5 г оксиду кальцію та 100 мл ацетону. Колбу закривали і залишали в темному місці на 20 год.

Оптичну густину розчинів визначали за допомогою фотоелектроколориметра ФЕК-56 (кувета з товщиною шару 10 мм, світлофільтр синій).

Розрахунки еквівалентної кількості каротиноїдів у досліджуваних розчинах проводили за калібрувальним графіком, побудованим за біхроматом калію.

У результаті проведених досліджень встановлено, що квіти містять 0,387 мг/г, а листки – 0,627 мг/г суми каротиноїдів.

Отже, досліджувану рослинну сировину можна використовувати як джерело каротиноїдів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Машковський М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – М.: ООО "Изд-во Новая волна", 2002. – 1. – С. 320.
2. Разумов В.А. Массовый анализ кормов. – М.: Колос, 1982. – С. 30-32.
3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). – С.Пб.: Наука, 1993. – С. 192-197.
4. Флора УРСР / Під ред. О.Д. Віслюкіної – К.: Наукова думка, 1965. – 12. – С. 271-290.
5. Booth V.H. Taraxien, the carotenoid ester in dandelion flowers // Phytochemistry. – 1964. – 3, № 2. – P. 229-234.
6. Toth G., Shabolcs J. Distribution of carotenoids in flowers of Helianthus annuus, Impatiens noli tangere, Ranunculus acer, Taraxacum officinale and in ripe hips of Rosa canina and Rosa rubiginosa. An attempt to isolate taraxanthin // Acta Chim. Acad. Sci. Hung. – 1970. – 64, № 4. – P. 393-406.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО

О.Я. Цаль, Л.В. Бензель

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Д. ГАЛИЦКОГО

Резюме

В суммарной вытяжке из листьев и цветов одуванчика лекарственного обнаружено 4 каротиноида. Определение суммы каротиноидов в листьях и цветах проводили фотоколориметрическим методом. В результате проведенных исследований установлено, что цветы содержат 0,387 мг/г, а листья – 0,627 мг/г суммы каротиноидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **одуванчик лекарственный, суммарная вытяжка, каротиноиды, цветы, листья.**

RESEARCH OF CAROTENOIDS OF TARAXACUM OFFICINALE

O.Ya. Tsal, L.V. Benzel

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY D. HALYTSKY

Summary

There were detected 4 carotenoids in total extract from leaves and flowers of Taraxacum officinale. Determination of carotenoid totality in leaves and flowers was carried out by means of photocolormetric method. At the result of carried out investigations, there was determined, that flowers contain 0,387 mg/g of carotenoid totality and leaves – 0,627 mg/g.

KEY WORDS: **taraxacum officinale, summary extract, carotenoids, flowers, leaves.**

Адреса для листування: О.Я. Цаль, Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ХВОРИХ З КАРДІО- ЕМБОЛІЧНИМ ТА АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Л.Т. Максимчук

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Досліджено інтенсивність пероксидації ліпідів та окиснення білків плазми крові хворих у гострий період кардіоемболічного інсульту на фоні різних варіантів терапії. Виявлено, що доповнення традиційного лікування гірудотерапією більшою мірою сприяло зменшенню рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків і децю ефективнішому відновленню неврологічного дефіциту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кардіоемболічний інсульт, перекисне окиснення ліпідів, окиснення білків, гірудотерапія.

ВСТУП. Анатомічні, фізіологічні й біохімічні особливості мозкової тканини зумовлюють її високу чутливість до окисдантного стресу [4]. Внаслідок церебральної ішемії швидко знижується синтез АТФ, розвиваються глутаматна ексайтотоксичність і перевантаження клітин кальцієм, що призводить до інтенсивної генерації активних форм кисню, активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальних модифікацій білків (ОМБ) [2]. Припускається, що окисна деструкція білків більшою мірою, ніж ПОЛ, робить внесок у патологічні зміни мозку. Описано зниження активності ферментів, порушення функціонального стану рецепторних, транспортних і структурних білків нервової тканини внаслідок окисних пошкоджень [6, 9].

Потребують подальшого вивчення особливості розвитку ішемічного каскаду та окисдантного стресу при різних підтипах ішемічного інсульту та корекція порушень у процесі патогенетично обґрунтованої терапії.

Метою даної роботи було вивчення змін показників ПОЛ і ОМБ у плазмі крові хворих з кардіоемболічним (КЕІ) і атеротромботичним (АТІ) інсультом та при застосуванні у гострий період КЕІ на фоні традиційного лікування гірудотерапією та блокатора кальцієвих каналів дилтіазему.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 107 та 20 хворих у гострий період КЕІ й АТІ відповідно. Діагноз ішемічного інсульту ґрунтувався

© Л.Т. Максимчук, 2006.

на даних клінічно-неврологічного обстеження і був підтверджений транскраніальною доплерографією (ТКД) і даними КТ-дослідження. Хворих поділили на такі групи: 1-ша – 39 хворих з КЕІ (традиційна терапія – антикоагулянти, антиагреганти, ноотропи, протинабрякові, гіпотензивні), 2-га – 37 хворих з КЕІ (традиційна терапія + дилтіазем), 3-тя – 31 хворий з КЕІ (традиційна терапія + гірудотерапія), 4-та – 20 хворих з АТІ (традиційна терапія). Контрольну групу склали 20 чоловік без ознак цереброваскулярної патології. Оцінку клінічного стану хворих та аналіз показників ПОЛ і ОМБ проводили на 1-2 добу (всі хворі з КЕІ без поділу на групи та хворі з АТІ) і на 19-21 добу після виникнення інсульту (окремо в 1-й, 2-й та 3-й групах хворих).

Ступінь порушення неврологічних функцій оцінювали за шкалою Національного інституту здоров'я США (National Institutes of Health, USA; Liden et al., 1994). Як критерії окисдантного стресу використовували визначення ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду та інших) [5] та дослідження ОМБ плазми крові за вмістом продуктів взаємодії карбонільних груп у бічних радикалах амінокислот із 2,4-динітрофенілгідрозином [3]. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що незалежно від причини і механізму розвитку ішемічного інсульту на 1-2 добу

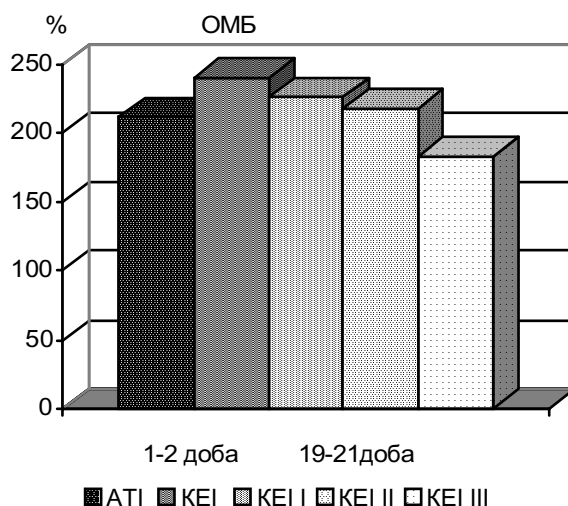
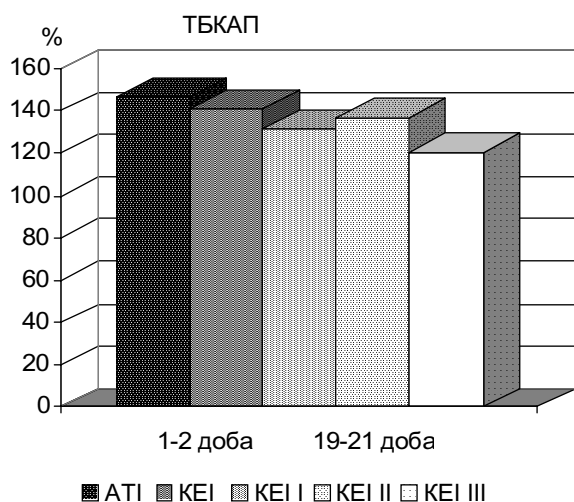


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів і карбонільних груп білків плазми крові хворих в гострий період ішемічного інсульту.

значно збільшується, порівняно з контролем, вміст продуктів ПОЛ і ОМБ (рис. 1). Істотно вищі рівні виявлено у хворих без регресу та з подальшим незначним регресом неврологічної симптоматики. Отримані результати узгоджуються з даними інших досліджень, що свідчать про значне зростання вмісту продуктів ПОЛ у крові, еритроцитах і спинномозковій рідині пацієнтів на 1-2 добу після інсульту [1, 2, 8]. Що стосується рівня ОМБ, то він перевищив контрольну величину в 2,4 раза.

Після проведеного лікування у хворих 1-ї групи вираження неврологічного дефіциту зменшилося в середньому з 11,9 балів до 8,9 – на 25 % ($p < 0,05$), у 2-й групі з 11,3 балів до 8,32 – на 26,4 % ($p < 0,01$), а в 3-й групі з 11,35 балів до 8,03 – на 29,3 % ($p < 0,01$), різниця між балами неврологічного дефіциту після лікування в групах була недостовірною.

Оцінка стану процесів ПОЛ і ОМБ на фоні різних варіантів лікування (див. рис. 1) показала деяку перевагу в цьому відношенні традиційної терапії, доповненої гірудотерапією. Так, у хворих, які отримували таке лікування на 19-21 добу, відмічалось більше зниження продуктів ПОЛ і ОМБ, хоча нормалізації показників не було досягнуто. Антигемостатичні, спазмолітичні та реологічні властивості секрету слинних залоз п'явок забезпечують адекватну реперфузію ураженої ділянки головного мозку [7], що, ймовірно, стимулює процеси антиокси-

дантного захисту та покращує метаболічні процеси в мозку.

Тенденція до нормалізації під впливом лікування більш виражена для продуктів ПОЛ порівняно з рівнем ОМБ. Очевидно, під впливом терапії стимулюються резерви ферментативного і неферментативного антиоксидантного захисту, що зумовлює зниження інтенсивності процесу ПОЛ. Відновлення окиснених білків практично не відбувається, а протеоліз їх знижується з віком [9]. Тому окисдаційний стрес зумовлює акумуляцію різних видів окисних модифікацій білків, які можуть бути чутливими маркерами пошкодження тканини мозку.

ВИСНОВКИ. 1. Незалежно від причини і механізму розвитку ішемічного інсульту на 1-2 добу активуються процеси ліпопероксидації та окисної модифікації білків, про що свідчить значне збільшення, порівняно з контролем, вмісту продуктів ПОЛ і ОМБ в плазмі крові.

2. Істотно вищі рівні продуктів ПОЛ і ОМБ виявлено у хворих без регресу та з подальшим незначним регресом неврологічної симптоматики.

3. Застосування гірудотерапії в комплексному лікуванні KEI сприяє ефективному відновленню неврологічного дефіциту, ймовірно пригніченню процесів ПОЛ та ОМБ, активації ферментів антиоксидантного захисту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Григорова І.А., Наврузов М.Б. Динаміка показників оксидантного гомеостазу в процесі лікування ішемічного інсульту в гострому періоді //

Український вісник психоневрології. – 2005. – 13, вип. 1 (42). – С. 14-16.

2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия голов-

ного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.

3. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопр. мед. химии.* – 1995. – **41**. – С. 24-26.

4. Зозуля Ю.А., Барабай В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание-М, 2000. – 344 с.

5. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // *Лаб. дело.* – 1989. – № 7. – С. 8-10.

6. Рябов Г.А. Азизов Ю.М., Дорохов С.И. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях // *Анест. и реаниматол.* – 2000. – № 2. – С. 72-75.

7. Селезнев К.Г. Основы клинической гирудотерапии // *Лікування та діагностика.* – 2001. – № 4. – С. 36-40.

8. Суслина З.А., Федорова Т.Н., Кистенев Б.А. и др. Динамика перекисного окисления липидов у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения ишемического характера // *Журнал неврологии и психиатрии.* – 1999. – № 7. – С. 33-36.

9. Stadtman E.R., Levine R.L. Protein oxidation // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – **899**. – P. 191-208.

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ У БОЛЬНЫХ С КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКИМ И АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Л.Т. Максимчук

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Исследована интенсивность пероксидации липидов и окисления белков плазмы крови больных в остром периоде кардиоэмболического инсульта на фоне различных вариантов терапии. Выявлено, что дополнение традиционного лечения гирудотерапией в большей мере способствовало уменьшению уровня продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, а также более эффективному восстановлению неврологического дефицита.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кардиоэмболический инсульт, перекисное окисление липидов, окисление белков, гирудотерапия.

