

Академія медичних наук України

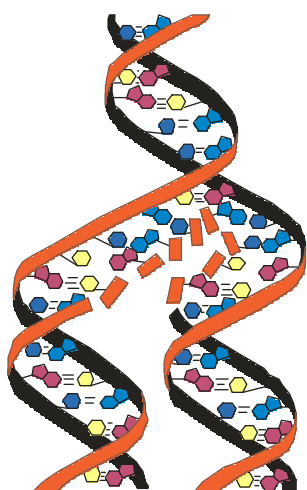
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

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

1 TOM 9
2007

- ❖ *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. Редакція не несе відповідальності за достовірність фактів, власних імен та іншої інформації, використаної в публікаціях. 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

Губський Ю.І., Левицький Е.Л., Горюшко Г.Г., Афанасенко О.В., Беленічев І.Ф., Бабенко Л.Н., Павлов С.В., Курапова Т.М., Величко О.М., Марченко О.М. (Київ, Запоріжжя) ГЕНОМ-ЗАХИСНІ ВЛАСТИВОСТІ S-ВМІСНИХ ПОХІДНИХ ХІНАЗОНІВ – СПЛУК НКС-153, NC-109 – ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОМ. ДОСЛІДЖЕННЯ IN VIVO

Суховій М.В., Паховчишин С.В., Авер'янов Є.В., Бурнаєва С.В., Семеняка В.І., Панько А.В. (Київ) НАНОРОЗМІРНІ СИСТЕМИ ГЛИНИСТИХ МІНЕРАЛІВ ТА КРЕМНЕЗЕМУ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГЕМОФІЛІЮ "А"

Губський Ю.І., Афанасенко О.В. (Київ) ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ ТА СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ. II. ЕНЕРГЕТИЧНІ ТА КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ УТВОРЕННЯ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІВ МОЛЕКУЛАМИ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК

Яковлева Л.В., Марчишин С.М., Мачуліна С.О. (Харків, Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ КОРЕНЕВИЩ І КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО НА ГЕНОМ СОМАТИЧНИХ ТА ГЕНЕРАТИВНИХ КЛІТИН ССАВЦІВ

Загайко А.Л. (Харків) ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ, ОТРИМАНИХ З ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО, НА РОЗВИТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ В СИРІЙСЬКИХ ХОМ'ЯЧКІВ

Мищенко О.Я., Яковлева Л.В., Штриголь С.Ю. (Харків) ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ "ПОЛЛЕНТАР" ТА ЙОГО СКЛАДОВИХ СУБСТАНЦІЙ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

Казимирко В.К., Кутовий В.В., Пономарьова Г.В., Сілантьєва Т.С., Дубкова А.Г., Іваницька Л.М. (Київ) АКТИВНІСТЬ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ У НЕЙТРОФІЛАХ КРОВІ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ

Романовська І.І., Декіна С.С. (Одеса) ІММОБІЛІЗАЦІЯ ПАПАІНУ ТА СЕЧОВИНИ В ПОЛІВІНІЛОВИЙ СПИРТ

Гринчук Ф.В. (Чернівці) ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ОКИСНО-ВІДНОВНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ШУРІВ ЗА УМОВ ПЕРИТОНІТУ ТА ЙОГО РОЗВИТКУ НА ТЛІ ПОЄДНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Сидора Н.В., Ковальова А.М. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ПЛОДІВ ТА ЕКСТРАКТІВ ВИДІВ ГЛОДУ

Бекус І.Р., Кліщ І.М., Криницька І.Я. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СТАТУСУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРУЄННЯ НА ФОНІ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

Белік Г.В., Куценко Т.О., Столетов Ю.В., Прокопівшак Н.І. (Харків) ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПАТОГЕНЕЗІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ ТА МОЖЛИВОСТІ ЙОГО КОРЕКЦІЇ ЛІПОФЛАВОНОМ

Ядловський О.Є., Трінус Ф.П., Бухтіарова Т.А., Омеляненко З.П., Хоменко В.С., Шатиркіна Т.В. (Київ) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО НЕОПІОЇДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПІРОДАЗОЛУ НА АДРЕНЕРГІЧНУ ТА ХОЛІНЕРГІЧНУ СИСТЕМИ

Шебеко С.К., Зупанець І.А. (Харків) ВПЛИВ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЇ З ДІКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ НА ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гіріна О.М., Карлова О.О., Брюзгіна Т.С. (Київ) ОЦІНКА ЛІПІДНИХ ПОКАЗНИКІВ ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Шеремета Л.М. (Івано-Франківськ) ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ПРОТИВІРАЗКОВОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПОСОМАЛЬНОГО КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ГОСТРІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Hubsy Yu.I., Levytsky E.L., Horiushko H.H., Afanasenko O.V., Belenichev I.F., Babenko L.N., Pavlov S.V., Kurapova T.M., Velychko O.M., Marchenko O.M. (Kyiv, Zaporizhzhia) GENOME-PROTECTIVE PROPERTIES OF S-CONTAINING DERIVATIVES OF CHYNASOLINES – SUBSTANCES NKС-153, NC-109 – IN CONDITIONS OF TETRA-CHLOROMETHANE INTOXICATION. STUDIES IN VIVO

Sukhoviy M.V., Pakhovchyshyn S.V., Averyanov Ye.V., Burnayeva S.V., Semenyaka V.I., Panko A.V. (Kyiv) NANO-DIMENSIONAL SYSTEMS OF CLAY MINERALS AND SILICA IN COMPLEX TREATMENT OF HEMOPHILIA "A" PATIENTS

Hubsy Yu.I., Afanasenko O.V. (Kyiv) STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTION OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS. II. ENERGETIC AND KINETIC FEATURES OF FORMATION OF FREE RADICALS BY MOLECULES OF PHENOLIC COMPOUNDS

Yakovleva L.V., Marchyshyn S.M., Machulina S.A. (Kharkiv, Ternopil) THE INVESTIGATION OF THE PROBABLE INFLUENCE OF THE EXTRACT OF COUCH-GRASS RHIZOMES AND ROOTS ON THE GENOME OF MAMMALIANS SOMATIC AND GENERATIVE CELLS

Zahayko A.L. (Kharkiv) INFLUENCE OF POLYPHENOLIC COMPLEXES OBTAINED FROM GRAPES CULTURAL, ON EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME DEVELOPMENT IN SYRIAN HAMSTERS

Mishchenko O.Ya., Yakovleva L.V., Shtrygol S.Yu. (Kharkiv) COMPARATIVE STUDY OF CEREPROTECTIVE ACTION OF DRUG "POLLENTAR" AND ITS COMPONENTS AT EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA

Kazymyrko V.K., Kutovy V.V., Ponomaryova H.V., Silant'yeva T.S., Dubkova A.H., Ivanytska L.M. (Kyiv) ACTIVITY OF OXIDATION-REDUCTION FERMENTS IN NEUTROPHILS OF BLOOD AT ISCHEMIC HEART DISEASE

Romanovska I.I., Dekina S.S. (Odesa) THE PAPAİN AND UREA IMMOBILIZATION INTO POLYVINYL ALCOHOL

Hrynchuk F.V. (Chernivtsi) DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDEXES OF REDOX SYSTEM IN RAT BLOOD AT PERITONITIS AND ITS DEVELOPMENT ON BACKGROUND OF ASSOCIATED PATHOLOGY

Sydora N.V., Kovalyova A.M. (Kharkiv) INVESTIGATION OF ELEMENT COMPOSITION OF FRUIT AND EXTRACTS OF HAWTHORN SPECIES

Bekus I.R., Klishch I.M., Krynytska I.Ya. (Ternopil) PECULIARITIES OF LIPID STATE OF THE LIVER UNDER CONDITIONS OF ACUTE ETHANOL POISONING AGAINST A BACKGROUND OF CHRONIC INTOXICATION BY CADMIUM AND LEAD SALTS

Belik H.V., Kutsenko T.O., Stoletov Y.V., Prokopishak N.I. (Kharkiv) LIPID PEROXIDATION IN PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS AND POSSIBILITY OF ITS TREATMENT BY LIPOFLAVON

Yadlovsky O.Ye., Trinus F.P., Bukhtiarova T.A., Omelianenko Z.P., Khomenko V.S., Shatyrykina T.V. (Kyiv) THE EXPERIMENTAL STUDY OF EFFECT OF NEW NONOPIOID ANALGESIC PIRODAZOL ON CHOLINERGIC AND ADRENERGIC SYSTEMS

Shebeko S.K., Zupanets I.A. (Kharkiv) THE INFLUENCE OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE AND THEIR COMBINATION WITH SODIUM DICLOFENAC ON THE COURSE OF CHRONIC RENAL FAILURE IN EXPERIMENT

Hyrina O.M., Karlova O.O., Bryuzgina T.S. (Kyiv) EVALUATION OF LIPID PARAMETERS OF ERYTHROCYTES AT PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME.

Sheremeta L.M. (Ivano-Frankivsk) RESEARCH OF PROPHYLACTIC ANTIULCEROUS ACTIVITY OF LIPOSOMAL QUERCETIN AT EXPERIMENTAL ACUTE GASTRIC ULCER

Амжад абу Шарк, Гашко Г.І., Георгіянци В.А.,
Перехода Л.О. (Харків) ВИВЧЕННЯ УМОВ КОНДЕНСАЦІЇ
КНЕВЕНАГЕЛЯ МАЛОНОДИНІТРИЛУ ТА
ЦІАНООЦТОВОГО ЕФІРУ ЯК ПОПЕРЕДНЬОЇ СТАДІЇ
СИНТЕЗУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН
81

Попова Л.Д. (Харків) ВПЛИВ ТРИПТОФАНУ НА ВМІСТ
НЕЙРОМЕДІАТОРІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ
РІЗНИМ РІВНЕМ СУДОМНОЇ ГОТОВНОСТІ
86

Ільченко О.В., Заремба О.В., Шеряков А.А., Коваленко С.М.,
Черних В.П. (Харків, Мінськ) СИНТЕЗ 2-[(3-ЗАМІЩЕНИХ-4-
ОКСО-3,4-ДИГІДРО[1]БЕНЗОФУРО[3,2-*d*]ПІРИМІДИН-2-
ІЛ)СУЛЬФАНІЛ]-N-АЛКІЛ(АРИЛ)АЦЕТАМІДІВ ТА ЇХ
ПРОТИМІКРОБНА ДІЯ
91

Гуніна Л.М., Олійник С.А., Іванов С.В. (Київ) ЗМІНИ
ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ТА ПРООКСИДАНТНО-
АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ В МЕМБРАНАХ
ЕРИТРОЦИТІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТУ "РИТМОКОР"
ПРИ ІНТЕНСИВНОМУ ФІЗИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ
95

Філяк Є.З., Дерзжко І.О., Філяк О.С., Стойка Р.С. (Львів)
ВТРАТА ГЕНА БІЛКА СЕКУРИНУ (РТТГ) ПРИВОДИТЬ ДО
ПРИГНІЧЕННЯ АКТИВАЦІЇ Т-ЛІМФОЦИТІВ
100

Пихтєєва О.Г., Большой Д.В., Третьякова О.В. (Одеса)
ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЯК ОДИН З УНІВЕРСАЛЬНИХ
МЕХАНІЗМІВ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ РІЗНИХ СПОЛУК РТУТІ
104

Рузібаєв Р.Ю. (Тернопіль) КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНИЙ ОБМІН І
СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ПАЦІЄНТІВ ПІСЛЯ
ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ У
ВІДДАЛЕНІЙ ПЕРІОД
108

Черноброва О.І., Пентюк О.О., Азаров О.С., Ільченко О.В.,
Маленький В.П. (Вінниця) СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ
МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ МЕТИЛМАЛОНОВОЇ КИСЛОТИ В
СЕЧІ
112

Пікас О.Б., Петренко В.І., Брюзгіна Т.С. (Київ) СТАН
ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ
КРОВІ ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС,
ХВОРИХ НА ФІБРОЗНО-КАВЕРНОЗНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ
ЛЕГЕНЬ
115

Наконежна О.А. (Харків) СТАН ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ
МЕДІАЦІЇ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ТОКСИЧНОГО СТРЕСУ ТА
ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ
118

Головчак Н.П., Тарновська А.В., Коцюмбас Г.І., Санагурський
Д.І. (Львів) ВПЛИВ Т-2 ТОКСИНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ
ПАРАМЕТРИ НЕРВОВИХ КЛІТИН ТА ЗАСТОСУВАННЯ
ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ ЯК ДЕТОКСИКАНТУ
122

ОГЛЯДИ

Пентюк О.О., Луцьок М.Б., Андрушко І.І. (Вінниця) ВІТАМІНИ
В₃, В₁₂ ТА В₆, ПОЛІМОРФІЗМ ФЕРМЕНТІВ ЇХ ОБМІНУ,
ЗВ'ЯЗОК З МЕТАБОЛІЗМОМ ГОМОЦИСТЕЇНУ,
РОЛЬ У ПАТОЛОГІЇ. РЕНЕСАНС КЛІНІЧНОЇ
ВІТАМІНОЛОГІЇ
126

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

Покотило О.С. (Тернопіль) СИНТЕЗ ЛІПІДІВ У СЛИЗОВІЙ
ТОНКОЇ КИШКИ МОРСЬКИХ СВИНОК
З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ ПРИ ДОДАВАННІ ДО ЇХ
РАЦІОНУ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ
132

Михайлів Л.М. (Тернопіль) ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ
ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ
ПІД ЧАС РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ
135

Гончаренко М.С., Мартиненко І.Г., Коновалова О.О.,
Січкач А.А. (Харків) ОЦІНКА ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ "ГЛІПЕК"
НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ
СИСТЕМИ ЩУРІВ
138

Куліш С.М., Панасенко О.І., Книш Є.Г., Лісничка А.М.
(Запоріжжя) ПОШУК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У
РЯДІ ПОХІДНИХ 2-(ПІРИДИН-2-ІЛ)-5-ІЛІДЕНТІАЗОЛО-
(3,2-В)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-6(5Н)-ОНІВ
141

Лихацька Т.В., Андрейчин С.М. (Тернопіль) ПОРУШЕННЯ
МАРКЕРІВ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ДЕСТРУКЦІЇ
СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ З ПОЄДНАНОЮ
ПАТОЛОГІЄЮ ГАСТРОДУОДЕНОПАНКРЕАТИЧНОЇ ЗОНИ І
ПЕЧІНКИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ
144

Amjad Abu Shark, Hashko H.I., Georgiyants V.A., Perekhoda L.O.
(Kharkiv) STUDY OF KNOEVENAGEL CONDENSATION
CONDITIONS FOR MALONODINITRILE AND CYANOACETIC
ETHER AS PRELIMINARY STAGE OF SYNTHESIS OF
BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES
81

Popova L.D. (Kharkiv) THE INFLUENCE OF TRYPTOPHAN ON
THE MEDIATOR LEVELS IN BRAIN OF RATS WITH
DIFFERENT SEIZURE SUSCEPTIBILITY
86

Ilchenko O.V., Zarembo O.V., Sheryakov A.A., Kovalenko S.M.,
Chernykh V.P. (Kharkiv, Minsk) SYNTHESIS OF 2-[(3-
SUBSTITUTED-4-OXO-3,4-DIHYDRO[1]BENZOFURO[3,2-
d]PYRIMIDIN-2-YL)SULFANYL]-N-LKYL(ARYL)ACETAMIDES
AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTION
91

Gunina L.M., Oliynyk S.A., Ivanov S.V. (Kyiv) CHANGES OF
BLOOD PARAMETERS AND PROOXIDANT-ANTIOXIDANT
BALANCE IN ERYTHROCYTE MEMBRANES UNDER EFFECT
OF "RHYTHMOCOR" MEDICINE AT INTENSIVE TRAINING
LOADING
95

Filyak Ye.Z., Derzhko I.O., Filyak O.S., Stoyka R.S. (Lviv) LACK
OF PROTEIN SECURIN GENE PTTG CAUSES INHIBITION
OF T-LYMPHOCYTES ACTIVATION
100

Pykhteyeva O.H., Bolshoy D.V., Tretyakova O.V. (Odesa) THE
OXIDATIVE STRESS AS A GENERAL PURPOSE MECHANISM
OF TOXIC ACTION OF VARIOUS MERCURY COMPOUNDS
104

Ruzibayev R.Y. (Ternopil) CALCIUM-PHOSPHORUM
METABOLISM AND CONDITION OF BONE TISSUE AT
PATIENTS AFTER SURGICAL TREATMENT OF ULCER
DISEASE IN REMOTE PERIOD
108

Chernobrova O.I., Pentiuk O.O., Azarov O.S., Ilchenko O.V.,
Malenyk V.P. (Vinnytsia) SPECTROPHOTOMETRIC METHOD
FOR DETERMINATION OF METHYLMALONIC ACID
IN URINE
112

Pikas O.B., Petrenko V.I., Bryuzhina T.S. (Kyiv) STATE
OF FATTY-ACID SPECTRUM OF BLOOD SERUM LIPIDS
IN LIQUIDATORS OF THE ChNPP ACCIDENT
CONSEQUENCES, SUFFERING FROM FIBROCAVERNOUS
TUBERCULOSIS
115

Nakonechna O.A. (Kharkiv) INTRACELLULAR MEDIATION STATE
UNDER INFLUENCE OF TOXIC STRESS AND
HYPERCHOLESTEROLEMIA
118

Holovchak N.P., Tarnovska A.V., Kotsiumbas H.I.,
Sanahursky D.I. (Lviv) INFLUENCE OF T-2 TOXIN ON
FUNCTIONAL PARAMETERS OF NERVOUS CELLS AND
APPLICATION OF sodium hypochlorite AS DETOXICANT
122

REVIEWS

Pentyuk O.O., Lutsyuk M.B., Andrushko I.I. (Vinnytsia) THE
VITAMINS B₃, B₆, B₁₂, POLYMORPHISM OF ENZYMES OF
THEIR EXCHANGE, RELATION TO HOMOCYSTEINE
METABOLISM AND THEIR ROLE IN PATHOLOGY. THE
RENASCENCE OF CLINICAL VITAMINOLOGY
126

BRIEF REPORTS

Pokotylo O.S. (Ternopil) SYNTHESIS OF LIPIDS IN SMALL
INTESTINE MUCOUS OF GUINEA-PIGS AT
HYPERCHOLESTEROLEMIA AT ADDING OF SUNFLOWER-
SEED OIL TO THEIR RATION
132

Mykhayliv L.M. (Ternopil) DYNAMICS OF BIOCHEMICAL
INDEXES AT PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS
DURING UNLOADING-DIETARY THERAPY
135

Honcharenko M.S., Martynenko I.H., Konovalova O.O.,
Sichkar A.A. (Kharkiv) ANALYSIS OF INFLUENCE OF THE
MEDICINE "GLYPEC" ON FUNCTIONAL STATE OF CENTRAL
NERVOUS SYSTEM OF RATS
138

Kulish S.M., Panasenko O.I., Knysh Ye.H., Lisnycha A.M.
(Zaporizhzhia) SEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTAN-
CES IN SERIES OF DERIVATIVES OF 2-(PYRIDIN-2-YL)-5-
YLIDENETHIAZOLO-(3,2-B)-1,2,4-TRIAZOL-6(5H)-ONS
141

Lykhatka T.V., Andreychyn S.M. (Ternopil) DISORDERS OF THE
BONE METABOLISM MARKERS AND DESTRUCTION OF
THE CONNECTIVE TISSUE IN PATIENTS WITH COMBINED
PATHOLOGY OF GASTRODUODENOPANCREATIC AREA
AND LIVER AND THEIR CORRECTION
144

УДК 615.357.631:577.611.657

ГЕНОМОЗАХИСНІ ВЛАСТИВОСТІ S-ВМІСНИХ ПОХІДНИХ ХІНАЗОНІВ – СПОЛУК НКС-153, NC-109 – ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ. ДОСЛІДЖЕННЯ IN VIVO

Ю.І. Губський, Е.Л. Левицький, Г.Г. Горюшко, О.В. Афанасенко¹, І.Ф. Беленічев²,
Л.Н. Бабенко, С.В. Павлов², Т.М. Курапова, О.М. Величко, О.М. Марченко
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ¹
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ²

За допомогою ряду біохімічних та фізико-хімічних методів показано наявність у двох представників S-похідних хіназолонів – речовин НКС-153 та NC-109 – геномозахисних властивостей за умов інтоксикації тварин гепатотоксином тетрахлорметаном.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фракції транскрипційно активного та репресованого ядерного хроматину, тетрахлорметан, геномозахисні властивості похідних хіназолонів.

ВСТУП. Дія ксенобіотиків (галогенотоксинів) призводить до уражень клітин печінки, утворення вільних радикалів, які викликають порушення структурно-функціональної організації ядерного геному: первинної структури ДНК (окиснювальної модифікації основ, одна-та двониткових розривів подвійного ланцюга, утворення поперечних зшивок "ДНК-білок" і т. ін.), її реплікативної та транскрипційної функцій, структури негістонових білків та гістонів, зміни білково-ліпідного контакту [4-7]. Необхідно визнати, що, незважаючи на успіхи в розшифруванні молекулярних механізмів токсичних уражень, використання антиоксидантів для захисту ядерного геному є недостатньо ефективним за умов дії ксенобіотиків. Необхідні нові підходи до фармакологічного захисту, застосування ФАС, які, окрім антиоксидантної дії, спричиняють також модифікуючий вплив на структуру компонентів хроматину (ДНК, негістонових білків, гістонів тощо).

Раніше в досліджах *in vitro* було показано, що за показниками інгібування швидкості накопичення ТБК-активних продуктів на моделях спонтанного й індукованого NADPH та аскорбатом ліпопереокиснення (ПОЛ) у фракціях репресованого (РХ) та транскрипційно

активного (ТАХ) хроматину найбільш активними виявились S-вмісні гетероциклічні сполуки – похідні хіназолонів НКС-153 і NC-109 [8].

Метою роботи було вивчення здатності даних сполук до інгібування вільнорадикальних реакцій у фракціях РХ і ТАХ клітин печінки щурів за умов отруєння тетрахлорметаном (ТХМ) при їх лікувально-профілактичному введенні тваринам, структурної модифікації компонентів фракцій хроматину (ДНК, негістонів та гістонів).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сірковмісні похідні хіназолонів – сполуки НКС-153 і NC-109 – були синтезовані у Запорізькому державному медичному університеті й надані проф. І.Ф. Беленічевим. З метою порівняння, за однакових умов експерименту, досліджено також фенольний антиоксидант – дибунол. Досліди проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 150-200 г та віком 3 міс. Тетрахлорметан вводили внутрішньочеревинно у дозі 1,0 ЛД₅₀ (1,75 мг/кг маси тіла). Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після введення ТХМ. Ізольовані фракції РХ і ТАХ виділяли відповідно [12, 13].

Досліджували 3 групи щурів: 1-ша – інтактні тварини (контроль), 2-га – інтоксиковані ТХМ (дослід) і 3-тя – інтоксиковані ТХМ + ФАС (дибунол, НКС-153 і NC-109). Інтактним щурам вводили внутрішньочеревинно 0,9 % ізото-

© Ю.І. Губський, Е.Л. Левицький, Г.Г. Горюшко, О.В. Афанасенко, І.Ф. Беленічев, Л.Н. Бабенко, С.В. Павлов, Т.М. Курапова, О.М. Величко, О.М. Марченко, 2007.

нічний розчин NaCl, отруєним ТХМ – розчини сполук у дозі 1/10 ЛД₅₀ за 1 год до отруєння та через 2 год після отруєння в концентрації 89 мг/кг (для дибунолу), 50 мг/кг (для НКС-153) і 160 мг/кг (для НС-109). Здатність даних сполук до інгібування реакцій ПОЛ у фракціях хроматину вивчали за умов спонтанного (неініційований контроль – НК) та індукованого NADPH і аскорбатом ПОЛ (НЗП та АЗП відповідно), а також при визначенні ферментативної складової NADPH-залежного ПОЛ (НЗП, Δ), за швидкістю накопичення малонового діальдегіду (МДА) за 2 год інкубації. Вплив вивчених сполук на стан ПОЛ порівняно з контролем досліджували і методом залізоініційованої біохемілюмінесценції (БХЛ) [2, 3]. Вимірювання проводили на біохемілюмінометрі БХЛ-06 з фотопідсилюючою установкою ФЕП-79 при контрольованій температурі інкубації 37 °С. Для фракції РХ визначали інтенсивність швидкого спалаху БХЛ (розкладання гідроперекисів, I₁, ум. од.), для фракції ТАХ – інтенсивність повільного спалаху (I₂, ум. од.), яка характеризує наявність про- або антиоксидантів у системі, що зумовлено структурно-функціональними ознаками для реакцій з РХ і ТАХ [6, 14]. Вміст загальних продуктів ПОЛ у системі оцінювали як площу світлосуми БХЛ (S, імп.).