RESEARCH OF LIPID PEROXIDATION LEVEL AND PROTEIN OXIDATION MODIFICATION AT PATIENTS WITH CARDIOEMBOLIC AND ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE

L.T. Maksymchuk

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The intensity of lipid peroxidation and plasma proteins oxidation has been explored in the acute period of cardioembolic stroke against a background of different variants of therapy. It has been revealed that traditional medical treatment with hirudotherapy in a greater measure promoted the reduction of lipid peroxidation level and protein oxidation and also more effective renewal of neurological deficit.

KEY WORDS: cardioembolic stroke, lipid peroxidation, protein oxidation, hirudotherapy.

Адреса для листування: Л.Т. Максимчук, Івано-Франківський державний медичний університет, вул. Гацилька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

ВИВЧЕННЯ АНАБОЛІЧНОЇ ДІЇ ЕКСТРАКТУ КОРЕНЕВИЩІ КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО НА МОДЕЛІ АДРЕНАЛІНОВОГО УРАЖЕННЯ СЕРЦЯ

Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, Г.Р. Козир

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено вплив екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого та його лікарської форми (таблеток) на серце при ураженні його адреналіном. Встановлено, що досліджувані об'єкти на фоні адреналінової кардіоміопатії сприяють збільшенню маси серця, вмісту загального білка у тканинах серця і глікогену в серцевому м'язі. Одержані результати свідчать про анаболічну активність біологічно активних речовин, що входять до складу екстракту пирію повзучого.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пирій повзучий, екстракт, адреналін, кардіоміопатія, серце, анаболічна активність, загальний білок.

ВСТУП. Існує багато варіантів відтворення експериментальної кардіоміопатії (інтоксикація деякими стероїдними гормонами, вплив кардіостероїдів, гістаміну, адреналіну, інфекцій). Особливий інтерес викликає вплив на міокард адреналіну і моделювання адреналінової кардіоміопатії [4].

Метою даної роботи було вивчення анаболічної дії біологічно активних речовин, що входять до складу екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого, та таблеток, виготовлених на його основі, на моделі адреналінового ураження серця.

Дана модель вибрана тому, що адреналін, проявляючи різнобічний фізіологічний і біохімічний вплив на живі організми, у великих дозах має здатність викликати катаболізм білків, який супроводжується інтенсивним виведенням з організму азотовмісних сполук із сечею [3, 6].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на щурах-самцях масою 150-180 г. Тварин поділили на 5 груп, у кожній групі було по 10 щурів. Тваринам 1-ї групи (інтактні) вводили перорально воду; 2-ї групи – одноразово внутрішньом'язово адреналін у дозі 0,5 мг на 100 г маси тіла тварини [2]. Щури 3-ї, 4-ї і 5-ї груп протягом 5-ти днів до використання ушкоджуючого агента (адреналіну) одержували, відповідно, екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого (ЕКПП) у дозі 100 мг/кг, таблетки екстракту (Т) у дозі 100 мг/кг діючої речовини, © Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, Г.Р. Козир, 2006.

препарат-референс – калію оротат (КО) у дозі 100 мг/кг маси тіла тварини. Через 24 год після введення адреналіну тварин забивали, а після декапітації визначали масу печінки і серця, вміст у досліджуваних органах загального білка (за методом Лоурі у модифікації Міллера [9]), а також вміст глікогену в тканинах серця. Для визначення глікогену використовували реактив Антрона [1].

Матеріал експерименту обробляли за методом варіаційної статистики з використанням програми "Microcal Origin". Вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані, наведені у таблиці 1, свідчать про те, що у досліджуваних тварин під впливом адреналіну спостерігалось зниження маси печінки і серця, відповідно, на 15,8 і 23,9 % порівняно з інтактними щурами. У тварин, які одержували ЕКПП, Т і КО, маса печінки практично не відрізнялась від аналогічних показників у тварин, яким вводили лише адреналін. Маса серця щурів, які отримували ЕКПП і Т, збільшувалася у середньому на 15,6 % порівняно з нелікованими тваринами. У тварин, які одержували КО, маса серця не змінювалась і залишалася такою, як у нелікованих щурів.

Результати досліджень показали, що під впливом адреналіну знижується вміст загального білка у тканинах печінки і серця. Дані, наведені у таблиці 2, свідчать про те, що у

тварин, які отримували лише адреналін, вміст загального білка у тканинах печінки знижувався на 24,9 %, а у тканинах серця – на 31,3 %. У щурів, які одержували ЕКПП, ці показники збільшувались, відповідно, на 37,7 і 46,5 %; у щурів, які одержували Т, – на 33,9 і 42,8 % порівняно з нелікованими тваринами, а у щурів, які отримували КО, цей показник був такий, як у нелікованих тварин (рис. 1). Результати досліджень, які представлені у таблиці 2, вказують на те, що під впливом адреналіну також збільшується вміст глікогену в тканинах серця (у середньому на 21,9 % порівняно з інтактними тваринами). У щурів, які одержували ЕКПП, Т і КО, вміст глікогену збільшувався, відповідно, на 41,6, 32,8 і 9,2 % порівняно з інтактними тваринами.

Під впливом адреналіну зростає вміст глікогену в тканинах серця. Припускаємо, що це пов'язано з особливостями регуляції його гідролітичного розпаду, що здійснюється за допомогою α -амілази та кислотої і нейтральної α -глюкозидази. Питання регуляції активності гідролітичних ферментів, які беруть участь у розпаді глікогену, вивчається давно. Адреналін по-різному впливає на активність α -амілази і кислотої α -глюкозидази, інгібуючи перший фермент і активуючи другий. Виявляється, адреналін, активуючи глікогеноліз за допомогою α -глюкозидази (α -амілази) у печінці, гальмує його у скелетних і серцевих м'язах. Таким чином, він задовольняє енергетичні потреби організму і збільшує вміст цього важливого енергетичного субстрату в серцевому м'язі [7].

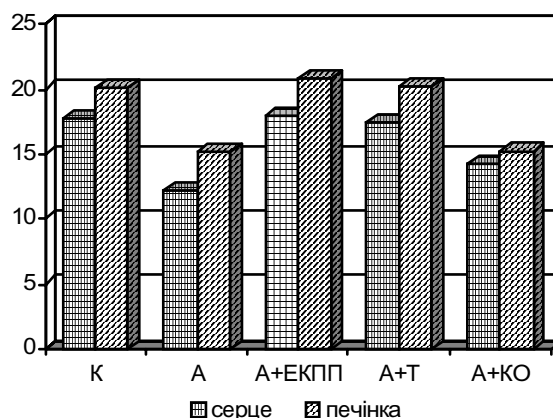


Рис. 1. Вплив ЕКПП на вміст загального білка у тканинах серця і печінки щурів за умов їх адреналінового ураження.

Вважаємо, що збільшення вмісту глікогену в серцевому м'язі під впливом ЕКПП здійснюється завдяки тому, що фруктоза, якої у досліджуваному екстракті є достатньо [5], викликає інактивацію фосфорилази й активацію глікогенсинтетази [8].

ВИСНОВОК. Проведені дослідження показали, що ЕКПП та його лікарська форма проявляють анаболічну дію, яка полягає в:

- збільшенні маси серця;
- збільшенні вмісту загального білка у тканинах печінки і серця;
- збільшенні вмісту глікогену в серцевому м'язі.

Препарат порівняння – калію оротат у даному експерименті не показав анаболічної активності.

Таблиця 1 – Вплив екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого на масу печінки і серця за умов їх адреналінового ураження ($M \pm Sx$)

Умови дослідів	n	Маса органів, г	
		Печінка	Серце
Контроль (інтактні тварини)	10	7,01±0,15	0,591±0,010
Адреналін (патологія)	10	5,90±0,17*	0,450±0,004*
Адреналін + ЕКПП	10	5,02±0,23	0,520±0,010**
Адреналін + Т	10	5,12±0,20	0,520±0,007**
Адреналін + КО	10	5,70±0,26	0,451±0,005

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – різниця достовірна порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,05$); ** – різниця достовірна порівняно з патологією ($P < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого на вміст у тканинах печінки і серця загального білка і глікогену в тканинах серця при адреналіновому ураженні ($M \pm Sx$)

Умови дослідів	n	Вміст загального білка, мг/100 мг сирової тканини		Вміст глікогену, мкг/100 мг сирової тканини серця
		Печінка	Серце	
Контроль (інтактні тварини)	10	20,12±0,80	17,80±0,22	48,8±1,5
Адреналін (патологія)	10	15,11±0,71*	12,22±0,73*	59,5±4,1*
Адреналін + ЕКПП	10	20,80±0,85**	17,90±0,54**	69,1±2,9*
Адреналін + Т	10	20,23±0,56**	17,45±0,20**	64,8±5,6*
Адреналін + КО	10	15,20±0,54	14,20±0,56	53,3±2,1

ЛІТЕРАТУРА

1. Головенко Н.Я., Карасева Т.Л. Сравнительная биохимия чужеродных соединений. – К.: Наукова думка, 1983. – 199 с.
2. Данилова К.М. О сущности экспериментального адреналинового миокардита //Архив патологии. – 1961. – **23**, № 11. – С. 11-18.
3. Кучеренко Н.Е., Германюк Я.Л., Васильев А.Н. Молекулярные механизмы гормональной регуляции обмена веществ. – К.: Вища школа, 1986. – 247 с.
4. Маркова О.О., Попович І.Л., Церковнюк А.В., Бариліак Л.Г. Адреналінова міокардіодистрофія і реактивність організму – К.: Комп'ютерпрес, 1997. – 126 с.
5. Марчишин С.М. Фармакологічні властивості біологічно активних речовин, що входять до складу пірїю повзучого (*Agropyron repens L.*) // Фармацевтичний журнал. – 2004. – № 2. – С. 31-39.
6. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. – М.: Наука, 1981. – 253 с.
7. Розенфельд Е.Л., Попова И.А. Врожденные нарушения обмена гликогена. – М.: Медицина, 1989. – С. 3-87.
8. Gergely P., Toth B., Bot G. Effect of fructose-1-phosphate on the activation of liver glycogen synthase // Biochem. J. – 1985. – **232**. – P. 133-137.
9. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. – 1959. – № 5. – P. 964-966.

ИЗУЧЕНИЕ АНАБОЛИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО НА МОДЕЛИ АДРЕНАЛИНОВОГО ПОРАЖЕНИЯ СЕРДЦА

Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, Г.Р. Козыр

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено влияние экстракта корневищ и корней пырея ползучего и его лекарственной формы (таблеток) на сердце при поражении его адреналином. Установлено, что исследуемые объекты на фоне адреналиновой кардиомиопатии способствуют увеличению массы сердца, содержания общего белка в тканях сердца и гликогена в сердечной мышце. Полученные результаты свидетельствуют об анаболической активности биологически активных веществ, которые входят в состав экстракта пырея ползучего.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пырей ползучий, экстракт, адреналин, кардиомиопатия, сердце, анаболическая активность, общий белок.

INVESTIGATION OF ANABOLIC ACTIVITY OF RHIZOMES AND ROOT EXTRACT OF COUCH-GRASS ON THE ADRENALINE HEART INJURY MODEL

L.V. Yakovlieva, S.M. Marchyshyn, H.R. Kozyr

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The influence of the extract of couch-grass rhizomes and roots and its pharmaceutical form (tablets) on heart during adrenaline injury was studied. It was determined that the investigated objects during adrenaline cardiomyopathy increased mass of heart, concentration of general protein and glycogen in heart tissues. The data obtained prove the anabolic activity of biologically active substances that are present in couch-grass extract.

KEY WORDS: couch-grass, extract, heart, adrenaline, cardiomyopathy, heart, anabolic action, general protein.

Адреса для листування: С.М. Марчишин, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ПОЄДНАНУ ПАТОЛОГІЮ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

Т.В. Лихацька

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено динаміку показників ендогенної інтоксикації у хворих на поєднану патологію органів травлення під впливом адекватної терапії. Виявлено, що поєднання хронічного гастродуоденіту, хронічного панкреатиту та хронічного гепатиту сприяє поглибленню токсемії. Призначення адекватної терапії призводить до зниження рівня маркерів ендотоксикозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний гастродуоденіт, хронічний панкреатит, хронічний гепатит, ендогенна інтоксикація, молекули середньої маси.