Структурну організацію хроматину, здатність досліджуваних сполук до структурної модифікації ланцюгів ДНК, негістонових білків та гістонів визначали з використанням флуоресцентних зондів – етидій броміду, пірену, флуорескаміну та методом гасіння білкової флуоресценції суспензій РХ і ТАХ дифузійним гасником акриламідом [9, 10, 15, 16]. У роботі застосовували спектрофотометр СФ-10, спектрофлуориметр Hitachi MPF-4 (Японія). Статистичну обробку результатів експерименту проводили методом параметричної та непараметричної статистики [1, 11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень загальних параметрів структури фракцій РХ і ТАХ клітин печінки інтактних щурів та за умов отруєння ТХМ і введення отруєним тваринам досліджуваних сполук наведено в таблиці 1.

При отруєнні ТХМ вірогідно знижувались параметр "частка фракції" ТАХ на 29,83 % та величина співвідношення білок/ДНК на 14,19 і 6,66 % у РХ, тоді як показник "частка фракції" РХ мав тенденцію до підвищення порівняно з контролем. Введення отруєним тваринам досліджуваних сполук приводило до нормалізації значень показника "частка фракції" ТАХ та незначної корекції його значень у РХ. Нормалізацію показника "білок/ДНК" визначено лише під впливом дії сполуки НС-109 у фракції ТАХ.

Результати досліджень стану ПОЛ у фракціях РХ і ТАХ клітин печінки інтактних тварин після отруєння ТХМ та при застосуванні *in vivo* сполук дибунолу, НКС-153 та НС-109 наведено в таблиці 2.

За умов отруєння ТХМ у фракціях РХ і ТАХ зростала швидкість накопичення МДА для НК. Застосування досліджуваних сполук *in vivo* супроводжувалось корекцією показника НК у ТАХ, а у фракції РХ – лише при ін'єкції сполуки НС-109, що підтверджує її високу антиоксидантну дію. Що стосується NADPH-індукованого ПОЛ, то підвищення швидкості накопичення МДА за умов отруєння ТХМ нормалізується в ТАХ при введенні тваринам досліджуваних сполук.

Як для фракції РХ, так і для ТАХ за умов аскорбатзалежного ПОЛ (АЗП) визначено нормалізацію даного показника до рівня контрольних значень при введенні всіх трьох вивчених сполук, спостерігався їх антиоксидантний вплив, найбільш ефективний для сполуки НС-109. Тобто, ін'єкція цієї сполуки спричиняла генопротекторну дію завдяки антиокси-

Таблиця 1 – Вплив ФАС у дослідах *in vivo* на загальні структурні показники фракцій РХ і ТАХ клітин печінки щурів за умов отруєння ТХМ

| | Показники | Контроль | Отруєння ТХМ | ТХМ+ дибунол | ТХМ+ НКС-153 | ТХМ+ НС-109 |
|-----|--------------------------|----------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| РХ | Частка фракції, % | 82,44 | 84,93 | 77,00 | 77,26 | 79,95 |
| | % до контролю | 100 | 103,02 | 94,13 | 93,71 | 96,98 |
| | Співвідношення білок/ДНК | 1,92 | 1,79 | 1,83 | 1,73 | 1,53 |
| | % до контролю | 100 | 93,34 | 96,47 | 90,18 | 79,99* |
| ТАХ | Частка фракції, % | 17,36 | 15,07 | 22,40** | 22,74** | 20,05** |
| | % до контролю | 100 | 85,81 | 127,57** | 129,53** | 114,20** |
| | Співвідношення білок/ДНК | 5,09 | 3,57* | 3,47* | 3,38* | 4,04** |
| | % до контролю | 100 | 70,17* | 68,17* | 66,49* | 79,31** |

Примітка. * – $p \leq 0,05$ відносно контролю; ** – $p \leq 0,05$ відносно отруєння ТХМ.

дантному впливу на реакції як спонтанного, так і індукованого ПОЛ.

При визначенні продуктів ПОЛ, що утворюються на ранніх етапах цих реакцій, – дієнових кон'югат отримані дані (табл. 3) свідчать про підвищення їх концентрації як у РХ, так і в ТАХ після отруєння ТХМ. Це стосується як продуктів ПОЛ, що утворюються з нейтральних ліпідів (гептановий шар ліпідного екстракту), так і фосфоліпідів (ізопропанольний шар). При введенні тваринам препарату порівняння "Дибунол" і похідних хіназолонів НКС-135 і NC-109 визначено нормалізацію процесу накопичення дієнових кон'югат в обох фракціях ядерного хроматину.

Мабуть, на ранніх етапах процесів перекиснення всі три вивчені сполуки нормалізували ПОЛ, але у подальшому лише сполука NC-109 цей вплив зберігала, що було виявлено при визначенні одного з кінцевих продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду.

Генопротекторний вплив S-вмісних похідних хіназолонів на фракції хроматину підтверджують також результати досліджень, отримані методом залізоініційованої біохемілюмінесценції (БХЛ) суспензій РХ і ТАХ, які наведено в таблиці 4.

Як видно, при застосуванні за умов отруєння ТХМ досліджуваних сполук *in vivo* лише сполука NC-109 та препарат порівняння "Ди-

Таблиця 2 – Вплив ФАС у дослідах *in vivo* на швидкість накопичення МДА (нмоль/мг білка за 2 год, n=3) у фракціях РХ і ТАХ печінки щурів за умов отруєння ТХМ

| Показники | Контроль | Отруєння ТХМ | ТХМ+дибунол | ТХМ+НКС-153 | ТХМ+NC-109 |
|-----------|----------|--------------|-------------|-------------|------------|
| РХ | | | | | |
| НК | 1012,48 | 1475,20* | 1892,28 | 1629,96 | 940,97** |
| НЗП | 19279,77 | 19879,79 | 12859,88 | 18265,12 | 17570,64 |
| НЗП,Δ | 19380,41 | 19618,29 | 19006,09 | 18009,44 | 18094,93 |
| АЗП | 2046,76 | 2416,06* | 1804,47** | 2148,17 | 1882,47** |
| ТАХ | | | | | |
| НК | 4511,60 | 5305,04* | 3603,01** | 3789,66** | 3217,41** |
| НЗП | 55354,39 | 59629,44* | 50559,98** | 51215,74** | 51434,33** |
| НЗП,Δ | 54841,84 | 58963,31* | 51277,14** | 51431,87** | 50628,75** |
| АЗП | 2027,21 | 2542,00* | 2158,86** | 2043,42** | 1662,74** |

Таблиця 3 – Вплив ФАС на концентрацію дієнових кон'югат (нмоль/мг білка) у фракціях РХ і ТАХ клітин печінки щурів за умов отруєння ТХМ і лікувально-профілактичного їх застосування

| Показники | | Контроль | Отруєння ТХМ | Дибунол | НКС-153 | NC-109 |
|-----------|---------------|----------|--------------|-----------|-----------|-----------|
| РХ | Гептан | 327,46 | 432,33* | 354,20** | 365,52** | 374,99** |
| | % до контролю | 100 | 132,03* | 108,17** | 111,62** | 114,51** |
| | Ізопропанол | 858,02 | 1355,00* | 1015,51** | 1045,06** | 1009,43** |
| | % до контролю | 100 | 157,92* | 118,36** | 121,80** | 117,65** |
| ТАХ | Гептан | 568,58 | 800,44* | 528,30** | 446,80** | 487,85** |
| | % до контролю | 100 | 140,78* | 92,92** | 78,58** | 85,80** |
| | Ізопропанол | 636,72 | 901,35* | 547,51** | 467,85** | 518,13** |
| | % до контролю | 100 | 141,56* | 85,99** | 73,48** | 81,37** |

Таблиця 4 – Параметри залізоініційованої БХЛ суспензій РХ і ТАХ клітин печінки щурів за умов отруєння ТХМ та застосування дибунолу НКС-153 і NC-109 *in vivo* (t=37 °C)

| Параметр БХЛ | Контроль (інтактні щури) | Отруєння ТХМ | ТХМ+дибунол | ТХМ+НКС-153 | ТХМ+NC-109 |
|--------------------------|--------------------------|--------------|-------------|-------------|------------|
| РХ | | | | | |
| I ₁ , ум. од. | 26,0±3,0 | 44,8±3,6* | 32,2±3,0** | 37,0±3,6 | 31,5±2,8** |
| S, імп. | 2656±510 | 5800±500* | 4100±350 | 3650±310** | 4440±380 |
| ТАХ | | | | | |
| I ₂ , ум. од. | 43,2±4,5 | 68,6±5,8* | 40,0±4,4** | 57,2±4,4 | 46,2±4,4** |
| S, імп. | 5480±455 | 8242±560* | 6580±400* | 5880±440** | 6030±510** |

бунол" призводили до статистично вірогідного зниження (до значень "Отруєння ТХМ") інтенсивності швидкого спалаху I_1 у фракції РХ, але при цьому не зменшувалась до значень контролю кількість продуктів ПОЛ, на що вказує величина площі світлосуми реакції (S , імп.). У фракції ТАХ за умов отруєння ТХМ введення тваринам сполук дибунолу та NC-109 спричиняло достовірну антиокиснювальну дію: при цьому мала місце нормалізація повільного спалаху I_2 та значень площі світлосуми, у тому числі при введенні сполуки НКС-153, хоча для цієї сполуки відсутня корекція показників I_1 і I_2 (РХ і ТАХ відповідно). Таким чином, проведені дослідження впливу S-вмісних похідних хіназолонів на стан ліпопереокиснення у фракціях ядерного хроматину свідчать про наявність ефекту інгібування вільнорадикальних реакцій за умов отруєння ТХМ та введення тваринам досліджуваних сполук, який найбільш виражений для сполуки NC-109.

У таблиці 5 наведено результати досліджень фізико-хімічних параметрів фракцій РХ і ТАХ клітин печінки інтактних тварин та таких після отруєння ТХМ і лікувально-профілактичної дії сполук – похідних хіназолонів НКС-153 і NC-109 та препарату порівняння "Дибунол".

Про те, що при отруєнні ТХМ у фракціях хроматину мають місце структурні пертурбації у білкових молекулах, гістонах, порушення стану подвійного ланцюга ДНК, свідчать зміни фізико-хімічних показників: F_{330} (флуоресценції триптофанів), K_{sv} , M^{-1} (константи Штерна-Фольмера – гасіння білкової флуоресценції акриламідом), $F_{фк}$ (флуоресценції барвника флуорескаміну при вбудовуванні його в гістони), W , ум. од. (вірогідності індуктивно-резонансного перенесення енергії), $F_{ЕБ}$ (інтенсивності флуоресценції інтеркалятора етидій броміду при вбудуванні його в подвійний ланцюг ДНК).

У результаті введення отруєним тваринам досліджуваних сполук лише сполука NC-109 у фракціях РХ і ТАХ та дибунол у ТАХ нормалізували показник F_{330} , а отже, структуру триптофанових білків. Підвищення показника K_{sv} для фракцій РХ і ТАХ отруєних щурів (більш можливий доступ гасника акриламіду до флуорофорів при зростанні розпушення структури білків) нормалізувалось у фракції ТАХ при введенні тваринам сполуки НКС-153 та дибунолу, тоді як у фракції РХ похідні хіназолонів лише наближали даний показник до контрольного значення. У гістонах для зразків отруєних щурів порівняно з контролем виявлено підвищення показника $F_{фк}$ (концентрації позитивно заряджених ϵ - NH_2 -груп) у фракції РХ та зниження його у фракції ТАХ. Введення тваринам сполук – похідних хіназолонів нормалізувало даний показник у фракції РХ, тоді як для дибунолу корекція в цій фракції була відсутня. У ТАХ корекцію цього параметра визначено лише при введенні сполуки NC-109. Тобто проведені дослідження свідчать про здатність сполуки NC-109 до корекції структурних порушень білкових молекул як у негістонових білках, так і в гістонах ядерного хроматину, в чому проявилася його генопротекторна дія.

Порушення стану білково-ліпідного контакту в результаті отруєння (зміни показника W) у фракції ТАХ не компенсувалися при застосуванні *in vivo* похідних хіназолонів, крім дибунолу. В фракції РХ визначено вірогідне зниження даного показника порівняно із значенням отруєння ТХМ при введенні тваринам сполуки НКС-153 та дибунолу. Відсутність корекції порушень білково-ліпідного контакту для сполуки NC-109 зумовлена, очевидно, її властивостями ліпофільності, що не дозволяє молекулі проникнути у гідрофобні зони фосфоліпідного бішару, де локалізований гідрофобний зонд пірен.