ВСТУП. Актуальність проблем сучасної гастроентерології спричинена підвищенням захворюваності та поширеності патології органів травлення, її прогресуючим перебігом, що призводить до погіршення якості життя, інвалідизації і смерті хворих. Патологія травного тракту займає значне місце в структурі хвороб внутрішніх органів і навряд чи поступається серцево-судинній патології. Навіть за далеко не повними статистичними даними відносно структури кількісних показників, слід зазначити, що кількість хворих з гастроентерологічною патологією дуже велика, причому вона продовжує збільшуватись. Так, за останні 5 років захворюваність органів травлення зросла на 24 % [10].

За сучасними уявленнями, перебіг хронічних захворювань органів травлення визначається певною мірою розвитком ендогенної інтоксикації (ЕІ), яку можна охарактеризувати як неспецифічний, за більшістю клінічних і біохімічних проявів, синдром, що супроводжується невідповідністю між утворенням і виведенням як продуктів нормального обміну, так і речовин спотвореного метаболізму [3, 5, 8, 11]. За даними багатьох авторів [2, 4, 6, 7], до таких речовин належать так звані молекули середньої маси (МСМ) – сполуки з відносною молекулярною масою 300-5000, найважливіші індуктори ендотоксикозу і неспецифічні маркери ЕІ будь-якого походження. МСМ визначають темп розвитку синдрому ЕІ внаслідок їх впливу на основні гомеостатичні системи. Тому метою нашого дослідження було вивчити зміни по-

казників ендогенної інтоксикації у хворих з поєднаною патологією органів травлення та запропонувати їх корекцію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 68 хворих віком від 20 до 70 років на поєднану патологію органів травлення, в яких не було тяжкої супровідної патології, що могла б вплинути на показники ЕІ. Серед них у 20 обстежених діагностували гелікобактерзалежний хронічний гастродуоденіт (ХГД), у 22 пацієнтів – ХГД у поєднанні з хронічним панкреатитом (ХП) та у 26 хворих – ХГД з ХП на тлі хронічних гепатитів (ХГ). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

У всіх хворих, крім загальноприйнятих інструментально-лабораторних обстежень, проводили денситометрію, визначали вміст МСМ (МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀) методом непрямой спектрофотометрії (Габріелян і співавт.) та рівень ЕІ (РЕІ) за сорбційною здатністю мембран еритроцитів за А.А. Тогайбаєвим [1, 9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У всіх обстежених пацієнтів, незалежно від нозологічної одиниці, відмічали підвищення показників ЕІ ($p < 0,05$). При цьому поєднання захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) призводило до поглиблення токсемії. Так, у хворих на ХГД у поєднанні з ХП рівень МСМ₂₅₄ зріс на 12,5 %, МСМ₂₈₀ – на 9,5 % порівняно з пацієнтами з ХГД ($p < 0,05$), а у хворих на ХГД і ХП на тлі ХГ мав місце вищий рівень МСМ₂₅₄ на 25,4 і 11,5 %, МСМ₂₈₀ – на 17,8 та 7,5 %, ніж у обстежених із

Таблиця 1 – Показники EI у хворих на поєднану патологію органів травлення (M±m)

Група обстежених		MCM ₂₅₄ , ум. од.	MCM ₂₈₀ , ум. од.	PEI, %
Хворі на ХГД (n=20)		478,95±2,08	220,96±1,39	36,80±2,11
	p ₁	<0,05	<0,05	<0,05
Хворі на ХГД у поєднанні з ХП (n=22)		538,81±8,61	241,98±4,6	41,81±0,89
	p ₁	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₂	<0,05	<0,05	<0,05
Хворі на ХГД і ХП на тлі ХГ (n=26)	Хворі на ХГД і ХП на тлі ХВГ (n=14)	630,71±5,4	268,10±6,22	47,91±0,90
	Хворі на ХГД і ХП на тлі НРГ (n=12)	580,55±4,8	252,35±4,21	44,32±0,70
	Всього	600,63±6,7	160,23±3,68	46,11±0,91
	p ₁	<0,05	<0,05	<0,05
	p ₂	<0,05	<0,05	<0,05
Контрольна група (n=20)		334,13±2,64	161,50±2,16	27,25±1,22

Примітка. p₁ – достовірність різниці між показниками хворих на ХГД і контрольної групи; p₂ – достовірність різниці між показниками хворих на ХГД у поєднанні з ХП і хворих на ХГД; p₃ – достовірність різниці між показниками хворих на ХГД і ХП на тлі ХГ і хворих на ХГД у поєднанні з ХП.

Таблиця 2 – Динаміка показників EI у хворих на поєднану патологію органів травлення під впливом лікування (M±m)

Група обстежених		MCM ₂₅₄ , ум. од.	MCM ₂₈₀ , ум. од.	PEI, %
Хворі на ХГД (n=20)	1	478,95±2,08	220,96±1,39	36,81±2,11
	2	435,39±3,12	190,81±1,41	31,92±1,91
	p	<0,05	<0,05	<0,05
Хворі на ХГД в поєднанні з ХП (n=22)	1	538,81±8,61	241,98±4,61	41,81±0,89
	2	509,98±7,11	206,18±3,96	37±0,99
	p	<0,05	<0,05	<0,05
Хворі на ХГД і ХП на тлі ХГ (n=26)	1	600,63±6,71	260,23±3,68	46,11±0,91
	2	550,10±4,82	225,18±4,11	40,32±0,88
	p	<0,05	<0,05	<0,05
Контрольна група (n=20)		334,13±2,64	161,50±2,16	27,25±1,22

Примітка. 1 – показники хворих до лікування; 2 – показники хворих після лікування; p – достовірність різниці між показниками до та після лікування.

ХГД та з ХГД і ХП (p<0,05). Аналіз впливу етіологічного фактора вірусних гепатитів на розвиток EI показав, що при вірусній етіології гепатитів спостерігався вищий рівень токсемії, ніж у хворих на неспецифічний реактивний гепатит (НРГ): MCM₂₅₄ – на 6,9 %, MCM₂₈₀ – на 6,2 %, PEI – на 8,1 % (табл. 1).

Базисна терапія включала призначення антигелікобактерної терапії (за наявності ХГД), замісної ферментної терапії (ХП), дезінтоксикаційних і гепатопротекторних медикаментозних засобів. Лікування хворих було максимально стандартизованим.

Аналіз отриманих даних показав, що адекватна терапія призводить до зниження токсемії, але не ліквідує її, оскільки рівень показників EI залишається вищим, ніж у хворих контрольної групи (p<0,05).

Так, рівень MCM₂₅₄, MCM₂₈₀ та PEI після адекватного лікування у хворих на ХГД знизився на 9,1, 19,8 і 13,3 % відповідно, у хворих на ХГД у поєднанні з ХП – на 5,4 %, 14,8 % і 10,8 %, у хворих на ХГД і ХП на тлі ХГ – на 8,4, 14,5 і 12,6 %.

Можна припустити, що адекватна терапія призводить до зменшення утворення MCM в організмі та, як результат цього, до нормалізації рівноваги між процесами анаболізму і катаболізму, що знижує ймовірність ураження токсичними метаболітами органів та сприяє активізації детоксикаційних властивостей організму.

ВИСНОВКИ. 1. Захворювання шлунково-кишкового тракту супроводжуються розвитком синдрому ендогенної інтоксикації, на що вказує підвищення рівня MCM₂₅₄, MCM₂₈₀ і PEI в крові, причому наявність поєднаної патології сприяє поглибленню токсемії.

2. Проведення адекватної терапії сприяє зниженню показників ендогенної інтоксикації.

3. Зміни показників ендогенної інтоксикації у хворих на поєднану патологію органів травлення під впливом адекватної терапії можуть використовуватися як показник ефективності лікування, що обґрунтовує застосування їх у клінічній практиці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Бех М.Д., Дем'яненко В.В. та ін. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: Методичні рекомендації. – Тернопіль, 1998. – С. 31.
2. Афанасьева А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 6. – С. 11-12.
3. Бакалюк О.Й., Панчишин Н.Я., Дзига С.В. Синдром эндогенной интоксикации, механизм возникновения, методы идентификации // Вісник наукових досліджень. – 2000. – № 1. – С. 11-13.
4. Лобода В.Ф. Місце синдрому ендогенної інтоксикації при хронічному гастродуоденіті у дітей // Збірник науково-практичної конференції "Ендогенна інтоксикація та її корекція в педіатрії". – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 36-37.
5. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия. – 2000. – 6, № 4. – С. 3-14.
6. Отченашенко В.А. Вираженість ендогенної інтоксикації та змін мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на цукровий діабет // Вісник наукових досліджень. – 2003. – № 3. – С. 52-54.
7. Сміян С.І., Барладин О.Р., Цяпа Ю.М., Ясніцька Н.Я. Синдром ендогенної інтоксикації як маркер важкості перебігу бронхіальної астми / Тези Всеукраїнської науково-практичної конференції "Актуальні питання теоретичної та практичної медицини". – Суми, 2002. – С. 67-68.
8. Суровкина М.С., Полякова С.И., Урсова Н.И., Ананьева Е.Н. Особенности характера изменений уровня молекул средней массы плазмы крови при хронических панкреатитах у детей // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 11. – С. 7-8.
9. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. – 1998. – № 9. – С. 22-24.
10. Харченко Н.В. Деякі проблеми сучасної гастроентерології // Український мед. часопис. – 2003. – № 5 (37). – С. 66-71.
11. Шейман Б.С., Трещинский А.И. Взгляд на проблему токсикоза и интоксикации // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 1. – С. 3-10.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Т.В. Лихацкая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено динамику показателей эндогенной интоксикации у больных сочетанной патологией органов пищеварения под влиянием адекватной терапии. Выявлено, что сочетание хронического гастродуоденита, хронического панкреатита и хронического гепатита содействует углублению токсемии. Назначение адекватной терапии приводит к снижению уровня маркеров эндотоксикоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический гастродуоденит, хронический панкреатит, хронический гепатит, эндогенная интоксикация, молекулы средней массы.

CHANGES OF ENDOGENIC INTOXICATION PARAMETERS IN PATIENTS WITH COMBINED PATHOLOGY OF DIGESTIVE TRACT AND THEIR CORRECTION

T.V. Lykhatska

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

We studied the influence of adequate treatment on parameters of endogenous intoxication in patients with combined pathology of the digestive tract. It was revealed that combination of chronic gastroduodenitis, chronic pancreatitis and chronic hepatitis promotes the deepening of toxemia. Prescription of adequate treatment results in decreasing the level of markers of endogenous intoxication.

KEY WORDS: chronic gastroduodenitis, chronic pancreatitis, chronic hepatitis, endogenous intoxication, molecules of medium mass.

Адреса для листування: Т.В. Лихацька, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ФЕРМЕНТАТИВНА ЛАНКА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА СЕЧОСТАТЕВИЙ ХЛАМІДІОЗ ЯК ПОКАЗНИК РІВНЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Т.Є. Дасюк

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази вивчали у 43 пацієнтів із сечостатевим хламідіозом. Отримані результати свідчать про доцільність визначення активності супероксиддисмутази та каталази для діагностики, лікування і прогнозування перебігу сечостатевого хламідіозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, супероксиддисмутаза, каталаза, сечостатевий хламідіоз.

ВСТУП. На сьогодні кількість захворювань, що передаються статевим шляхом (ЗПСШ), зростає не тільки в усьому світі, але й в Україні, та, за даними ВООЗ, має "епідемічний характер" [3, 8, 14]. Урогенітальний хламідіоз, зумовлений *Chlamydia trachomatis*, широко розповсюджений у людській популяції, має серйозні наслідки для здоров'я чоловіків, жінок, дітей і здатний викликати безсимптомну або тривало персистентну інфекцію [7, 9, 16]. Численні дослідження останніх років показали, що хламідіоз перебігає переважно не як моноінфекція, а у вигляді змішаних форм захворювання, які важко піддаються лікуванню, часто рецидивують, супроводжуючись тяжкими ускладненнями [6, 10, 15].

Останнім часом теорія вільнорадикального генезу різноманітних станів в організмі людини не тільки не втратила значення, але і постійно доповнюється новими даними, що підкреслюють її актуальність. Одержані дані свідчать про те, що при хронічному запаленні різної природи (вірусної, бактеріальної, в тому числі хламідійної) спостерігається генерація вільних радикалів кисню ("респіраторний спалах"), що призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і, як наслідок, до руйнування клітинних мембран. Утворені активні форми кисню (АФК) проявляють бактерицидну дію і руйнують мікробні нуклеїнові кислоти, білки та ліпіди. При надмірній кількості АФК фагоцитоз може спричинити пошкодження клітин господаря, для попередження чого в клітинах існує система антиоксидантного захисту (АОЗ). Активація ліпопероксидації у

© Т.Є. Дасюк, 2006.