Таблиця 5 – Фізико-хімічні показники фракцій репресованого та транскрипційно активного хроматину клітин печінки інтактних тварин за умов отруєння ТХМ і лікувально-профілактичного введення дибунолу та сполук НКС-153 і NC-109

| | Середовище | F_{330} , відн. од. | K_{sv} , M^{-1} | $F_{фк}$, відн. од. | W , ум. од. | $F_{ЕБ}$, відн. од. |
|-----|---------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|---------------|----------------------|
| РХ | Інтактні (контроль) | 1,00 | 6,27±0,54 | 1,0 | 0,303±0,039 | 1,0 |
| | Отруєння ТХМ | 1,38* | 9,07±0,39* | 1,43* | 0,388±0,007* | 0,96 |
| | ТХМ+дибунол | 1,39 | 7,63±0,60** | 1,46 | 0,367±0,010** | 1,08 |
| | ТХМ+НКС-153 | 1,29 | 8,80±0,30 | 0,88** | 0,345±0,010** | 1,02 |
| | ТХМ+NC-109 | 1,25** | 8,42±0,33 | 1,10** | 0,410±0,018 | 1,04 |
| ТАХ | Інтактні (контроль) | 1,00 | 8,0±0,60 | 1,0 | 0,561±0,003 | 1,0 |
| | Отруєння ТХМ | 0,77* | 9,35±0,30* | 0,72* | 0,519±0,015* | 1,14* |
| | ТХМ+дибунол | 1,01** | 10,40±0,30 | 0,69 | 0,552±0,031** | 1,13 |
| | ТХМ+НКС-153 | 0,93 | 8,18±0,60** | 0,73 | 0,314±0,033 | 1,12 |
| | ТХМ+NC-109 | 0,96** | 10,37±0,60 | 0,97** | 0,378±0,053 | 1,09** |

Як показали дослідження з використанням флуоресцентного зонда етидій броміду, зміни інтенсивності флуоресценції інтеркалятора під впливом отруєння ТХМ порівняно з контролем (зниження показника F_{EB} на 4 % в РХ та підвищення його в ТАХ на 14 %) віддзеркалюють ступінь включення зонда між нитками подвійного ланцюга ДНК у РХ і ТАХ відповідно. При введенні тваринам сполук НКС-153 і НС-109 відмічено нормалізацію показника F_{EB} , але дані не достовірні. У фракції ТАХ лише сполука НС-109 вірогідно (відносно отруєння ТХМ) змінювала цей показник у бік нормалізації, тобто мали місце зниження ступеня спіралізації ДНК (яка збільшувалася при отруєнні ТХМ), наближення значень показника до контрольних, що свідчить про здатність даної сполуки до нормалізації структури ДНК у хроматині, про її геномозахисну дію.

ВИСНОВКИ. Результати проведених досліджень показали, що S-вмісні похідні хіназолонів нормалізують стан ПОЛ у фракціях репресованого та транскрипційно активного хроматину як на ранніх етапах процесів перекиснення, так і в подальшому, при накопиченні кінцевих продуктів ПОЛ. Корекція загальних структурних показників у фракціях РХ і ТАХ при застосуванні *in vivo* похідних хіназолонів свідчить про їх нормалізуючу гепатопротекторну дію. Здатність даних сполук позитивно впливати на порушені при отруєнні ТХМ компоненти структури хроматину – негістонові білки та гістони, стан спіралізації ДНК свідчить про структурну модифікацію цих компонентів ядерного хроматину даними сполуками, що вказує на їх геномозахисну дію, яка найбільш виражена для сполуки НС-109.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Васильев И.Н. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. – 78 с.
2. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., Азимбаев Т.К. Оценка антиокислительной и антирадикальной активности веществ и биологических активностей с помощью железоинициированной хемилюминесценции // Биофизика. – 1992. – **37**, № 6. – С. 1041-1047.
3. Глушков Р.Г., Гуськова Т.А., Голиков П.П. и др. Изучение антиокислительных свойств арбидола // Хим. фарм. журн. – 1996. – № 1. – С. 3-5.
4. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л. Механизмы перекисного окисления липидов фракций хроматина печени крыс // Укр. биохим. журн. – 1993. – **65**, № 5. – С. 34-43.
5. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л. Фармакокоррекция генотоксических повреждений клеток печени природными и синтетическими антиоксидантами // II Нац. з'їзд фармакологів України: Тези доп. – Днепропетровск, 2001. – С. 68.
6. Губский Ю.И., Примак Р.Г., Горюшко А.Г., Левицкий Е.Л. Изучение компонентов фракций хроматина печени крыс методами флуоресцентного зондирования // Биополимеры и клетка. – 1999. – **10**, № 6. – С. 92-97.
7. Губський Ю.І., Левицький Е.Л., Горюшко Г.Г. та ін. Взаємодія нових похідних піридинкарбонових кислот з ізольованими фракціями ядерного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлометаном щурів // Совр. пробл. токсикоз. – 2002. –

№ 2. – С. 26-32.

8. Губський Ю.І., Левицький Е.Л., Горюшко Г.Г. та ін. Дослідження геномозахисної дії S-вмісних похідних хіназолонів та піримідохіназолонів за умов *In vitro* // Там же. – 2006. – № 1. – С. 47-52.

9. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М.: Наука, 1089. – 277 с.

10. Демченко А.П. Люминесценция и динамика структуры белков. – К.: Наукова думка, 1988. – 280 с.

11. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

12. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И. Биохимическая характеристика фракций транскрипционно активного и репрессированного хроматина печени крыс // Биополимеры и клетка. – 1993. – **9**, № 6. – С. 13-21.

13. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И. Свободно-радикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки // Укр. биохим. журн. – 1994. – **66**, № 4. – С. 18-30.

14. Сидорик Е.П., Баглей Е.А., Данко М.И. Биохемилюминесценция при опухолевом процессе. – К.: Наукова думка, 1989. – 220 с.

15. Bode J. On the reaction of fluorescamine with chromosomal proteins // Anal. Biochem. – 1979. – **99**, № 2. – P. 274-280.

16. Lawrence J.J., Lonis M. Etidium bromide as a probe of chromatin structure // FEBS Letters. – 1974. – **40**, № 1. – P. 9-12.

ГЕНОМОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА S-СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛОНОВ – СОЕДИНЕНИЙ NKC-153, NC-109 – В УСЛОВИЯХ ОТРАВЛЕНИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ. ИССЛЕДОВАНИЯ IN VIVO

**Ю.И. Губский, Е.Л. Левицкий, А.Г. Горюшко, О.В. Афанасенко¹, И.Ф. Беленичев²,
Л.П. Бабенко, С.В. Павлов², Т.Н. Курапова, А.Н. Величко, А.Н. Марченко**
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА¹
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ²

Резюме

С помощью ряда биохимических и физико-химических методов показано наличие у двух представителей S-производных хиназолонов – веществ NKC-153 и NC-109 – геномозащитных свойств в условиях интоксикации животных гепатотоксином тетрахлорметаном.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фракции транскрипционно активного и репрессированного ядерного хроматина, тетрахлорметан, геномозащитные свойства производных хиназолонов.

GENOME-PROTECTIVE PROPERTIES OF S-CONTAINING DERIVATIVES OF CHYNASOLINES – SUBSTANCES NKC-153, NC-109 – IN CONDITIONS OF TETRA-CHLOROMETHANE INTOXICATION. STUDIES IN VIVO

**Yu.I. Hubsy, E.L. Levytsky, H.H. Horiusko, O.V. Afanasenko¹, I.F. Belenichev²,
L.N. Babenko, S.V. Pavlov², T.M. Kurapova, O.M. Velychko, O.M. Marchenko**
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S¹
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY²

Summary

Using some biochemical and physical-chemical methods of study, genome-protective activity of two S-derivatives of chynasolines – substances NKC-153 and NC-109 has been established in conditions of animal intoxication by tetrachloromethane.

KEY WORDS: transcriptionally active and repressed nuclear chromatin fractions, tetrachloromethane, genome-protective activity of chynasoline derivatives.

Адреса для листування: Ю.І. Губський, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, вул. Пушкінська, 22, Київ, 01000, Україна.

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

НАНОРОЗМІРНІ СИСТЕМИ ГЛИНИСТИХ МІНЕРАЛІВ ТА КРЕМНЕЗЕМУ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГЕМОФІЛІЮ "А"

М.В. Суховій¹, С.В. Паховчишин², Є.В. Авер'янов¹,
С.В. Бурнаєва¹, В.І. Семеняка¹, А.В. Панько²

ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ¹
ІНСТИТУТ БІОКОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ІМ. Ф.Д. ОВЧАРЕНКА НАН УКРАЇНИ²

Для лікування хворих на гемофілію нанорозмірні системи глинистих мінералів мають ряд важливих особливостей, які можна використовувати при місцевому лікуванні поверхневих інфікованих ран, опіків та для покращання наслідків лікування гемартрозів і міжм'язових та внутрішньом'язових гематом. Показано, що застосування глинистих мінералів і кремнезему з добавками диметилсульфоксиду та рослинних екстрактів у комплексному лікуванні хворих на гемофілію дозволяє знизити рівень ендотоксикації та опосередковано підвищити прокоагулянтну активність крові, а в цілому – прискорити відновлення організму хворого після геморагічного ускладнення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемофілія, каолін, глинисті мінерали, кремнезем, згортання крові.

ВСТУП. Гемофілія "А" (ГА) – спадкове захворювання, що клінічно проявляється кровотечами різної локалізації, інтенсивність яких не корелює зі ступенем ураження судин. Наприклад, при ураженні судин середнього калібру спостерігається кровоточивість такої сили, яка у здорових осіб може відзначатися при порушенні цілісності великих судин, або навіть перевищує її. Причиною цього є порушення згортальних властивостей крові внаслідок уродженого дефіциту антигемофільного глобуліну (плазмового коагуляційного фактора VIII), який бере участь у протромбіназотворенні.

Найчастішими ускладненнями гемофілії є гемартрози та гематоми, які призводять до стійких порушень локомоторного апарату внаслідок розвитку артропатій, міопатій та контрактур. Поверхневі рани у хворих на гемофілію не становлять безпосередньої небезпеки для життя, але вони є інфікованими і можуть нагноюватися. Їх загоювання відбувається повільно, з частими рецидивами кровотечі. При цьому існує високий ризик розвитку сепсису та анемізації хворого. У разі виникнення опіків кровотечі, як правило, розвиваються під час загоювання і мають характер "кривавої роси". Загоювання поверхневих ран та опіків у хворих на гемофілію є проблематичним, що пов'язано з

порушенням репарації тканин внаслідок ранової інфекції та дефіциту прокоагулянтних властивостей антигемофільного глобуліну. З метою корекції вказаного порушення пацієнтам вводять екзогенний препарат ф. VIII. Дозу препарату, який необхідно ввести хворому, визначали з урахуванням тяжкості перебігу ГА і тяжкості геморагічного ускладнення.

При лікуванні гемартрозів і міжм'язових гематом для посилення розсмоктування та зменшення запальних процесів місцево використовують ряд препаратів (розчини йодиду літію та йодиду калію, лідазу, ранідазу, деякі кортикостероїдні гормони). Але трансдермальний транспорт цих препаратів, навіть при використанні фізіотерапевтичних методів, є незначним. Застосування диметилсульфоксиду дозволяє посилити процес перенесення діючої речовини, але при цьому лабораторно виявляються ознаки ендотоксикації, що, найімовірніше, зумовлено двома чинниками – впливом власне диметилсульфоксиду та посиленням розпаду деструктованих клітин і білків крові в ділянці крововиливу. Крім того, на диметилсульфоксид часто виникають алергічні реакції, зберігається висока ймовірність виникнення хімічного опіку.

Для забезпечення місцевого гемостазу при веденні поверхневих ран традиційно використовують препарати, що сприяють згортанню

крові у рані (тромбін, гемостатичну губку, епсилон-амінокапронову кислоту тощо). Тривалість гемостазу, отриманого за їх допомогою, недостатня. Це зумовлено ензимною активністю наявної патологічної мікрофлори та зростанням концентрації токсичних речовин у рані.