мембранах імунокомпетентних клітин внаслідок хламідійної інфекції є одним із механізмів, що впливає на функціональний стан цих клітин, та може сприяти виникненню ускладнень, торпідності перебігу процесу, виникненню персистенції інфекції [4]. У хворих на сечостатевий хламідіоз відбувається порушення балансу прооксидантно-антиоксидантної системи [12], тому для нормального функціонування організму необхідно підтримувати вільнорадикальні реакції на певному стаціонарному рівні. Це завдання виконує система АОЗ, яка контролює рівень вільнорадикальних реакцій окиснення і запобігає накопиченню в організмі їх токсичних продуктів [17]. До першої лінії захисту від активних радикалів кисню входять антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КТ) та глутатіонпероксидаза (ГП), які містяться та спільно функціонують у клітинних мембранах. Початкові стадії вільнорадикального процесу контролюються СОД, яка дезактивує супероксидний радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект кисню. Пероксид водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніона, розкладається каталазою. Гідропероксида ліпідів відновлюються глутатіонпероксидазою [2]. Тому дослідження стану ПОЛ і системи АОЗ необхідно вивчати на етапах діагностики, лікування та прогнозування перебігу патології в організмі людини, зокрема сечостатевого хламідіозу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідження було включено 43 хворих на сечостатевий хламідіоз (27 жінок і 16 чоловіків) віком від 18 до 47 років, з них моноінфекція спостерігалась

Таблиця 1 – Активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази у хворих на сечостатевої хламідіоз

Показник	Групи		
	1-ша	2-га	3-тя
СОД, % блок.	51,2±3,1	42,7±2,4	41,7±3,0
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв·мг Нb	73,5±4,2	53,7±4,1	49,3±3,7
ГП, мкмоль/мл·хв	5,9±0,77	4,81±0,82	4,54±0,71

Примітка. p<0,05.

у 17 осіб. У 26 хворих виявлено асоціацію хламідій з низкою інших збудників сечостатевих інфекцій, зокрема мікоплазмами, уреоплазмами, вірусом простого герпесу II типу і т. ін. Усіх пацієнтів було поділено на 3 групи. 1-шу групу (контрольну) склали 10 практично здорових донорів, 2-гу – 19 хворих з хламідійною інфекцією із безсимптомним перебігом захворювання, 3-тю – 24 хворих із ускладненим сечостатевим хламідіозом. Для виявлення хламідійної інфекції застосовували: метод Романовського-Гімзи, імуноферментний аналіз (ІФА) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) [1].

Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.11) визначали методом, що ґрунтується на відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами [13]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) вимірювали за швидкістю розщеплення пероксиду водню [5]. Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю зниження концентрації відновленої форми глутатіону [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Ефективне знешкодження супероксидного радикала та пероксиду водню робить майже неможливим утворення третього – гідроксильного – радикала, який здатний активно взаємодіяти з різними макромолекулами – ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, викликаючи структурні й функціональні негативні зміни. І чим нижча швидкість утворення супероксидного радикала та пероксиду водню, тим менша ймовірність ініціації формування ще більш активних радикалів, таких, як гідроксильний радикал або синглетна форма кисню.

ЛІТЕРАТУРА

1. Возианов А.Ф., Кашенко В.В., Дранник Г.Н. і др. Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза: Методические рекомендации. – К., 2002. – 18 с.
2. Гончарук Є.І., Коршун М.М. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля // Журнал АМН України. – 2004. – № 1. – С. 131-150.

Результати досліджень свідчать про доцільність визначення в крові пацієнтів із сечостатевим хламідіозом активності СОД та КТ. Це дозволяє не тільки отримати індивідуальну інформацію про швидкість утворення активних кисневих радикалів, але і провести індивідуальну корекцію процесів вільнорадикального окиснення. Очевидно, безконтрольна терапія антиоксидантами, враховуючи можливі варіанти антирадикального захисту, не завжди виправдана, а часом і шкідлива. Необхідно враховувати, що надлишкова нейтралізація радикалів і метаболітів ПОЛ може викликати негативні наслідки, бо метаболіти пероксидації ліпідів за умов фізіологічної норми беруть активну участь у регуляції функціонування таких реакцій, як фагоцитоз, імунний статус, апоптоз і т. ін. Отримані результати представлено в таблиці 1.

Таким чином, у результаті проведених досліджень отримано нові та цінні дані про закономірності перебігу біохімічних процесів в організмі пацієнтів із сечостатевим хламідіозом. Факти, що пояснюються і збігаються з повідомленнями та висновками інших дослідників, мають як суто наукове, так і практичне значення, зокрема для дерматовенерології.

ВИСНОВКИ. 1. Для отримання інформації про вільнорадикальний статус у хворих на сечостатевий хламідіоз достатньо визначити активність двох ферментів системи АОЗ: СОД та КТ.

2. Отримані дані можуть бути використані при розробці патогенетичної терапії шляхом застосування антиоксидантів у лікуванні пацієнтів із сечостатевим хламідіозом.

3. Гурженко Ю.Н. Клиническое изучение эффективности использования препарата Зиквин в терапии урогенитального хламидиоза // Здоровье мужчины. – 2005. – № 3. – С. 183-186.

4. Кондакова А.К., Мавров Г.І., Семко Г.О. та ін. Перекисне окиснення ліпідів та стан деяких факторів неспецифічного захисту організму у чоловіків, хворих на сечостатевий хламідіоз // Мед. хімія. – 2003. –

№ 1. – С. 13-16.

5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

6. Лебедюк М.М., Шеремета В.В., Бардов П.В. та ін. Етіопатогенез, клінічний перебіг і сучасні підходи до лікування та трактування контролю вилікування від хламідійної уrogenітальної інфекції // Укр. журн. дерматології, венерології, косметології. – 2001. – № 2-3. – С. 89-92.

7. Мавров Г.І., Чінов Г.П. Персистентна хламідійна інфекція: визначення поняття та наукове і практичне значення // Інфекційні хвороби. – 2003. – № 4. – С. 62-67.

8. Мавров И.И. Дерматология и венерология в контексте общемедицинских проблем в Украине // Дерматология та венерология. – 2005. – № 4. – С. 3-10.

9. Мавров И.И. Хламидийная инфекция: клинические проявления и характер осложнений // Дерматология та венерология. – 2005. – № 4. – С. 42-45.

10. Мавров І.І. Соціальні та медичні аспекти хламідійної інфекції // Інфекційні хвороби. – 2004. – № 2. – С. 5-11.

11. Моин В.И. Простой и специфический метод

определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-726.

12. Нагорний О.Є. Комплексне лікування хворих на генітальний хламідіоз з урахуванням стану неспецифічних факторів захисту організму: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Харків, 2003. – 16 с.

13. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

14. Чінов Г.П. Клинико-эпидемиологическая характеристика генитального хламидиоза в Украине // Дерматология та венерология. – 2004. – № 1. – С. 85-89.

15. Якімова Т.П., Божко Н.О., Якімов Д.Ю. та ін. Клініко-морфологічні аспекти діагностики хламідіозу // Лаб. діагностика. – 2005. – № 1. – С. 53-58.

16. Kei Namazaki, Hideoni Asanuma, Yuichi Niida. Chlamydia trachomatis infection in early neonatal period // BMC Infectious Diseases. – 2003. – 3, № 2.

17. Surech C. Sikka. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function // Frontiers in Bioscience. – 1996. – № 1. – P. 78-86.

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ЗВЕНО АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ МОЧЕПОЛОВЫМ ХЛАМИДИОЗОМ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ УРОВНЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Т.Е. Дасюк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

Активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы изучали у 43 пациентов с мочеполовым хламидиозом. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности определения активности супероксиддисмутазы и каталазы для диагностики, лечения и прогнозирования течения мочеполового хламидиоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, каталаза, мочеполовой хламидиоз.

ENZYMATIC LINK OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH UROGENITAL CHLAMYDIOSIS AS INDICATOR OF OXIDATIVE STRESS LEVEL

T.Y. Dasyuk

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase was studied in 43 patients with urogenital chlamydiosis. The obtained results revealed that the estimation of superoxide dismutase and catalase activity is a valuable tool for diagnostics, treatment and prognosis of urogenital chlamydiosis course.

KEY WORDS: lipid peroxidation, antioxidant system, superoxide dismutase, catalase, urogenital chlamydiosis.

Адреса для листування: Т.Є. Дасюк, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

ГЕМОЛІЗ ЯК ФАКТОР АКТИВАЦІЇ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В РІЗНИХ ТКАНИНАХ ЩУРІВ

О.В. Павиченко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено деякі механізми пошкодження серця, судин і легень за умов розвитку гемолітичної анемії після введення $CdCl_2$ (1,4 мг/100 г). Встановлено, що введення $CdCl_2$ супроводжується накопиченням гемму в серці, судинах і легенях щурів, що є причиною активації вільнорадикального окиснення в цих тканинах, а також пошкодження серцевого м'яза. Попереднє введення унітіолу повністю попереджує розвиток гемолітичної анемії, а також накопичення вільного гемму в тканинах і, як наслідок, активацію вільнорадикального окиснення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоліз, гем, анемія, вільні радикали, $CdCl_2$.

ВСТУП. Гемолітичні процеси з подальшим розвитком анемії в організмі є досить розповсюдженим явищем і можуть спостерігатися як за дії на організм різних стресорних агентів, так і внаслідок деяких захворювань, що, зрештою, супроводжується розвитком гіпоксії в різних органах і тканинах, перш за все міокарді [3, 4]. Деякі анемії, спричинені внутрішньосудинним гемолізом, супроводжуються накопиченням у кров'яному руслі й тканинах різних органів вільного гемму [8]. Вільний гем здатний проявляти прооксидантні властивості й спричиняти активацію вільнорадикального окиснення (ВРО) в крові. Сукупність наявних на сьогодні даних дозволяє стверджувати, що загальним етіопатогенетичним фактором багатьох захворювань, зокрема серцево-судинної системи і легень, є накопичення вільних радикалів [6]. Однак причини і механізми виникнення вільних радикалів за дії багатьох токсичних агентів, фармацевтичних препаратів, а також при різноманітних патологіях досі залишаються суперечливими і нез'ясованими [2, 3, 4, 7]. Тому дослідження впливу гемолітичних агентів на стан серцево-судинної системи і легень, причин утворення активних форм кисню, їх пошкоджувальної дії на клітини серця, судин і легень, а також пошук нових лікарських препаратів, що перешкоджають активації ВРО, є вкрай актуальними. Відомо, що за введення $CdCl_2$ спостерігається потужний внутрішньосудинний гемоліз із накопиченням вільного гемму в кров'яному руслі [8]. Дані літератури щодо механізмів пошкоджувальної

дії $CdCl_2$, а також зв'язок гемолітичної анемії з ВРО в серці, судинах і легенях не вивчено. Метою даної роботи було дослідження впливу гемолізу, спричиненого введенням $CdCl_2$ і ФГ, на стан ВРО в крові, серці, судинах і легенях щурів, а також вивчення можливого попередження пошкодження досліджуваних тканин за умов попереднього введення унітіолу (УТ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на 80 щурах-самцях лінії Вістар відповідно до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, використаних в експериментальних та наукових цілях. $CdCl_2$ вводили підшкірно одноразово (1,4 мг/100 г), УТ – внутрішньоочеревинно (25 мг/100 г) за 0,5 год до основного впливу. Тварин декапітували під ефірним наркозом через 0,5, 2, 6 та 24 год після основного впливу. Наявність анемії визначали за вмістом гемоглобіну в крові гемоглобінціанідним методом за допомогою стандарт-набору "Lachema". Вміст загального гемму в сироватці крові, гомогенатах серця, судин і легень – піридингемохромним методом [5]. Про активацію ВРО судили за вмістом ТБК-активних продуктів у сироватці крові, серці, судинах і легенях [1]. Пошкодження серцевого м'яза визначали за активностями аспартат-амінотрансферази (АСТ) і креатинфосфокінази (КФК) у сироватці крові за допомогою тест-наборів "Біокон" та "Lachema". Вміст білка – методом Лоурі в модифікації Міллера. Статистично результати обробляли за допомогою методу непараметричної статистики з використанням критерію U Манна-Уїтні-Вілкоксона.