Проблема опіків у хворих на гемофілію постає нечасто і вивчена недостатньо. Специфічні методи їх лікування у цих пацієнтів не розроблені повною мірою. Основними напрямками медикаментозного лікування, поруч з антигемофільною терапією опіків, є забезпечення антисептики, посилення кровопостачання на ураженій ділянці. Найчастіше, разом з антигемофільною терапією, застосовують протиопікові препарати, в разі потреби проводять некротомію тканин у зоні опіку. Перебіг опіків у хворих на гемофілію, як і в осіб з нормальною згортальною активністю крові, супроводжується значною ендотоксикацією. Збільшення концентрації ендотоксичних субстанцій, особливо пролінвмісних середньомолекулярних пептидів, негативно впливає на коагуляційну активність. При цьому у хворих на гемофілію та здорових пацієнтів спостерігаються два протилежні типи реакцій: у гемофіліків підвищується схильність до кровотеч, в осіб з нормальним згортанням збільшується вірогідність появи тромботичних ускладнень, часто розвивається синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові.

Вказані недоліки місцевого лікування визначають необхідність пошуку нових лікарських засобів, які можна було б використовувати поряд із замісною трансфузійною терапією при наданні комплексної лікарської допомоги хворим на гемофілію.

Проте нанорозмірні системи глинистих мінералів (НСГМ) мають ряд важливих особливостей, які можна використовувати при місцевому лікуванні поверхневих інфікованих ран, опіків та для покращання наслідків лікування гемартрозів і міжм'язових та внутрішньом'язових гематом [1-3]. Зокрема, кремнезем може активувати фібринотворення у рані. Механізми цього процесу пов'язані з активацією ф.ф. XII та XI згортання крові та калікреїн-кінінової системи, а також з посиленням доступу ф. VII до тканинного фактора. Ці взаємодії є початковими етапами згортання крові. Крім того, композиції на основі ГМ мають високу сорбційну активність, що сприяє виведенню токсичних речовин.

Метою дослідження було вивчення ефективності композицій на основі нанорозмірних систем глинистих мінералів при лікуванні

гемартрозів, гематом, поверхневих інфікованих ран та опіків у хворих на гемофілію "А".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом дослідження була венозна кров хворих на ГА, яку отримували з кубітальної вени натщесерце з 9-ї до 10-ї години ранку. Кров поміщали у пластикову пробірку з 3,8 % розчином цитрату натрію у співвідношенні об'ємів кров:антикоагулянт 9:1.

Загалом обстежено 54 пацієнти, яких було поділено на 2 групи: 1-ша – хворі на ГА з поверхневими інфікованими ранами та опіками; 2-га – хворі на ГА з гемартрозами та міжм'язовими гематомами гомілки і стегна на стадії розсмоктування. Пацієнтів кожної групи поділили на 2 підгрупи. До підгруп I-1 та I-2 було включено хворих, яким не призначали НСГМ, а до підгруп II-1 та II-2 – пацієнтів, які, поряд із традиційними методами, застосовували НСГМ. До 1-ї групи ввійшли 22 хворих (40,7 %), з яких 12 (22,2 %) було включено до підгрупи I-1, а 10 (18,5 %) – до підгрупи I-2. До 2-ї групи – 32 пацієнти (59,3 %), а до підгруп II-1 та II-2 – 17 (31,5 %) і 15 (27,8 %) відповідно.

Для визначення активності факторів внутрішнього шляху протромбіназотворення проводили дослідження індексу максимальної активності (МА) аутокоагуляційного тесту (АКТ). АКТ дозволяє встановити швидкість та інтенсивність генерації протромбінази і переведення протромбіну в тромбін, які у хворих на ГА залежать в основному від активності ф. VIII та найбільш повно відображаються індексом МА. Для встановлення рівня ендогенної інтоксикації досліджували концентрацію середньомолекулярних пептидів. У хворих 2-ї групи проводили кількісну оцінку функціональних порушень опорно-рухового апарату в артрологічних хворих за допомогою Стенфордської анкети оцінки здоров'я (табл. 1).

Визначення достовірності різниць середніх значень досліджуваних параметрів у хворих досліджуваних підгруп проводили з використанням t-критерію Стьюдента для малих вибірок.

У ході лікування застосовували нанорозмірні системи глинистих мінералів такого складу: екстракт горіха волоського водно-спиртовий, згущувач аеросил, метаколін (каолін, прожарений при 800 °С) для хворих підгрупи I-2; диметилсульфоксид, олія чайного дерева, каолін для пацієнтів підгрупи II-2. Термін лікування складав 7-10 діб. Дослідження проводили у динаміці до початку терапії, під час лікування та відразу після його завершення.

Таблиця 1 – Шкала оцінки функціональних спроможностей

| № за/п | Як Ви виконуєте такі дії? | Бали | | | | УСЬОГО |
|--------|---|------|---|---|---|--------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 1 | Одягання, в тому числі зав'язування шнурівок та застібання гудзиків | 0 | 1 | 2 | 3 | УСЬОГО |
| 2 | Вставання (лягти – встати з ліжка) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 3 | Приймання їжі (піднести до рота повну чашку або склянку і пити) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 4 | Пішохідні прогулянки поблизу дому | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 5 | Особиста гігієна (вмити і витерти тіло повністю) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 6 | Спритність (зігнутися, щоб підняти одягу з підлоги) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 7 | Сила кисті (повернути і відкрити водогінний кран) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 8 | Користування транспортом (ввійти – вийти з автобуса) | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| УСЬОГО | | | | | | |

Примітка: 0 балів – легко, без напруження; 1 бал – з деяким утрудненням; 2 бали – з великим напруженням; 3 – не можу виконати зовсім.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку 1 наведено динаміку змін індексу МА АКТ.

НСГМ, яку застосовували у хворих підгрупи I-2, спричиняла комплексний вплив на систему гемостазу, що полягав у безпосередній активації прокоагулянтних реакцій при контакті з кров'ю та опосередкованому впливі на механізми, здатні стимулювати реакції фібриноутворення в рані. Такий вплив зумовлений особливостями дії складових препарату. Екстракт горіха містить речовини, які призводять до стимуляції судинно-тромбоцитарного гемостазу. При цьому відбуваються вазоконстрикція і стимуляція тромбоцитарної адгезії та агрегації, що спричиняє утворення первинного тромбу. Метакоалін є активатором контактної фази гемостазу, запускаючи механізм протромбіноутворення через вплив на XII фактор згортання крові та калікреїн-кінінову систему. Крім

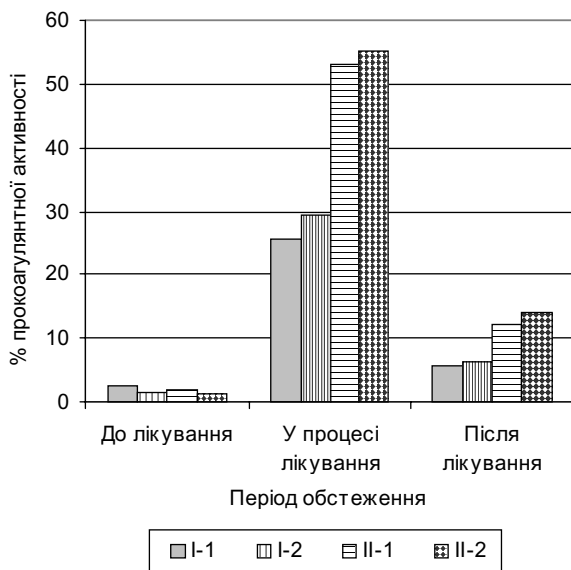


Рис. 1. Зміни прокоагулянтної активності у хворих досліджуваних груп.

того, контакт метакоаліну з ушкодженими тканинами та клітинами крові провокує розвиток "реакції доступності" тканинного фактора, який, активуючи VII фактор згортання крові, утворює з ним комплекс, що теж бере участь у протромбіноутворенні. Протромбіназа сприяє переведенню протромбіну в тромбін, а останній фібриноген – у фібрин, який "цементує" первинний тромб. Вищевказані механізми впливу на систему гемостазу задіяні у рані, про що свідчить той факт, що різниця між середніми значеннями МА АКТ була недостовірною ($p > 0,05$) під час лікування між усіма підгрупами пацієнтів. У перші терміни після закінчення лікування прокоагулянтна активність у тих пацієнтів, в яких застосовували НСГМ, була достовірно вищою, ніж у хворих тих підгруп, яким композиції не призначали.

Дослідження середньомолекулярних пептидів (рис. 2) показало, що у тих пацієнтів, яким призначали НСГМ, та пацієнтів підгрупи I-2 мало місце поступове зменшення вмісту ендотоксичних субстанцій, а у хворих підгрупи II-2 такий ріст спостерігався на піку розсмоктування крововиливу і був достовірно меншим, ніж у підгрупі II-1 в аналогічний період спостереження ($p < 0,01$).

Метакоалін та аеросил сорбують біологічно активні токсини в рані, що приводить до зменшення їх концентрації у кров'яному руслі. Цей феномен може пояснити, певною мірою, причину. Комплекс з диметилсульфоксидом та олією чайного дерева проявляє протизапальну дію, посилює трансмембранний обмін. Про це свідчать результати дослідження вмісту середньомолекулярних пептидів у сироватці крові хворих на гемофілію (рис. 3).

Зменшення рівня ендотоксикації супроводжувалось збільшенням прокоагулянт-

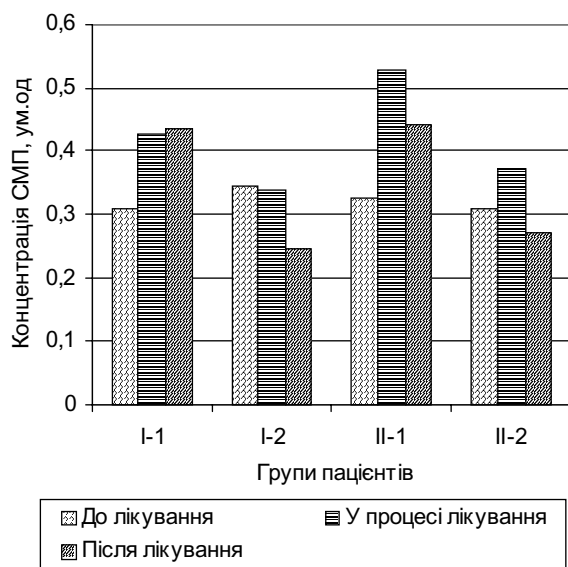


Рис. 2. Зміни концентрації середньомолекулярних пептидів (довжина хвилі – 254 нм) у процесі лікування.

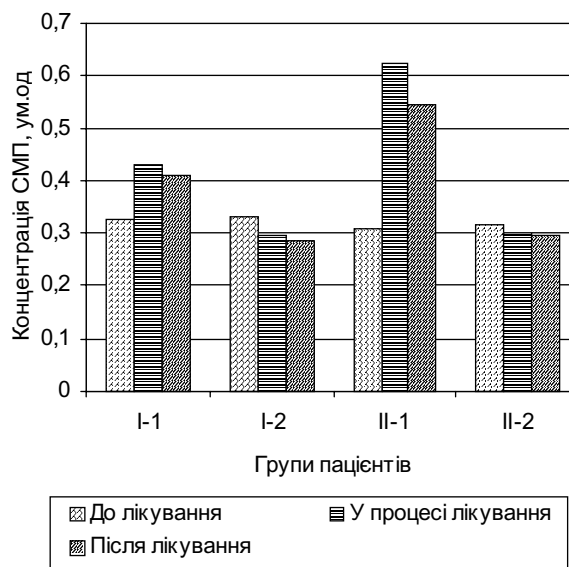


Рис. 3. Зміни концентрації середньомолекулярних пептидів (довжина хвилі – 280 нм) у процесі лікування.

ної активності у ранній термін після закінчення лікування.

Дослідження функціональної спроможності опорно-рухового апарату пацієнтів 2-ї групи за допомогою Стенфордської анкети показало, що при застосуванні НСГМ пришвидшується відновлення локомоторної функції ураженої кінцівки.

ВИСНОВОК. Застосування НСГМ у комплексному лікуванні хворих на гемофілію дозволяє знизити рівень ендотоксикації та опосередковано підвищити прокоагулянтну активність крові, а в цілому – прискорити відновлення організму хворого після геморагічного ускладнення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Паховчишин С.В., Прокопенко В.А., Гриценко В.Ф. та ін. Колоїдно-хімічні та лікувальні властивості нанорозмірних систем глинистих мінералів. Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – К.: Академперіодика, 2004. – С. 1069-1074.
2. Bentonite, kaolin, and selected clay minerals

(Environmental Health Criteria 231). – Geneva: World Health Organization, 2005. – P. 185.

3. Pakhovchyshyn S.V., Sukhovy M.V., Averyanov Ye.V. et al. Swelling, Rheological and Medical Properties of Clay Minerals // Book of abstracts, 17 Conf. on Clay Min., Prague. – Sept. 2004. – P. 51.

НАНОРАЗМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ГЛИНИСТЫХ МИНЕРАЛОВ И КРЕМНЕЗЕМА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ "А"

М.В. Суховий¹, С.В. Паховчишин², Е.В. Аверьянов¹,
С.В. Бурнаева¹, В.И. Семеняка¹, А.В. Панько²

ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ¹
ИНСТИТУТ БИОКОЛОИДНОЙ ХИМИИ ИМ. Ф.Д. ОВЧАРЕНКА НАН УКРАИНЫ²

Резюме

Для лечения больных гемофилией наноразмерные системы глинистых минералов имеют ряд важных особенностей, которые можно использовать при местном лечении поверхностных инфицированных ран,

ожогов и для улучшения последствий лечения гемартрозов, межмышечных и внутримышечных гематом. Показано, что применение глинистых минералов и кремнезема с добавками диметилсульфоксида и растительных экстрактов в комплексном лечении больных гемофилией позволяет снизить уровень эндоинтоксикации и опосредствованно повысить прокоагулянтную активность крови, а в целом – ускорить восстановление организма больного после геморрагического осложнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемофилия, каолин, глинистые минералы, кремнезем, сворачиваемость крови.

NANO-DIMENSIONAL SYSTEMS OF CLAY MINERALS AND SILICA IN COMPLEX TREATMENT OF HEMOPHILIA "A" PATIENTS

**M.V. Sukhovi¹, S.V. Pakhovchyshyn², Ye.V. Averyanov¹,
S.V. Burnayeva¹, V.I. Semenyaka¹, A.V. Panko²**

*INSTITUTE OF HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY OF SAS¹
INSTITUTE OF BIOCOLLOID CHEMISTRY BY F.D. OVCHARENKO OF NAS OF UKRAINE²*

Summary

For hemophilia patients treatment nano-dimensional systems of clay minerals have a number of significant properties which can be used for local treatment of subcutaneous infected wounds, burns and for improvement of the outcomes of hemarthroses, intermuscular and intramuscular hematoma treatment. It has been clearly shown that application of clay minerals and silica with addition of dimethyl sulfoxide and vegetable extracts in complex treatment of hemophilia patients allows to reduce endointoxication level, to rise blood procoagulating activity, and, on the whole, to accelerate patient's organism rehabilitation after hemorrhagic complication.

KEY WORDS: hemophilia, kaolin, clay minerals, silica, blood coagulation.

Адреса для листування: М.В. Суховій, Інститут гематології та трансфузіології АМН України, вул. Максима Берлінського, 12, Київ, 04069, Україна.

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

ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ ТА СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ.

II. ЕНЕРГЕТИЧНІ ТА КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ УТВОРЕННЯ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІВ МОЛЕКУЛАМИ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК

Ю.І. Губський, О.В. Афанасенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У статті наведено результати експериментальних досліджень та квантово-хімічних розрахунків енергетичних і кінетичних характеристик утворення вільних радикалів молекулами природних та синтетичних фенольних сполук – α -токоферолу, іонолу та гідроксинафталінів. Установлено наявність корелятивних взаємозв'язків між значеннями антиоксидантної активності досліджуваних сполук та енергією активації, константами швидкості утворення та енергією резонансу вільнорадикальних форм відповідних фенолів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: феноли, α -токоферол, іонол, гідроксинафталіни, енергія резонансу, ентальпія та енергія активації утворення вільнорадикальних форм.

ВСТУП. У нашій попередній роботі [4] було показано наявність корелятивних зв'язків між антиоксидантними (АО), антирадикальними (АР) властивостями фізіологічно активних сполук (ФАС) з класу одно- і двоядерних фенолів та енергетичними параметрами цих молекул, такими, як енергія вищої заповненої молекулярної орбіталі, нижчої незаповненої молекулярної орбіталі, й потенціалом іонізації.

Разом із тим, добре відомо [3], що активність фенолів як антиоксидантів значною мірою залежить від енергетичних та кінетичних характеристик утворення цими хімічними сполуками власних вільнорадикальних форм (ВР-форм) за рівнянням:



Виходячи з цього, зрозуміло також, що АР-та, відповідно, АО-активності фенольних сполук будуть визначатися як швидкістю накопичення в системі їх ВР-похідних, так і термодинамічною стабільністю утворюваних радикалів, кількісною мірою якої є енергія резонансу часточок, а також їх здатністю виступати донорами електронів у реакціях гасіння хімічно активних вільних радикалів (ВР) [2].

Тому становить значний інтерес вивчення кінетичних та термодинамічних параметрів

© Ю.І. Губський, О.В. Афанасенко, 2007.

утворення вільних радикалів молекулами фенольних ФАС (зокрема, ентальпія та енергія активації утворення ВР-форм і відповідні константи швидкості реакції) та енергії резонансу молекулярних часточок, що утворюються. Вивчення цих параметрів і стало метою даного дослідження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою вивчення термодинамічних (ентальпія, енергія активації та енергія резонансу молекул і вільних радикалів) характеристик генерації ВР-форм фенольних АО (α -токоферол, іонол, гідроксинафталіни) та їх антиоксидантних властивостей було застосовано методи комп'ютерної хімії та біохімічні методи, описані в нашій попередній роботі [4]. Кінетичні константи відносної швидкості утворення вільних радикалів розраховували за рівнянням Арреніуса [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблицях 1 і 2 наведено ентальпію та енергію активації утворення ВР-форм α -токоферолу й іонолу і відповідні константи швидкості реакції.

Як свідчать наведені дані, енергія активації утворення ВР-форми природного АО α -токоферолу нижча, ніж така для синтетичного фенольного АО іонолу, що не містить гідрофобного бічного ланцюга та є менш активним

Таблиця 1 – Ентальпія реакції утворення молекулярних (H_f , мол.) та вільнорадикальних (H_f , рад.) форм α -токоферолу й іонолу (кДж/моль) (гамільтоніан RM-3)

| ФАС | $H_{f, \text{мол.}}$ | $H_{f, \text{рад.}}$ |
|---------------------|----------------------|----------------------|
| α -Токоферол | -737,6 | -284,9 |
| Іонол | -624,6 | -152,0 |

Таблиця 2 – Енергія активації (ΔH_f) та відносні константи швидкості реакцій ($k_{\text{відн.}}$) утворення вільнорадикальних форм α -токоферолу й іонолу

| ФАС | ΔH_f , кДж/моль | $k_{\text{відн.}}$ |
|---------------------|-------------------------|--------------------|
| α -Токоферол | +331,0 | $3,32 \cdot 10^3$ |
| Іонол | +351,0 | 1,00 |

Примітки: 1. ΔH_f , тобто ентальпію реакції утворення вільного радикала з молекулярної форми ФАС розраховували з урахуванням H_f для вільного протона, що дорівнює 217,995 кДж/моль (розрахунок за вказаною вище програмою).

2. Відносні константи швидкості утворення ВР-форм ФАС розраховували за рівнянням Арреніуса, поклавши k для β -нафтолу таким, що дорівнює одиниці (1,0).

антиоксидантом. Згідно з цим, відносна константа швидкості утворення ВР-форми α -токоферолу, розрахована за рівнянням Арреніуса, перевищує таку для іонолу більше ніж у $3 \cdot 10^3$ рази, що узгоджується з результатами наших експериментальних досліджень співвідношень між АР- та АО-активностями цих заміщених фенолів [4].

Подібні співвідношення між АР- і АО-активностями, енергією активації утворення ВР-форм та константами швидкості відповідних реакцій отримано і для двоядерних фенолів з класу гідроксинафталінів, зокрема β -нафтолу, α -нафтолу та 1,5-дигідроксинафталіну (табл. 3), АО-активність яких зменшувалась у ряду β -нафтол > α -нафтол > 1,5-дигідроксинафталін [4]. До того ж, виявлено негативну кореляцію ($r = -0,997$; $p = 0,046$) між значеннями АО-активності та ентальпією реакцій утворення ВР-форм гідроксинафталінів (ΔH_f) (рис. 1).

Відомо, що реакційна здатність вільнорадикальних сполук та бірадикалів значною мірою визначається їх стійкістю, або стабільністю. До того ж, розрізняють кінетичну та термодинамічну стабільність ВР. Кінетична стійкість (ста-

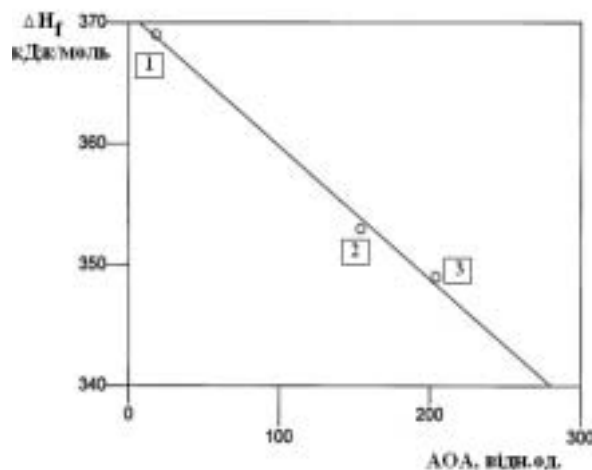


Рис. 1. Негативна кореляція між значеннями АО-активності та ентальпією реакцій утворення ВР-форм гідроксинафталінів (ΔH_f):

1 – β -нафтол; 2 – α -нафтол; 3 – 1,5-дигідроксинафталін.

більність) радикала зумовлена його геометричною структурою і збільшується в міру того, як ускладнюється атомно-молекулярне оточення того атома (вуглецю, азоту тощо), на якому міститься неспарений електрон. Термодинамічна стійкість ВР, як і молекули або іона, визначається запасом вільної енергії часточки ΔG , яка, в разі ВР, зменшується в міру делокалізації електронної щільності неспареного електрона в спряженій лінійній або ароматичній π -системі. Енергія, що характеризує збільшення стійкості спряжених сполук внаслідок делокалізації їх рухомих π -електронів, називають енергією резонансу, або енергією спряження [1, 2]. Таким чином, енергія резонансу (Resonance Energy; E_R) часточок молекулярної, іонної або вільнорадикальної природи, що залежить від делокалізації рухомих π -електронів у спряженій або замкненій ароматичній системі, є важливим кількісним параметром їх термодинамічної стабільності.

Значення енергії E_R можна визначити експериментально шляхом вимірювання кількості теплової енергії, що виділяється при спалюванні або гідруванні відповідної спряженої сполуки. Експериментальні дослідження або квантово-механічні розрахунки за методом МОЛКАО дозволили встановити величини E_R для широкого класу ароматичних сполук,

Таблиця 3 – Ентальпія (H_f) та відносні константи швидкості утворення молекулярних та ВР-форм гідроксинафталінів (гамільтоніан AM-1)

| Фізіологічно активні сполуки | H_f , кДж/моль | | | $k_{\text{відн.}}$ |
|------------------------------|-------------------|------------------------|--------------|--------------------|
| | Молекулярна форма | Вільнорадикальна форма | ΔH_f | |
| β -Нафтол | -12,60 | 138,79 | 369,36 | 1,0 |
| α -Нафтол | -13,03 | 122,39 | 353,38 | $6,33 \cdot 10^2$ |
| 1,5-Дигідроксинафталін | -187,62 | -55,73 | 349,88 | $2,62 \cdot 10^3$ |

починаючи з похідних бензолу і закінчуючи N-вмісними гетероциклами, у тому числі біомолекулами [6].

У нашій роботі розрахунки значень енергії резонансу були застосовані для характеристики реакцій утворення та стабільності ВР фенолів (табл. 4), що мають АР- та АО-властивості, порівняно з молекулою та ВР бензолу.

Як свідчать результати розрахунків, наведених у таблиці 4, утворення ВР усіх досліджених сполук, що досягається відщепленням атома водню від атома вуглецю ароматичного циклу (в бензолі) або водню, сполученого з

киснем гідроксильної групи у молекулах фенолів, супроводжується закономірним зниженням енергії резонансу часточки, тобто зменшенням її термодинамічної стабільності. Разом із тим, з усіх досліджених ароматичних сполук найвищу енергію резонансу, тобто найбільшу термодинамічну стабільність як у молекулярній, так і у ВР-формі, має α -токоферол (табл. 5), що сприяє утворенню його ВР-форми, яка може бути пасткою для інших, хімічно активних радикалів, тобто відповідає найвищим АР- та АО-властивостям цього природного антиоксиданта.