© О.В. Павиченко, 2006.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що введення CdCl₂ спричиняє розвиток гемолітичної анемії, про що свідчать зниження рівня гемоглобіну (Гб) в крові та підвищення вмісту загального гемму в сироватці крові (табл. 1). Вільний гем володіє прооксидантними властивостями [8], що підтверджується даними про збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові після введення CdCl₂, а активація ВРО в сироватці корелює з накопиченням продуктів гемолізу (r=0,83).

Надлишкове накопичення вільного гемму в кров'яному руслі внаслідок гемолізу спричиняє надходження його до клітин різних органів, тому отримані в роботі дані про збільшення вмісту загального гемму в серці, судинах і легенях щурів після введення CdCl₂ (табл. 2) можуть бути пояснені надходженням до цих органів гемму лізованих еритроцитів з кров'яного

русла. Накопичення вільного гемму в досліджуваних органах зумовлює накопичення активних форм кисню і, як наслідок, активацію ВРО, що, у свою чергу, призводить до пошкоджень різних біомолекул, надмолекулярних комплексів і навіть цілих клітин. Пошкодження серцевого м'яза за умов накопичення гемму в клітинах цього органа підтверджується даними стосовно підвищення активності АСТ і КФК у сироватці – маркерів пошкодження серцевого м'яза (табл. 3). Показано, що попереднє введення УТ попереджує гемоліз еритроцитів і, як наслідок, розвиток анемії (див. табл. 1). Крім того, при сумісному введенні УТ і CdCl₂ вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові не відрізняється від контрольних значень (див. табл. 1), що свідчить про нормалізацію ВРО в крові. Попереднє введення УТ попереджує накопичення гемму в серці, судинах і легенях щурів

Таблиця 1 – Вплив попереднього введення УТ на вміст Гб у крові (г/л крові), загального гемму (нмоль гемму/л сироватки) і ТБК-активних продуктів (нмоль ТБК-акт.пр./л сироватки) в сироватці крові щурів за дії CdCl₂ (M±m, n=5-7)

Час	Вплив	Гемоглобін	Гем	ТБК-акт.пр.
2 год	Контроль	149,4±5,5	9,48±1,61	4,736±0,186
	CdCl ₂	116,7±4,1*	19,13±3,39*	5,846±0,318*
	CdCl ₂ +УТ	152,1±3,6	9,04±1,64	4,813±0,287
	УТ	143,2±9,3	9,87±1,07	4,702±0,584
6 год	CdCl ₂	110,7±4,2*	27,05±7,35*	6,394±0,426*
	CdCl ₂ +УТ	149,7±4,0	8,77±1,84	4,803±0,447
	УТ	150,9±5,2	9,74±1,00	4,485±0,325
24 год	CdCl ₂	154,9±4,5	31,58±6,42*	6,923±0,586*
	CdCl ₂ +УТ	151,9±5,6	13,46±2,68	4,496±0,394
	УТ	144,9±3,5	9,96±1,13	4,314±0,570

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 2 – Вплив попереднього введення УТ на вміст гемму і ТБК-активних продуктів у серці (1), судинах (2) і легенях (3) щурів за дії CdCl₂ (M±m, n=5-7)

Орган	Контроль	Час дії					
		2 год		6 год		24 год	
		CdCl ₂	CdCl ₂ +УТ	CdCl ₂	CdCl ₂ +УТ	CdCl ₂	CdCl ₂ +УТ
Вміст загального гемму (нмоль гемму/мг білка)							
(1)	2,01±0,17	3,37±0,39*	2,23±0,20	3,59±0,40*	2,25±0,33	3,34±0,61*	2,15±0,24
(2)	1,81±0,31	3,00±0,10*	1,78±0,37	4,28±0,52*	1,83±0,36	3,78±0,57*	2,04±0,42
(3)	1,54±0,23	2,27±0,89	1,98±0,35	6,04±1,58*	1,89±0,33	11,2±1,85*	2,04±0,34
Вміст ТБК-активних продуктів (нмоль ТБК-активних продуктів/мг білка)							
(1)	0,13±0,02	0,19±0,01*	0,13±0,01	0,19±0,01*	0,13±0,02	0,18±0,02*	0,12±0,01
(2)	0,28±0,02	0,46±0,04*	0,26±0,04	0,58±0,07*	0,24±0,02	0,33±0,08*	0,28±0,02
(3)	0,26±0,04	0,24±0,03	0,23±0,02	0,27±0,04	0,25±0,02	0,55±0,07*	0,25±0,03

Таблиця 3 – Активності АСТ і КФК у сироватці крові щурів при введенні CdCl₂ та за умов попереднього введення УТ (M±m, n=4-6)

Час	Вплив	АСТ	КФК
6 год	Контроль	256±79	215±56
	CdCl ₂	1200±132*	800±78*
	CdCl ₂ +УТ	238±65	241±64
	УТ	278±52	235±41
24 год	CdCl ₂	1980±254*	1575±230*
	CdCl ₂ +УТ	286±64	236±65
	УТ	264±69	248±43

після введення CdCl_2 , а також нормалізацію ВРО у цих тканинах внаслідок відсутності гемолізу. У зв'язку з нормалізацією ВРО в серці за умов сумісного введення УТ і CdCl_2 , пошкодження серцевого м'яза не спостерігається, про що свідчать контрольні значення активностей АСТ і КФК у сироватці за цих умов.

ВИСНОВОК. Пошкодження серцево-судинної системи і легень за умов розвитку гемолітичної анемії при введенні CdCl_2 зумовлено активацією ВРО в цих тканинах внаслідок гемолізу і надходження гему з кров'яного русла. УТ здатний запобігати цим змінам, попереджуючи гемолиз, спричинений CdCl_2 .

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы. – С.Пб.: ИКФ "Фолиант", 2001. – 232 с.
2. Balaraman R., Gulati O.D. Cadmium-induced hypertension in rats // *Pharmacology*. – 1989. – **38**, № 4. – P. 226-234.
3. Cavalca V., Cighetti G. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease // *Clin. Chem.* – 2001. – № 47. – P. 887-892.
4. Griffiths M.J., Ndungu F. Oxidative stress and erythrocyte damage in children with *Plasmodium falciparum* malaria // *Br. J. Haematol.* – 2001. – **113**, № 2. – P. 486-491.
5. Paul K.G., Theorel H., Akeson A. The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin // *Acta Chem. Scand.* – 1953. – **7**, № 9. – P. 1284-1287.
6. Poppel G., Kardinaal A. Antioxidants and coronary heart disease // *Ann. Med.* – 1994. – **26**, № 6. – P. 429-434.
7. Sarcar S. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues // *J. Trace. Elem. Med. Biol.* – 1995. – **9**, № 3. – P. 144-149.
8. Wagener F.A.D.T.G.A. Heme is potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase // *Blood*. – 2001. – № 6. – P. 1802-1811.

ГЕМОЛИЗ КАК ФАКТОР АКТИВАЦИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В РАЗНЫХ ТКАНЯХ КРЫС

О.В. Павиченко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучены некоторые механизмы повреждения сердца, сосудов и легких при развитии гемолитической анемии после введения CdCl_2 (1,4 мг/100 г). Установлено, что введение CdCl_2 сопровождается накоплением гема в сердце, сосудах и легких крыс, что является причиной активации свободнорадикального окисления в этих тканях, а также повреждения сердечной мышцы. Предварительное введение унитиола полностью предупреждает развитие гемолитической анемии, а также накопление свободного гема в тканях и, как следствие, активацию свободнорадикального окисления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемолиз, гем, анемия, свободные радикалы, CdCl_2 .

HEMOLYSIS AS THE FACTOR OF FREE RADICAL OXIDATION ACTIVATION IN DIFFERENT RAT TISSUES

O.V. Pavychenko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

Some mechanisms of heart, vessels and lung damage under hemolytic anemia development after CdCl_2 injection (1,4 mg/100 g) were studied. The introducing of CdCl_2 was shown to be accompanied by heme accumulation in different rat tissues that causes the free radical oxidation activation and heart muscle damage. Unithiol injection prevents completely both the hemolytic anemia development and the free radical oxidation activation.

KEY WORDS: hemolysis, heme, anemia, free radicals, CdCl_2 .

Адреса для листування: О.В. Павиченко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВІТАМІННОГО СКЛАДУ ТА ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ У НАДЗЕМНІЙ ЧАСТИНІ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ

П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті наведено результати фітохімічних досліджень свіжої, сухої та ліофілізованої трави конюшини лучної. Виявлена значна кількість вітамінів та флавоноїдів у конюшині лучній дає можливість створювати на їх основі біологічно активні добавки для застосування в клініці різних патологій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: конюшина лучна, вітаміни, антиоксиданти, синглетний кисень, біологічно активні речовини.

ВСТУП. Аналіз лікарських засобів рослинного походження показав, що за останнє десятиріччя їх кількість значно збільшилася. Причиною такого явища є створення і детальне вивчення препаратів на основі лікарських рослин. Проте вітчизняна фармацевтична промисловість недостатньо забезпечує населення фітопрепаратами. На сьогодні лікарські форми з конюшини лучної на фармацевтичному ринку України відсутні, незважаючи на достатню ресурсну базу конюшини як сировини для виробництва готових лікарських форм [10, 11].

Конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.) належить до родини бобових (*Fabaceae*). Це багаторічна трав'яниста рослина висотою 15-20 см зі стрижневим кореневищем. Вивчають її хімічний склад, виділяють біологічно активні речовини та досліджують їх властивості в біологічних експериментах на тваринах.

З лікувальною метою використовують квіткові головки та листки рослини [2].

Встановлено, що надземна частина конюшини лучної містить аспарагін, тирозин, гіпоксантин та ксантин, аскорбінову кислоту, пігменти [9]. Головки використовують разом із верхніми листками, які зібрані під час цвітіння (з весни до осені). Квітки та листки червоної конюшини з давніх часів використовуються травниками як джерело багатьох мікро- та макроелементів (магній, кальцій, хром, залізо, мідь, фосфор), а також вітамінів А, С та комплексу вітамінів групи В. У квітках конюшини лучної виявлено глікозиди трифолін та ізотрифолін, смоли та 0,03 % ефірної олії [13], алка-

© П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, 2006.

лоїди, жирну олію, ізофлавоноїди, кумарини (кумєстрол, кумаринова кислота), трифолезин (проявляє фунгіцидну активність), сполуки, які мають естрогенні властивості, вітаміни (аскорбінова кислота, каротин, вітамін Е, вітаміни групи В) [7, 8].

Трава конюшини містить кумаринову та саліцилову кислоти, фітостерини, вітаміни Е, С, каротин, метиловий ефір кверцетину, ізорамнетил, тирозин, ситостероли. До складу висушених суцвіть рослини входять ефірна олія, глікозиди, органічні кислоти, вітаміни С, К та В₁, В₂ [3]. З коріння конюшини виділений трифолезин (протигрибкова речовина).

Таким чином, різноманітність хімічного складу конюшини лучної зумовлює різні її властивості та вплив на організм, що здавна використовують у народній медицині [7].

Широкий спектр дії біологічно активних речовин із конюшини лучної спонукав медиків, фармацевтів та біологів створювати лікарські засоби на їх основі [10, 13].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження були квітки та трава конюшини лучної, заготовлені у 2005 році в Тернопільській області.

Для проведення попереднього дослідження готували водні, водно-спиртові та гексанові екстракти. Кількісне визначення аскорбінової кислоти, вітаміну Р проводили за методиками, описаними за ДФ XI видання [6]. Вміст вітаміну К у рослинній сировині визначали за модифікованою методикою Л.В. Бензеля спектрофотометричним методом при довжині хвилі

Таблиця 1 – Вміст біологічно активних речовин у траві та квітках конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.)

Показники	Трава			Квітки		
	свіжа	суха	ліофілізат	свіжа	суха	ліофілізат
Вітамін С, мг/100 г	133	96	62	110	85	65
Вітамін Р, мг/100 г	-	0,618	0,448	-	0,494	0,314
Вітамін К, мг/100 г	-	0,051	-	-	0,024	-
Каротиноїди, мг/100 г	-	89,24	-	-	7,39	-
Флавоноїди, г/100 г	-	2,16	2,20	-	3,19	2,32

320 нм [1]. Кількісне визначення суми каротиноїдів проводили за П.П. Ветровим [4], флавоноїдів – у реакції з алюміній хлоридом (спектрофотометрично при довжині хвилі 410 нм) [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження з вивчення вмісту вітамінів у квітках та траві конюшини лучної показали, що *Trifolium pratense* містять багато біологічно активних речовин [13].

Вітамін С та його препарати є вираженими антиоксидантами [3]. Нами встановлено, що найвищий вміст аскорбінової кислоти у свіжій траві, дещо нижчим він є у квітках, значно нижчим – у ліофілізованій траві конюшини лучної і становить 133, 96 і 62 мг/100 г сировини відповідно. Відомо, що вітамін С взаємопов'язаний із глутатионом, токоферолом і бере участь у мітосомальному окисненні ендогенних речовин, стимулює активність цитохромного циклу, сприяє активності цитохрому Р-450, фагоцитозу, має певні антимікробні властивості, підвищує неспецифічну резистентність організму.

Синергістом аскорбінової кислоти є вітамін Р, разом вони утворюють ферментну систему, беруть активну участь у процесах клітинного дихання. Виражена антиоксидантна дія вітаміну Р полягає у депонуванні дигідроаскорбінової кислоти, покращанні мікроциркуляції [3, 5]. Нами виявлено найвищий вміст вітаміну Р у сухій траві конюшини лучної, який становив 0,618 мг/100 г сировини, дещо нижчим зафіксовано вміст даного вітаміну в ліофілізаті тра-

ви *Trifolium pratense*, що складав 0,448 мг/100 г сировини.

Антиоксидантна дія каротиноїдів пов'язана зі зменшенням вмісту в організмі синглетного кисню [4]. Дослідження показали, що найвищий вміст каротиноїдів зафіксовано у траві *Trifolium pratense*, який становив 89,24 мг/100 г, у квітках – 7,39 мг/100 г сировини відповідно (табл. 1).

Основна фізіологічна активність вітаміну К полягає у підвищенні згортання крові, а також стимуляції м'язової активності, загоєнні ран і підвищенні імунітету [12]. У квітках та траві конюшини лучної виявлено незначний вміст даного вітаміну, що становив 0,024 і 0,051 мг / 100 г відповідно.

При вивченні вмісту флавоноїдів відмічено найвищу їх кількість у сухих квітках, що становила 3,19 г/100 г сировини. У сухій траві та її ліофілізаті цей вміст перебував на однаковому рівні й складав 2,16 та 2,20 г/100 г відповідно. У сухих квітках вміст флавоноїдів був приблизно на тому ж рівні – 2,32 г /100 г сировини. Відомо, що флавоноїди є сполуками фенольної природи і, завдяки наявності в їх будові ОН-групи, можуть проявляти антиоксидантні властивості.

ВИСНОВОК. Встановлена нами значна кількість біологічно активних речовин, що проявляють антиоксидантні властивості, наводить на думку про можливість створення на основі сировини з конюшини лучної біологічно активних добавок, що могли б успішно використовуватись при різних патологічних станах, які супроводжуються активацією окиснювальних процесів в організмі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бензель Л.В. Дослідження щавлю кінського із західних регіонів України // Фармацевт. журн. – 1995. – № 2. – С. 82-85.
2. Бензель Л.В., Олійник П.В., Бабій В.Є. та ін. Харчові лікарські рослини в медицині та кулінарії: Фітодовідник. – Львів: Галицька Видавнича Спілка, 2004. – 292 с.

3. Белаї І.М. Оцінка антиоксидантної дії лікарських рослин, які містять вітаміни // Фармацевт. журн. – 1998. – № 1. – С. 94-97.
4. Ветров П.П., Гарная С.В., Долганенко Л.Г. Определение содержания липофильных веществ и суммы каротиноидов в растительном сырье // Хим.-фарм. журн. – 1989. – № 3. – С. 320-323.

5. Горчакова Н.О., Олійник С.А., Гаркава К.Г. та ін. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7-13.

6. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – С.55-57.

7. Жогло Ф.А., Попович В.П., Олійник П.В. Вітаміноносні лікарські рослини: Довідник. – Львів: Світ, 1992. – С. 92-93.

8. Кисліченко В.С., Вороніна Л.М. Виділення флавоноїдів з листя винограду та вивчення біологічної активності сумарного поліфенольного комплексу на їх основі // Фармацевтичний журнал. – 2002. – № 3. – С.87.

9. Максютіна Н.П. Растительные лекарственные средства // Фармацевтический журнал. – 1996. – № 3. – С. 190, 252.

10. Сур С.А., Гриценко О.В. Проблеми та перспективи розробки та впровадження сучасних лікарських засобів рослинного походження // Ліки України. – 2002. – № 4 (57). – С. 47-49.

11. Талатова С.В., Попова Т.П., Фурса М.Ф. Сировина, препарати та їх якість // Фармацевт. журнал. – 1995. – № 3. – С. 69.

12. Шилов П.И., Яковлев Т.Н. Основы клинической витаминологии. – Ленинград: Медицина, 1974. – С. 64-81.

13. Энциклопедия биологически активных добавок к пище. Российский регистр БАД. – М.: ООО "Новая волна", 2003. – 528 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИТАМИННОГО СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО

П.Г. Лихацкий, Л.С. Фира

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье приведены результаты фитохимических исследований свежей, сухой и лиофилизированной травы клевера лугового. Выявленное значительное количество витаминов и флавоноидов в клевере луговом дает возможность создавать на их основании биологически активные добавки для применения в клинике разных патологий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: клевер луговой, витамины, антиоксиданты, синглетный кислород, биологически активные вещества.

RESEARCH OF VITAMIN COMPOSITION AND FLAVONOID CONTENT IN ABOVE-GROUND PART OF TRIFOLIUM PRATENSE

P.G. Lykhatsky, L.S. Fira

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article adduces the results of phytochemical researches of fresh, dry and lyophilized herba of trifolium pratense. Essential content of vitamins and flavonoids in trifolium pratense enables to create on their basis biologically active additions for applicatoin in the clinics of different pathologies.

KEY WORDS: trifolium pratense, vitamins, antioxidants, biologically active substances.

Адреса для листування: П.Г. Лихацький, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДАЦІЇ ЛІПІДІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА

**В.А. Ковальова, К.О. Дворщенко, К.В. Лукашова,
Л.М. Гайда, О.С. Дворщенко, Л.І. Остапченко**
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

Встановлено, що в результаті експериментального ульцерогенезу в плазмі крові щурів відбувається активація процесів пероксидації ліпідів, яка зумовлена виснаженням антиоксидантної системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виразка шлунка, процеси пероксидації ліпідів, активність антиоксидантних ферментів, плазма крові.

ВСТУП. Розвиток і прогресування виразкової хвороби шлунка зумовлені змінами активності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту (АОЗ), що призводить до порушення структури як клітинної мембрани, так і інших внутрішньоклітинних органел. Літературні дані про стан ПОЛ та функціональну активність АОЗ базуються на результатах дослідження їх окремих компонентів не тільки в клітинах слизової оболонки шлунка, але і в плазмі крові, печінці, підшлунковій залозі [6]. Численні дослідження з вивчення механізмів виразки шлунка до цього часу мають розрізнений характер і спрямовані виключно на уточнення уявлень про відмінності між видами виразки, а не на пошук патогенетичних механізмів, спільних для всіх видів та ступенів виразки.

Метою даної роботи було дослідити процеси ПОЛ у плазмі крові щурів за умов різних експериментальних виразок (етанолової та стресової).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідах використовували щурів лінії Вістар масою 150 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Моделивали експериментальну гостру виразку шлунка у тварин за методом Окабе [4]. Для цього щурам перорально вводили 1 мл 80 % етанолу, через добу їх декапітували. З метою моделювання виразки шлунка у тварин, що є наближеною за етіологією та патогенезом до виразки шлунка в людини, використовували модифіковану методику "імобілізаційного

стресу" [3]. Для цього щурів розміщували у металевих перфорованих патронах зі скляним вікном у донній частині, де була голова тварини. Патрони розташовували у колонії вільноживучих щурів. Через 24 год щурів виймали з патронів та декапітували. Забір крові проводили при декапітації тварин у пробірки, що містили гепарин. Плазму одержували шляхом центрифугування при 3000 г протягом 15 хв. Інтенсивність вільнорадикального окиснення оцінювали за накопиченням продуктів ліпідної пероксидації. Вміст дієнових кон'югат визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шифових основ – флуориметричним методом [7]. Вміст ТБК-активних сполук, накопичених протягом 10-хвилинної інкубації за умов активації ферментативного перекисного окиснення у присутності Fe^{2+} -аскорбату та ферментативного у присутності НАДН-АДФ- Fe^{3+} у середовищі інкубації, визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Активація фізико-хімічних процесів ПОЛ, яка спостерігалася при виразковій хворобі у ліпідних структурах мембран клітин слизової оболонки шлунка, безпосередньо впливала і на стан вбудованих у мембрани білків, що також порушувало фундаментальні функції мембранного комплексу (проникність, активний транспорт, поляризацію, дію ферментів). У безпосередньому

© В.А. Ковальова, К.О. Дворщенко, К.В. Лукашова, Л.М. Гайда, О.С. Дворщенко, Л.І. Остапченко, 2006.

зв'язку з активацією вільнорадикальної пероксидації (ВРП) розвивався і процес ендogenous фосфоліпазного гідролізу з відокремленням та видаленням із ліпідного бішару мембран окиснених (внаслідок ПОЛ) фрагментів молекул фосфоліпідів вільних жирних кислот та переведенням їх з гідрофобного у гідрофільний стан [5]. У подальшому вони вимивалися у кров та екскретували.

У результаті проведених досліджень нами було встановлено активацію процесів ПОЛ на різних моделях виразки. Так, на етаноловій та стресовій моделях виразки виявлено статистично значуще підвищення рівня первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югат та кінцевих продуктів ПОЛ – шифових основ приблизно в 3 рази (табл. 1).

Результати проведених нами досліджень показали також підвищення вмісту вторинного продукту ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА), яке проходить як ферментативним, так і неферментативним шляхом (табл. 2). Спонтанне накопичення МДА зросло приблизно в 2 рази відносно контролю в плазмі крові щурів за умов виразки.

Дослідження ферментативного і неферментативного шляху аутоокиснення ліпідів показало, що при етаноловій та стресовій виразках домінував ферментативний шлях

активації процесів ПОЛ (рівень МДА зріс в 1,8 рази відносно контролю).

Одна з причин порушення прооксидантного стану – зміни в механізмі антирадикального захисту. Важливим чинником, від якого залежала концентрація вільних радикалів у клітинах організму, була кооперативна робота ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази та каталази. Послідовна робота цього ферментативного ланцюга антиоксидантної системи забезпечувала підтримку стаціонарного рівня концентрації вільних радикалів. При порушенні прооксидантно-антиоксидантної рівноваги накопичувались токсичні продукти вільнорадикального окиснення, які можуть неспецифічно атакувати біологічні молекули, викликати окисну модифікацію білків та нуклеїнових кислот, ініціювати ланцюгові реакції ПОЛ у мембранах [1].

Дослідження активності каталази показали статистично достовірне зниження її активності за умов обох типів експериментальних виразок у 3 рази відносно контролю (див. табл. 1).

Отримані результати свідчать про те, що при розвитку патології знижується здатність антиоксидантної системи до інактивації пероксиду водню, надлишок якого утворюється внаслідок ферментативної та неферментативної дисмутації кисню.

Таблиця 1 – **Вміст продуктів пероксидації ліпідів та активність каталази в плазмі крові щурів за умов експериментальної виразки шлунка (M±m; n=10)**

Групи тварин	Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	Шифові основи, ум.од.	Каталаза, нмоль/хв·мг білка
контроль	11,1±1,0	1,0±0,1	19,4±1,75
етанолова модель	28,4±2,4*	3,3±0,3*	5,9±0,56*
стресова модель	33,5±3,2*	3,5±0,3*	6,7±0,6*

Примітка. Тут і в наступній таблиці відмінності достовірні відносно контролю (p<0,05).