Таблиця 4 – Енергія резонансу молекулярних та ВР-форм одноядерних фенолів та α -токоферолу порівняно з бензолом (гамільтоніан РМ-3)

| Фенол | E_{mol}, eV | E_{rad}, eV | $\Delta E, eV$ |
|----------------------|---------------|---------------|----------------|
| м-Нітрофенол | -239,75 | -229,19 | 10,56 |
| Фенол | -186,34 | -174,06 | 12,28 |
| 2,4-Дитретбутилфенол | -448,78 | -438,51 | 10,27 |
| Іонол | -482,19 | -472,13 | 10,06 |
| α -Токоферол | -952,86 | -943,44 | 9,42 |
| Бензол | -164,14 | -155,14 | 9,164 |

Таблиця 5 – Енергія резонансу молекулярних та ВР-форм гідроксинафталінів (гамільтоніан РМ-3)

| Гідроксинафталін | E_{mol}, eV | E_{rad}, eV | $\Delta E, eV$ |
|------------------------|---------------|---------------|----------------|
| β -Нафтол | -288,66 | -277,07 | 11,59 |
| α -Нафтол | -287,31 | -277,42 | 9,89 |
| 1,5-Дигідроксинафталін | -308,29 | -299,44 | 8,85 |

Подібно до закономірностей, що спостерігаються в групі одноядерних фенолів, у групі нафтолів ступінь зменшення енергії резонансу при гомолітичному відщепленні водню від фенольного гідроксилу також знижується в ряду β -нафтол > α -нафтол > 1,5-дигідроксинафталін, що відповідає зростанню саме в цьому напрямку АОА досліджуваних сполук.

ВИСНОВКИ. Було виявлено кореляцію між антиоксидантними, антирадикальними власти-

востями природних та синтетичних одно- і двоядерних фенолів та кінетичними і термодинамічними параметрами утворення вільних радикалів, що проявляється зниженням ентальпії та енергії активації утворення ВР-форм, а також енергії резонансу. Ці дані можуть бути використані для розробки принципових методичних підходів до прогнозування активностей ФАС на етапі первинного скринінгу та доклінічного дослідження потенційних лікарських засобів антиоксидантної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беккер Г. Введение в электронную теорию органических реакций. – М.: Мир, 1965. – 576 с.
2. Березин Б.Д., Березин Д.Б. Курс современной органической химии. – М.: Высшая школа, 2001. – 768 с.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов. – М.: Наука, 1972. – 272 с.
4. Губський Ю.І., Афанасенко О.В. Вивчення субмолекулярних та квантово-хімічних механізмів

- антиоксидантної дії природних та синтетичних фенолів. І. Енергії граничних молекулярних орбіталей та потенціали іонізації // Мед. хімія. – 2006. – № 2. – С. 15-18.
5. Драго Р. Физические методы в химии. – М.: Мир, 1981. – Т. 1. – 422 с.
6. Пюльман Б., Пюльман А. Квантовая биохимия. – М.: Мир, 1965. – 480 с.

ИЗУЧЕНИЕ СУБМОЛЕКУЛЯРНЫХ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ФЕНОЛОВ.

II. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ И КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБРАЗОВАНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ МОЛЕКУЛАМИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Ю.И. Губский, О.В. Афанасенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В статье приведены результаты экспериментальных исследований и квантово-химических расчетов энергетических и кинетических характеристик образования свободных радикалов молекулами природных и синтетических фенольных соединений – α -токоферола, ионола и гидроксинафталинов. Установлено наличие коррелятивных взаимосвязей между значениями антиоксидантной активности исследуемых соединений и энергией активации, константами скорости образования и энергией резонанса свободно-радикальных форм соответствующих фенолов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фенолы, α -токоферол, ионол, гидроксинафталины, энергия резонанса, энтальпия и энергия активации образования свободнорадикальных форм.

STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTION OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS. II. ENERGETIC AND KINETIC FEATURES OF FORMATION OF FREE RADICALS BY MOLECULES OF PHENOLIC COMPOUNDS

Yu.I. Hubsy, O.V. Afanasenko

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

The article adduces the results of experimental investigations and quantum-chemical calculations of energetic and kinetic features of formation of free radicals by molecules of natural and synthetic phenolic compounds – α -tocopherol, ionol and hydroxynaphthalenes. It has been established the presence of correlative interrelations between the values of antioxidant activity of investigated compounds and energy of activation, constants of formation speed and resonance energy of free-radical forms of corresponding phenols.

KEY WORDS: phenols, α -tocopherol, ionol, hydroxynaphthalenes, resonance energy, enthalpy and activation energy of formation of free-radical forms.

Адреса для листування: Ю.І. Губський, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, вул. Пушкінська, 22, Київ, 01000, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ КОРЕНЕВИЩ І КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО НА ГЕНОМ СОМАТИЧНИХ ТА ГЕНЕРАТИВНИХ КЛІТИН ССАВЦІВ

Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, С.О. Мачуліна
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті викладено результати вивчення можливого негативного впливу нового анаболічного засобу – екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого на геном соматичних і генеративних клітин ссавців. Дослідження проводили методом обліку частоти хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей (ХА) та методом обліку частоти доміантних летальних мутацій у клітинах змішаної генерації сперматогенного епітелію щурів (ДЛМ). Для проведення тесту ХА екстракт пирію вводили тваринам внутрішньоочеревинно одноразово в дозі 1000 мг/кг в експозиціях 6, 24, 48 годин. Результати експерименту показали, що при кожній дослідженій експозиції кількість власне хромосомних аберацій та сукупна кількість порушень залишалися на рівні інтактного контролю. Для проведення тесту ДЛМ щури-самці отримували екстракт пирію внутрішньошлунково в дозах 100 і 1000 мг/кг протягом 2,5 місяців. Встановлено, що введення досліджуваного препарату не сприяло підвищенню частоти ДЛМ. Таким чином, отримані результати свідчать про те, що екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого не впливає на генетичний апарат соматичних та статевих клітин ссавців.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого, анаболічний засіб, хромосомні аберації, соматичні клітини, генеративні клітини, генетичний апарат, доміантні летальні мутації.

ВСТУП. Оскільки мутації, що заново виникають, чинять негативний вплив як на уражений індивідуум окремо, так і на пристосувальну здатність популяції в цілому, індукований мутагенез становить реальну небезпеку для життя і здоров'я людини. Серед численних хімічних агентів, які є мутагенами, визначне місце займають лікарські речовини, які широко застосовуються великою кількістю людей різного віку. Особливу занепокоєність викликає безконтрольне приймання різних лікарських рослин і препаратів з рослинної сировини, які часто містять небезпечні сполуки [5, 6].

Тому всі лікарські препарати, які вперше впроваджують у медичну практику, в тому числі препарати на основі рослинних субстанцій, повинні підлягати тотальній перевірці на мутагенність [1].

Метою даних досліджень стало вивчення можливого негативного впливу екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого на геном соматичних і генеративних клітин ссавців [1, 7, 9, 10].

Екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого вивчали на базі ЦНДЛ НФаУ як новий

© Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, С.О. Мачуліна, 2007.

анаболічний засіб. У результаті фармакологічних досліджень вищезазначеного препарату на інтактних щурах та в умовах експериментальної патології, викликаній різними чинниками (харчова депривація, гідрокортизоніндукований катаболізм, гепаторенальне пошкодження, індуковане тетрацикліном, ураження серця при введенні адреналіну), була встановлена його виражена анаболічна дія, яка проявилася приростом маси тіла та внутрішніх органів, збільшенням вмісту загального білка у внутрішніх органах, глікогену в печінці й серці, реутилізацією азоту сечовини. Відмічалися також діуретичний і гіпоазотемічний фармакологічні ефекти препарату. Крім того, препарат зменшував імуносупресивну дію гідрокортизону ацетату, яка проявлялася збільшенням кількості лімфоцитів, що є показником імунодепресій. Екстракт пирію збільшував кількість лейкоцитів, еритроцитів та гемоглобіну. Слід зазначити, що препарат сприяв зростанню вмісту відновленого глутатіону, який займає центральне місце у детоксикаційній функції печінки, в тому числі й антиоксидувальній [3, 4, 8].

Таким чином, вищенаведене свідчить про перспективність поглибленого вивчення екстракту пирію та створення на його основі нового анаболічного засобу для лікування білкової недостатності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено з використанням двох тест-систем, які дозволяють зареєструвати можливий вплив препарату на геном соматичних і генеративних клітин експериментальних тварин: методу обліку частоти хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей (ХА) [1, 6, 7]; методу обліку частоти домінуючих летальних мутацій у клітинах змішаної генерації сперматогенного епітелію щурів (ДЛМ) [1].

Цитогенетичну активність екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого вивчали методом ХА, який дозволяє зареєструвати хромосомні та хроматидні порушення, порушення, пов'язані з пошкодженням мітотичного апарату, й одночасно оцінити рівень проліферативної активності популяції досліджуваних клітин. Експеримент проводили на мишах в умовах гострого експерименту. Препарат вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1000 мг/кг (10 умовно-терапевтичних доз) одноразово в експозиції 6, 24, 48 годин. Евтаназію тварин проводили згідно з вимогами та принципами біоетики. Після цього виймали стегнові кістки, зрізали з них епіфізи та фіксували у розчині Карнуа. Після проводки фіксованих кісток у спиртах з кісткового мозку готували тимчасові давлені препарати, які фарбували розчином ацетокарміну. Для обліку частоти ХА на мікроскопічних препаратах обирали клітини, що діляться на стадії ана-телофази [6, 7].

Для статистичної обробки отриманих результатів досліджень використовували метод малих груп Стьюдента [2].

Для проведення тесту ДЛМ щурам-самцям вводили екстракт кореневищ і коренів пирію

повзучого внутрішньошлунково в дозах 100 (умовно-терапевтична доза) та 1000 мг/кг (10 умовно-терапевтичних доз) протягом 2,5 місяців. Після закінчення введення самців парували з інтактними самками і реєстрували перший день вагітності. На 20-й день вагітності самок знеживлювали під ефірним наркозом, розтинали і проводили оцінку стандартних показників розвитку нащадків: кількість жовтих тіл вагітності, рівень ембріональної смертності, кількість живих ембріонів, а також рівень ДЛМ [1]. Разом з цим, було досліджено запліднюючу здатність самців, що також є ознакою впливу препарату на геном статевих клітин.

Статистичну обробку цифрового матеріалу проводили з використанням t-критерію Стьюдента та непараметричного критерію Вілкосона-Манна-Уїтні [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що при введенні мишам екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого в клітинах кісткового мозку не було зареєстровано будь-якого суттєвого збільшення кількості власне хромосомних аберацій, в тому числі й порушень на рівні хроматид, а також злипань та відставань хромосом, які пов'язані з порушенням структури клітинних мембран (табл. 1). Рівень проліферативної активності (мітотичний індекс) у тварин дослідної групи не змінювався порівняно з групою інтактного контролю.

У ході дослідження в тесті ДЛМ було встановлено, що при введенні екстракту пирію щурам-самцям підвищення частоти ДЛМ зареєстровано не було (табл. 2), відсоток усіх видів ембріональної загибелі плодів не перевищував контрольні значення. Одержані від самок ембріони дослідної групи не відрізнялись від ембріонів контрольної групи ні за розмірами, ні за масою.