Таблиця 2 – **Вміст МДА в плазмі крові щурів за умов експериментальної виразки шлунка (M±m; n=10)**

Групи тварин	Спонтанне накоп. МДА, нмоль/мг білка	Fe ²⁺ +аск. накоп. МДА, нмоль/мг білка	АДФ+НАДН ⁺ накоп. МДА, нмоль/мг білка
контроль	13,8±1,0	23,7±2,3	53,8±5,3
етанолова модель	32,9±2,9*	43,1±4,2*	85,9±8,0*
стресова модель	35,8±3,2*	44,4±4,0*	113,4±10,1*

ВИСНОВКИ. Результати проведених досліджень показали, що на вивчених моделях виразки спостерігаються порушення ліпоперо-

ксидного гомеостазу, що зумовлено недостатньою ефективністю функціонування антиоксидантної системи в плазмі крові щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1992. – 252 с.

2. Гаврилов В.П., Гаврилова А.Р., Майорова И.Г. Методика определения малонового диальдегида в сыворотке крови // Вопр. мед. химии. – 1987. –

№ 1. – С. 118-122.

3. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукопись № 452/79. – 1979. – № 12. – С. 131.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації // За ред. чл. -кор. АМН України О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 528.

5. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты

и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. соврем. биологии. – 1993. – **113**, № 4. – С. 442-455.

6. Мягкова Л.П. Некоторые показатели перекисного окисления липидов фазы язвенной болезни // Рос. журнал гастроэнт., гепатол., колопрокт. – 1996. – **6**, № 1 -С. 109-110.

7. Орехович В.И. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 371 с.

ПРОЦЕССЫ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА

**В.А. Ковалева, Е.А. Дворщенко, Е.В. Лукашева,
Л.Н. Гайда, О.С. Дворщенко, Л.И. Остапченко**
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

Резюме

Установлено, что в результате экспериментального ульцерогенеза в плазме крови крыс активизируются процессы пероксидации липидов, что обусловлено истощением антиоксидантной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язва желудка, процессы пероксидации липидов, активность антиоксидантных ферментов, плазма крови.

LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN BLOOD PLASMA OF RATS AT EXPERIMENTAL GASTRIC ULCER

**V.A. Kovalyova, K.O. Dvorschenko, K.V. Lukashova,
L.M. Gayda, O.S. Dvorschenko, L.I. Ostapchenko**
KYIV NATIONAL UNIVERSITY BY TARAS SHEVCHENKO

Summary

It has been established that experimental ulcerogenesis results in activation of lipid peroxidation processes in blood plasma of rats. It is caused by exhaustion of antioxidant system.

KEY WORDS: gastric ulcer, lipid peroxidation processes, activity of antioxidant enzymes, blood plasma.

Адреса для листування: В.А. Ковальова, вул. Братиславська, 42, кв. 102, Київ, 02166, Україна.

ВПЛИВ ВИХРОВОГО ІМПУЛЬСНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ НА АКТИВАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ НЕЙТРОФІЛІВ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБІ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ

О.М. Татарчук, В.Є. Кудрявцева, К.Г. Гаркава¹,
А.І. Руденко, С.Ю. Єгорова, І.В. Кушниренко

ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, ДНІПРОПЕТРОВСЬКА
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ¹, КИЇВ

Встановлено, що вихрове імпульсне магнітне поле позитивно впливає на фагоцитарну активність нейтрофілів периферичної крові у хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки в досліджах in vitro.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейтрофіли, вихрове імпульсне магнітне поле, виразкова хвороба дванадцятипалої кишки.

ВСТУП. Вивчення механізмів розвитку виразкової хвороби дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК) залишається актуальною проблемою і в наш час. Велику увагу приділяють імунним факторам захисту, в зв'язку з чим вивчення функціональної активності нейтрофілів має велике значення для діагностики та імуно-терапії [1, 4]. Нейтрофіли – носії готового ефекторного потенціалу та володіють здатністю до швидкої його реалізації, тому вони є головними учасниками у відповідь на будь-які зміни в тканинах організму. При стимуляції нейтрофілів активуються оксидази плазматичної мембрани, які запускають серію метаболічних реакцій. Відбуваються швидка зміна метаболізму нейтрофілів з активацією внутрішньоклітинної мієлопероксидази, збільшення споживання та окиснення глюкози, зростання споживання кисню та утворення активних форм кисню: супероксидного аніон-радикала, перекису водню, гідроксильного радикала і синглетного кисню [3, 6]. Дисфункції нейтрофілів можуть бути різноманітними і проявлятися дефектами фагоцитарної активності, які потребують корекції, зокрема вихровим імпульсним магнітним полем (ВІМП). В основі дії ВІМП лежить його здатність впливати на кінетику біохімічних реакцій, змінювати реактивність організму на всіх рівнях, активувати функціональні процеси в тканинах та органах [2]. Дослідження в цій галузі почалися нещодавно, й отримані результати не численні та суперечливі.

Метою роботи було вивчення особливо-стей впливу ВІМП на активаційні процеси нейтрофільних гранулоцитів у хворих на ВХ ДПК.

© О.М. Татарчук, В.Є. Кудрявцева, К.Г. Гаркава, А.І. Руденко, С.Ю. Єгорова, І.В. Кушниренко, 2006.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 36 хворих на ВХ ДПК. Із них було 12 жінок та 24 чоловіків середнього віку – (37,2±1,22) року. Контрольну групу склали 50 донорів (21 жінка та 29 чоловіків) середнього віку – (39,1±1,1) року.

Продукцію активних метаболітів кисню нейтрофілами периферичної крові оцінювали за допомогою відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) за методом Park і за цитохімічним показником активності (ЦАП) в експерименті in vitro під впливом ВІМП. Параметри ВІМП становили: радіальна складова – 5-15 мТл, тангенціальна складова – 0,5-15 мТл, частота модуляції магнітного поля – 75-85 Гц, праве обертання. Експозиція тривала 15 хв [5].

Отримані дані було оброблено за допомогою програм статистичного аналізу Microsoft для Windows. Порівняльний аналіз відмінностей між середніми значеннями оцінювали за критерієм Стьюдента. Відмінності двох показників вважали вірогідними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих даних показав, що у хворих на ВХ ДПК встановлюється активація відновлення НСТ, що відображає стан бактерицидних пероксидазних систем і корелює з утворенням перекису водню під дією НАД-Н та НАДФ-Н-оксидаз. Визначення функціональних резервів фагоцитарної системи імунітету за допомогою ВІМП показало, що у 6 (16,7 %) хворих вони відсутні, у 19 (52,8 %) – помірні та в 11 (30,5 %) – високі резервні можливості фагоцитарної системи. Так, відсутність резервних можливостей фагоцитарної системи потребує імунокоригувальної терапії і є несприятливим прогно-

стичним критерієм. Помірні резервні можливості фагоцитарної системи є сприятливим прогностичним критерієм і потребують використання імунокоригувальної терапії. Високі резервні можливості фагоцитарної системи є сприятливим прогностичним критерієм і не потребують застосування імунокоригувальної терапії.

Вищезазначені дані свідчать про те, що застосування ВІМП дозволяє оцінити імунну реак-

тивність організму, виявити резервні можливості нейтрофільних гранулоцитів у хворих на ВХ ДПК.

ВИСНОВОК. У хворих на ВХ ДПК виявлено активацію відновлення НСТ. Застосування ВІМП *in vitro* у цих хворих активує нейтрофіли та дозволяє встановити резервні можливості фагоцитарної системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горбачев О.Ю., Гарилевич Б.А., Донин К.М. Общая геомагнитная терапия и ее роль в комплексном лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. – 2001. – № 1. – С. 42-44.
2. Лыков А.А. Магнитотерапия в комплексном лечении язвенной болезни // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2004. – № 3. – С. 54-56.
3. Нейко Є.М., Вишиванюк В.Ю. До питання окислювального стресу в патогенезі виразкової хвороби // Галицький лікарський вісник. – 2005. – 12, № 1, ч. 2. – С. 116-118.
4. Нестерова И.В., Фомичева Е.В., Швыдченко И.Н. и др. Особенности активационных процес-

сов в мембране, цитоплазме и ядре нейтрофильных гранулоцитов при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 53-56.

5. Пат. 29009 UA, МКІ А 61N 2/02. Магнітотерапевтичний апарат / Філіппов Ю.О., Соколовський І.І., Гриценко І.І., Житник М.Я., Путилов Ю.Г., Руденко А.І. (UA). Заявл. 02.12.1997 р.; опубл. 16.10.2000 р., Бюл. № 5-10.

6. Хомерики С.Г., Хомерики Н.М., Сафронов В.Г. Квамател (фамотидин) против окислительного стресса при некоторых заболеваниях пищеварительной системы // Здоров'я України. – 2004. – № 18 (103). – С. 18-19.

ВЛИЯНИЕ ВИХРЕВОГО ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ПРОЦЕССЫ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

**О.М. Татарчук, В.Е. Кудрявцева, Е.Г. Гаркава¹,
А.И. Руденко, С.Ю. Егорова, И.В. Кушниренко**
ИНСТИТУТ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, ДНЕПРОПЕТРОВСК
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА¹, КИЕВ

Резюме

Установлено позитивное влияние вихревого импульсного магнитного поля на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в опытах *in vitro*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейтрофилы, вихревое импульсное магнитное поле, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки.

ACTIVATION PROCESSES OF NEUTROPHILS UNDER ACTION OF VORTICAL PULSE MAGNETIC FIELD IN PATIENTS WITH DUODENAL ULCER

**O.M. Tatarchuk, V.Y. Kudryavtseva, K.G. Garkava¹,
A.I. Rudenko, S.Yu. Yegorova, I.V. Kushnirenko**
INSTITUTE OF GASTROENTEROLOGY OF AMS OF UKRAINE, DNIPROPETROVSK
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S¹, KYIV

Summary

The results obtained show positive influence of a vortical pulse magnetic field on phagocytic activity of peripheral blood neutrophils at patients with duodenal ulcer in experiments *in vitro*.

KEY WORDS: neutrophils, vortical pulse magnetic field, duodenal ulcer.

Адреса для листування: О.М. Татарчук, Інститут гастроентерології АМН України, Дніпропетровськ, Україна.

ІНТЕРВАЛЬНЕ ГІПОКСИЧНЕ ДИХАННЯ ЯК СПОСІБ КОНТРОЛЮ ПРОДУКЦІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ

Г.І. Ходоровський, О.В. Ясінська, В.І. Ясінський, О.В. Кузнєцова
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: активні форми кисню, перекисне окиснення, інтервальне гіпоксичне тренування.

Сьогодні суттєво змінюється уявлення про те, що утворення і секреція активних форм кисню (АФК) у міжклітинний простір і плазму крові є первинною ланкою про- та антиоксидантного процесів. Натомість вважається, що активація перекисного окиснення (ПО) завжди вторинна, а первинними є ті чинники *in vivo*, які регулюють та ініціюють підвищення утворення і секрецію АФК клітинами пухкої сполучної тканини (циркулюючі нейтрофіли і моноцити, ендотеліоцити, осілі макрофаги). Одним з таких чинників є гіпоксія. ПО АФК відіграє важливу фізіологічну роль, яка філогенетично сформувалася як необхідність забезпечення внутрішньоклітинних функцій і міжклітинних взаємодій. Сьогодні інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ) застосовують як засіб підвищення функціональної стійкості до гіпоксії та структурних перебудов в організмі.

Наші дослідження на білих щурах різного віку і статі, з використанням власної моделі інтервальної гіпобаричної (у проточній камері) гіпоксії у поєднанні з різною тривалістю фотоперіоду впродовж 7 діб по 6 годин щодня, переконливо показали залежність величин показників перекисного окиснення ліпідів і білків та активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, каталаза) від того, які комбінації зовнішніх чинників застосовували. У ряді експериментальних і клінічних досліджень інших авторів продемонстровано різні моделі ІГТ та їх ефективність на субклітинному, клітинному й організменому рівнях.

Власні результати, а також дані літератури створили основу для того, щоб говорити про можливість проведення контролю продукції АФК і відповідного антиоксидантного захисту шляхом застосування інтервальної гіпобаричної гіпоксії.

ОКИСНО-ВІДНОВНІ ПРОЦЕСИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ГІПЕРБАРИЧНОЇ ОКСИГЕНАЦІЇ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ОТРУЄНЬ ГРИБАМИ

Г.І. Микуляк, О.В. Миськів, Т.І. Новіцька, Р.Є. Думін
*ЛЬВІВСЬКА ОБЛАСНА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ
ЛЬВІВСЬКА ОБЛАСНА ДИТЯЧА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ ОХМАДИТ
ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ РЕГІОНАЛЬНИЙ ОНКОЛОГІЧНИЙ
ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНИЙ ЦЕНТР*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпербарична оксигенація, аланінамінотрансфераза, гіпоксія, аспартат-амінотрансфераза.

При вивченні впливу гіпербаричної оксигенації (ГБО) в комплексному лікуванні отруєнь грибами, частка яких у загальному переліку отруєнь значно зросла, аналізували результати лабораторних біохімічних досліджень крові, рО₂ крові, ультразвукових, рентгенологічних обстежень, сканування органів із застосуванням ізотопної мітки, клінічних спостережень у динаміці у 138 хворих за період з 1976 по 2004 рік включно.

При тяжких отруєннях спостерігаються виражені порушення гемодинаміки печінки, що настають вже у перші години захворювання і свідчать про збільшення регіонального опору, погіршення відтоку крові аж до стазу в печінковому відділі портального русла. Недостатність кисню призводить до жирової дистрофії гепатоциту і дисфункції клітинних мембран. Гіпоксія знижує синтез білків та пуринових кислот у гепатоцитах і стимулює утворення колагену.

Важлива роль гіпоксії в патогенезі захворювання печінки диктує необхідність пошуків ефективних методів боротьби з нею. Одним з них є гіпербарична оксигенація, що може компенсувати практично будь-яку форму кис-

невої недостатності, з метаболічними ефектами гіпербаричного кисню. Соматогенна фаза ряду екзогенних інтоксикацій проходить із гіпергідратацією легеневої тканини і печінковою енцефалопатією. ГБО сприяє активізації функціональних властивостей гепатоцитів, які збереглися після отруєння, про що свідчать підвищення під дією гіпероксії синтезу печінковими клітинами мелатоніну, покращання біохімічних показників крові.

Узагальнюючи дані клінічних спостережень, можна дійти висновку, що при екзогенному гепатиті застосування ГБО викликає виражений метаболічний ефект, попереджуючи некрози паренхіми, знижує сполучнотканинне рубцювання. При аналізі даних звертає на себе увагу позитивний вплив ГБО на динаміку захворювання – зменшення розмірів печінки до норми, зниження рівня білірубіну, АЛТ, АСТ. ГБО-терапія призводить до швидкої ліквідації дефіциту кисню в печінковій тканині, позитивно впливає на сечовиноутворювальну та глікогенсинтезувальну функції печінки.

Лікувальні сеанси ГБО при отруєнні грибами проводили на ізопресії 0,08-0,1 Мпа сатурацією до 60 хв.

ВПЛИВ РАКУ ШЛУНКА НА ОКИСНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ ТА МЕТАЛОЗАЛЕЖНІ ФЕРМЕНТИ

О.М. Бакурова, М.А. Матвієнко, Е.М. Хомутов, Б.Г. Борзенко
ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: окисна модифікація білків, рак шлунка, лактатдегідрогеназа, динітро-фенілгідрозони.

Відомо про вплив пухлини на організм носія, про порушення його метаболізму, в тому числі й серед процесів біологічного окиснення. У розвиток "пухлинної інтоксикації" робить свій внесок окисна модифікація білків (ОМБ). Під впливом останньої відбуваються зміни серед структурних білків та ферментів. Притаманною канцерогенезу рисою є суперпродукція лактату в аеробних умовах. Деякі онкогени та гіпоксія індукують лактатдегідрогеназу (ЛДГ). Ензим є чутливим до змін проліферації. Разом із тим, на ЛДГ впливають іони металів та процеси біологічного окиснення, зміни в яких під час канцерогенезу менш вивчено. Метою роботи було порівняльне дослідження змін активності ЛДГ та ОМБ при раку шлунка.

Активність ЛДГ та зміни в ОМБ вивчено спектрофотометричним методом за швидкістю

окиснення НАДН та утворенням 2,4-динітро-фенілгідрозонів (2,4-ДНФГ) при λ 340, 356 нм. Досліджено сироватку крові 20 умовно-здорових осіб та сироватку й тканини шлунка 30 хворих на рак.

У пухлинах шлунка активність ЛДГ становила $(84,14 \pm 19,22)$ нмоль/хв \cdot мг, що більше порівняно з віддаленими ділянками $((26,90 \pm 4,27)$ нмоль/хв \cdot мг), $p < 0,01$. З цим корелювало підвищення активності ЛДГ у сироватці крові хворих на рак до $11,02 \pm 0,85$ порівняно з нормою $((3,19 \pm 0,92)$ нмоль/хв \cdot мг), $p < 0,05$. При цьому збільшувався вміст 2,4-ДНФГ до $3,38 \pm 0,14$ порівняно з нормою $((1,68 \pm 0,14)$ ммоль/г).

Виявлені зміни активності ЛДГ та ОМБ свідчать про збільшення частки анаеробного гліколізу в енергообміні пухлинних клітин та зростання процесів ОМБ.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПРИ РАКУ ШЛУНКА

С.О. Зуйков, О.П. Шатова, В.С. Колесніков, З.М. Скоробогатова
ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: активні форми кисню, окисна модифікація білків, динітрофенілгідрозони, рак шлунка.

Відомо, що будь-який адаптивний або патологічний процес перебігає на тлі утворення активних форм кисню (АФК). В останні роки з'явилися повідомлення про те, що АФК можуть атакувати не тільки ліпіди, але й інші макромолекули клітинних структур, зокрема білки. Пухлинна інтоксикація призводить до порушення окиснювально-відновних процесів, структурної модифікації мембран клітин та їх лізису за рахунок АФК, а також до активації перекисного окиснення ліпідів. Тому становить інтерес дослідити окисну модифікацію не лише ліпідів, але і білків в онкологічних хворих.

Метою роботи було визначити зміну окисної модифікації білків (ОМБ) у хворих на рак шлунка (РШ) порівняно зі здоровими людьми.

Досліджено плазму крові 10 здорових людей і 15 хворих на РШ. ОМБ оцінювали спектрофотометрично за зміною оптичної щільності середовища за різних довжин хвиль. Про ступінь ОМБ судили за вмістом альдегідних та кетонних груп.

При дослідженні ОМБ плазми крові в здорових та хворих на РШ встановлено підвищення вмісту 2,4-ДНФГ-похідних у 2 рази порівняно з контрольною групою. Концентрація 2,4-динітрофенілгідрозонів склала: при 356 нм – $(3,38 \pm 1,23)$ і $(1,68 \pm 0,14)$ ммоль/г відповідно; при 370 нм – $(3,26 \pm 1,15)$ і $(1,53 \pm 0,24)$ ммоль/г відповідно; при 430 нм – $(1,65 \pm 0,83)$ і $(0,58 \pm 0,23)$ ммоль/г відповідно; при 530 нм – $(0,68 \pm 0,60)$ і $(0,35 \pm 0,28)$ ммоль/г відповідно. З отриманих даних можна зробити висновок про інтенсифікацію ОМБ, що має різко виражений характер в організмі хворих на РШ. Збільшення інтенсивності ОМБ можна розглядати як додатковий резерв антиоксидантної системи (АОС) в онкологічних хворих.

Встановлено зростання рівня окисномодифікованих білків при підсиленні патологічного процесу, що підтверджує виснаження АОС організму хворих на РШ.

ПОЗИТИВНИЙ ЕФЕКТ СУБСТРАТУ ДЛЯ NO-СИНТАЗИ L-АРГІНІНУ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ АЛІЛОВОГО СПИРТУ

Т.Я. Ярошенко

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аліловий спирт, оксид азоту, донатор, печінка.

Наведено дані про вплив донатора NO L-аргініну за умови ураження печінки аліловим спиртом, про покращання функціонального стану eNOS у капілярах печінки.

Некрозогенне ураження печінки аліловим спиртом (АС) супроводжується, з одного боку, суттєвим пригніченням функціонального стану ендотеліальної NO-синтази (eNOS) в капілярах печінки, що може бути причиною погіршення мікроциркуляції в органі, а з іншого – активацією індукцибельної NO-синтази (iNOS), що призводить до гіперпродукції оксиду азоту (NO) в гепатоцитах, який у надмірній кількості може проявляти цитотоксичну дію і зумовлювати ще більше загострення патологічного процесу.

Метою роботи було дослідити, який з цих двох патогенетичних механізмів більшою мірою визначає ступінь некротичного ураження печінки АС. Ми використали препарат, який здатний підвищувати концентрацію NO в тканинах, – L-аргінін (субстрат для NO-синтази).

Досліди проведено на лабораторних щурах, яким за 14 днів до призначення АС у дозі 30 мг·кг⁻¹ внутрішньоочеревинно вводили L-аргінін у дозі 0,2 г·кг⁻¹.

L-аргінін достовірно (на 33 % (p<0,05)) знижував показники активності маркерів цитолізу гепатоцитів – аланін- і аспартатамінотрансферази, попередньо підвищені внаслідок дії гепатотоксину. Викликав відновлення (на 27 % (p<0,05)) вмісту редукованого глутатіону в гепатоцитах, частково запобігав інактивації антиоксидантних ферментів – каталази і церулоплазміну. Донатор також частково попереджував зростання загального вмісту нітритів і нітратів, а також молекул середньої маси в плазмі крові тварин після введення гепатотоксину.

Отримані у цій роботі результати свідчать про те, що застосування субстрату для NOS L-аргініну при ураженні печінки АС призводить до поліпшення ряду досліджуваних нами параметрів. Очевидно, покращання функціонального стану eNOS в капілярах печінки за допомогою L-аргініну сприяє посиленню мікроциркуляції в органі та, як наслідок, поліпшує метаболічні процеси і частково запобігає некрозу.

ВПЛИВ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРЕОКИСНЕННЯ НА ЛІКУВАННЯ І РЕАБІЛІТАЦІЮ ХВОРИХ НА РАК ПАРАЩИТОПОДІБНИХ ЗАЛОЗ

В.Н. Горбенко, І.Я. Цепілова, В.В. Бойко, Є.М. Клімова, С.В. Сушков
ІНСТИТУТ ЗАГАЛЬНОЇ І НЕВІДКЛАДНОЇ ХІРУРГІЇ АМН УКРАЇНИ

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рак паращитоподібних залоз, перекисне окиснення, малоновий діальдегід, антиоксиданти.

Вільнорадикальні реакції, що супроводжують процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), здатні модифікувати хід багатьох фізіологічних і патологічних процесів. Процес ПОЛ є одним із найважливіших механізмів підтримки гомеостазу, яким регулюються структура і функції клітинних мембран, їх доступність до регуляторних впливів.

Метою дослідження було з'ясувати значення антиоксидантної терапії в процесі лікування і реабілітації хворих на рак щитоподібних залоз (РПЩЗ).

Обстежено 87 хворих на РПЩЗ у віддалений період після комплексного лікування (від 1 до 16 років). Діагноз у всіх пацієнтів верифіковано гістологічно. Вік хворих становив від 34 до 65 років. На першому етапі лікування всім пацієнтам здійснено хірургічне втручання і досліджено вміст дієнових кон'югатів (ДК), маленового діальдегіду (МДА) і сумарну антиоксидантну активність (АОА) у пухлині й сироватці крові хворих. У 47 хворих на РПЩЗ у процесі лікування і реабілітації використовували антиоксиданти (вітаміни С і Е, а також препарати селену).

Встановлено, що у хворих на РПЩЗ, у міру збільшення стадії захворювання, в пухлині посилювались процеси ліпопереокиснення. Дана залежність прослідковувалась у вигляді

закономірності за рівнем ДК, а при III і IV ст. – і за вмістом МДА. АОА при I і II ст. РПЩЗ частково компенсувала токсичну дію продуктів ПОЛ. Проте, починаючи з III ст., процес ліпопереокиснення в пухлині продовжував посилюватися і АОА була настільки пригнічена, що проявилась збільшенням вмісту продуктів ПОЛ у крові та впливом токсичних продуктів на всі органи і системи.

Використання хворими на РПЩЗ препаратів, що зменшують токсичну дію надлишкових продуктів ліпопереокиснення і збільшують АОА крові, дозволяє швидше нормалізувати показники гомеостазу, що значно порушені основним захворюванням, перейти до наступного етапу комплексного лікування, а також швидше провести процес реабілітації хворих.

ВИСНОВКИ. При РПЩЗ із збільшенням стадії захворювання у пухлині відмічається посилення процесу ліпопереокиснення, що проявляється накопиченням ДК і МДА та зниженням АОА. При лікуванні й реабілітації хворих на РПЩЗ необхідно застосовувати комплекс антиоксидантних препаратів з метою нормалізації процесу ПОЛ, антиоксидантної системи, зниження ендогенної інтоксикації і покращання результатів лікування.