Таблиця 1 – Частота хромосомних аберацій в клітинах кісткового мозку мишей при введенні екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого у дозі 1000 мг/кг

| Показники | Інтактний контроль | 6 год | 24 год | 48 год |
|----------------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| Кількість тварин | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Кількість проаналізованих клітин | 600 | 600 | 600 | 600 |
| Фрагменти, % | 0,75±0,27 | 0,83±0,41 | 0,68±0,26 | 0,67±0,26 |
| Хромосомні мости, % | 0,58±0,38 | 0,55±0,38 | 0,58±0,48 | 0,50±0,45 |
| Хроматидні мости, % | 0,92±0,58 | 0,75±0,42 | 0,83±0,52 | 0,83±0,61 |
| Кількість власне аберацій, % | 2,25±0,52 | 2,17±0,61 | 2,08±0,66 | 2,00±0,71 |
| Злипання хромосом, % | 0,58±0,38 | 0,67±0,52 | 0,67±0,41 | 0,57±0,38 |
| Відставання хромосом, % | 0,67±0,41 | 0,69±0,44 | 0,83±0,41 | 0,77±0,52 |
| Сукупна кількість порушень, % | 3,50±0,84 | 3,54±0,83 | 3,58±0,74 | 3,25±1,08 |
| Мітотичний індекс | 1,32±0,21 | 1,40±0,15 | 1,37±0,10 | 1,38±0,12 |

Таблиця 2 – Частота домінантних летальних мутацій у щурів при введенні екстракту кореневищ і коренів пирію повзучого

| Показники | Інтактний контроль | 1000 мг/кг | 100 мг/кг |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Число спостережень | 15 | 15 | 15 |
| Кількість ЖТВ | 10,80±2,16 | 9,96±2,20 | 9,77±2,44 |
| Кількість місць імплантації | 9,30±1,95 | 8,56±2,17 | 8,69±2,43 |
| Загальна ембріональна смертність, % | 17,20±12,33 (0÷36,36) | 16,90±14,32 (0÷40,00) | 14,10±14,41 (0÷50,0) |
| Доімплантаційна загибель плодів, % | 12,90±11,34 (0÷35,71) | 13,50±13,86 (0÷77,78) | 10,60±13,14 (0÷45,45) |
| Постімплантаційна загибель плодів, % | 4,80±7,87 (0÷25) | 3,90±6,94 (0÷22,22) | 3,90±7,81 (0÷33,33) |
| Число живих плодів на 1 самку | 8,9±2,07 | 8,24±2,19 | 8,35±2,40 |
| Частота ДЛМ, % | - | - | - |
| Середня маса плодів, г | 2,54±0,44 | 2,42±0,52 | 2,39±0,23 |
| Середній розмір плодів, см | 3,03±0,20 | 3,03±0,43 | 3,00±0,21 |

Примітка. У дужках вказано розкид граничних ознак у відсотках, який спостерігали у плодів.

ВИСНОВКИ. 1. Екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого у тесті обліку частоти хромосомних аберацій при внутрішньоочеревинному введенні мишам у дозі 1000 мг/кг не виявив негативного впливу на геном соматичних клітин.

2. Екстракт кореневищ і коренів пирію повзучого у тесті обліку частоти домінантних летальних мутацій при внутрішньошлунковому введенні щурам-самцям у дозах 100 і 1000 мг/кг не виявив негативного впливу на геном генеративних клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бариліак І.Р., Неумержицька Л.В., Дуган О.М., Кривошеїн Ю.С. та ін. Оцінка мутагенних властивостей нових лікарських засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – Київ, 2001. – С. 166-185.
2. Гублер Г.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев в медико-биологических исследованиях. – М., 1973. – 140 с.
3. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
4. Марчишин С.М. Вплив екстракту пирію повзучого на білковий обмін // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 172.
5. Нарушение митоза как показатель общетоксического и цитотоксического действия пестицидов: Методические рекомендации. – Киев, 1983. – 18 с.
6. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Вышэйшн школа, 1974.
7. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. – Женева, 1989. – Вып. 51. – 212 с.
8. Яковлева Л.В., Марчишин С.М. Экстракт пирію повзучого – перспективный анаболічний засіб // Вісник фармації. – 2006. – № 2 (46). – С. 74-77.
9. Bogum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – 21 (Suppl.97). – P. 77-89.
10. Evans H.J. Cytological methods for detecting chemical mutagens /Chemical mutagens: Principles and methods for their detection (Hollanger A., ed.). – NY, London: Plenum Press, 1976. – 4. – P. 1-29.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОГО ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО НА ГЕНОМ СОМАТИЧЕСКИХ И ГЕНЕРАТИВНЫХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Л.В. Яковлева, С.М. Марчишин, С.А. Мачулина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье представлены результаты изучения возможного негативного влияния нового анаболического препарата – экстракта кореневищ и корней пирея ползучего на геном соматических и генеративных

клеток млекопитающих. Исследование проводили методом учета частоты хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей (ХА) и методом учета частоты доминантных летальных мутаций в клетках смешанной генерации сперматогенного эпителия крыс (ДЛМ). Для проведения теста ХА экстракт пырея вводили животным внутривентриально однократно в дозе 1000 мг/кг в экспозициях 6, 24, 48 часов. Результаты эксперимента показали, что при каждой изученной экспозиции количество собственно хромосомных aberrаций и общее количество нарушений оставались на уровне интактного контроля. Для проведения теста ДЛМ крысы-самцы получали экстракт пырея интражелудочно в дозах 100 и 1000 мг/кг в течение 2,5 месяцев. Было установлено, что введение исследуемого препарата не способствовало повышению частоты ДЛМ. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт корневищ и корней пырея ползучего не влияет на генетический аппарат соматических и половых клеток млекопитающих.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экстракт корневищ и корней пырея ползучего, анаболическое средство, хромосомные aberrации, соматические клетки, генеративные клетки, генетический аппарат, доминантные летальные мутации.

THE INVESTIGATION OF THE PROBABLE INFLUENCE OF THE EXTRACT OF COUCH-GRASS RHIZOMES AND ROOTS ON THE GENOME OF MAMMALIANS SOMATIC AND GENERATIVE CELLS

L.V. Yakovleva, S.M. Marchyshyn, S.A. Machulina
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Results of the study of the negative probable influence of a new anabolic preparation – an extract from couch-grass rhizomes and roots on genome of somatic and generative mammals cells are presented in this article. The research was conducted by the method of the accounting of chromosome aberrations frequency in mice marrow cells (ChA) and the method of the accounting of the dominant lethal mutations frequency in rats' cells of the mixed spermatogenic epithelium generation (DLM). Extract from couch-grass rhizomes and roots was entered once intraperitoneally in a dose 1000 mg/kg to the animals in exposure 6, 24, 48 hours for undertaking the ChA test. The results of the experiment have shown that quantity of strictly chromosome aberrations and total quantity of the violations remained on the initial level in each exposure. For undertaking the DLM test the rats have got the extract from couch-grass intragastrally in a dose 100 and 1000 mg/kg during 2,5 months. The result of research has shown that the preparation does not promote the increasing of DLM frequency. Thereby, the received results prove that extract from couch-grass rhizomes and roots does not influence on genetic device of somatic and genital cells of mammals.

KEY WORDS: extract of couch-grass rhizomes and roots, anabolic preparation, chromosome aberration, somatic and generative mammals cells, genetic device, dominant lethal mutation.

Адреса для листування: Л.В. Яковлева, 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 ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ, ОТРИМАНИХ З ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО, НА РОЗВИТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ В СИРІЙСЬКИХ ХОМ'ЯЧКІВ

А.Л. Загайко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено показники метаболізму ліпідів та ліпопротеїнів, продуктів ліпопероксидації та антиоксидантів у сироватці крові й гомогенаті печінки хом'ячків з експериментальним метаболічним синдромом (МС) та вплив перорального введення субстанцій винограду культурного на ці показники. Показано, що гіперкалорійна дієта з використанням фруктози призводить до розвитку МС у піддослідних тварин. Субстанції винограду культурного виявилися досить активним засобом, що знижує негативні прояви МС, проте ефективність різних застосованих субстанцій істотно відрізняється. Досліджувані субстанції також нормалізували склад ліпопротеїнів (ЛП) крові. Оксидативний статус апо-В-ЛП тварин із МС значно покращувався при застосуванні субстанцій винограду. Таким чином, введення субстанцій винограду культурного при МС може запобігати підвищенню в крові вмісту загальних ЛП та апо-В-ЛП, а також попереджувати активацію вільнорадикальних процесів у ліпопротеїнових частинках плазми та загалом нормалізує метаболізм ліпідів у печінці. Це свідчить про спроможність досліджуваних субстанцій послаблювати такі негативні наслідки метаболічного синдрому, як розвиток атеросклерозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром, метаболізм ліпідів, вільнорадикальне окиснення, виноград культурний, поліфеноли, хом'ячки.

ВСТУП. Метаболічний синдром (МС) включає інсулінорезистентність, хронічну компенсаторну гіперінсулінемію, порушення толерантності до глюкози та/або цукровий діабет (ЦД) 2 типу, збільшення маси тіла чи виражене ожиріння з надлишковим відкладенням жиру за андройдним типом, низький рівень ліпопротеїнів високої густини (ЛВГ), гіпертригліцеридемію, високий рівень ліпопротеїнів низької густини (ЛНГ), схильність до тромбоутворення, гіперурикемію, мікроальбумінурію [1, 2, 7, 16, 18]. Окремі складові МС можуть бути присутніми або відсутніми в кожному окремому випадку, проте кожен з них є незалежним фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань, зокрема атерогенезу. Останнє пов'язують з підвищенням у сироватці крові загального вмісту ліпопротеїнів, а також змінами у ліпопротеїдному спектрі плазми крові у бік атерогенних фракцій [17, 20]. Крім того, при МС активується вільнорадикальне окиснення, що ускладнює перебіг патології, особливо за умов гуперліпідемії, та є істотним проатерогенним чинником. Серед можливих негативних наслідків МС часто спостерігаються атеросклеротичні ураження судин [1, 2, 13]. Останнє

© А.Л. Загайко, 2007.

пов'язують з підвищенням у сироватці крові загального вмісту ліпопротеїнів, а також змінами у ліпопротеїдному спектрі плазми крові у бік атерогенних фракцій ліпопротеїнів [21]. Припускають, що одним з важливих механізмів атерогенезу може бути окиснення ліпопротеїнових частинок [15]. Тому одним із шляхів корекції патологічних станів, що супроводжують МС, може бути застосування речовин з антиоксидантною активністю. Разом із тим, вплив антиоксидантів на розвиток МС вивчено недостатньо [14].

Метою даної роботи було дослідження змін деяких показників атерогенезу та антиоксидантно-прооксидантного статусу ліпопротеїнів сироватки крові сирійських хом'ячків з МС, а також можливості корекції окиснювальних пошкоджень, що спостерігаються при МС, за допомогою поліфенольних комплексів винограду культурного.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували сирійських хом'ячків-самців віком 4 та 10 тижнів і самців віком 1 рік. Піддослідних тварин поділили на групи: інтактні тварини, тварини, яких утримували на дієті, що містить 29 % жиру (переважно насичені ліпіди) з дода-

ванням фруктози [21], тварини, яким через 4 тижні після початку експерименту паралельно з дієтою вводили перорально поліфенольні концентрати "Еноант" (Ен) та "Поліфен" (Пф), що розроблені в Інституті Винограду та вина "Магарач" (м. Ялта) та містять 18-20 г поліфенолів на літр, у дозі 0,05 мл/100 г маси тіла, а також подрібнені вичавки винограду сортів "Каберне-Совіньон" (Каб) та "Ізабела" (Ізаб), отримані на кафедрі фармакогнозії НФаУ, в дозі 0,75 мг/100 г маси тіла щоденно. Дози було підібрано, виходячи із вмісту поліфенолів у використаних субстанціях. Хом'ячків брали в дослід через 6 тижнів з моменту початку експерименту. Моделювання МС шляхом використання гіперкалорійної дієти під час проведення терапії не припиняли. Такий підхід дозволяє найбільш точно відтворити ситуацію з пацієнтами з МС, які не змінюють свого способу життя під час лікування.

Тварин декапітували під хлоралозо-уретановим наркозом, отримували сироватки крові. Вміст триацилгліцеридів у сироватці крові визначали за реакцією із хлоридним фенолгідразином, як описано в роботі [3], вміст загальних ліпідів (ЗЛ) – за реакцією з ваніліновим реактивом, вміст триацилгліцеролів (ТГ) – за реакцією із хлоридним фенолгідразином [3], рівень вільних жирних кислот (ВЖК) – за допомогою утворення їх купрумівих солей та за їх подальшою реакцією з діетилдитіокарбаматом [3], вміст загального холестеролу (ЗХ) – за реакцією з хлоридним ферумом [3]. Фракції ЛВГ (ліпопротеїнів високої густини) та ЛНГ+ЛДНГ (ліпопротеїнів низької та дуже низької густини, апо-В-ЛП) розділяли шляхом центрифугування сироватки крові, до якої попередньо додавали розчини гепарину та CaCl_2 в присутності ЕДТА [6]. Вимірювали оптичну густину гептан-ізопро-

панольних екстрактів вказаних фракцій при довжині хвилі 220 нм (для ізольованих подвійних зв'язків – ІПЗ), 232 нм (для дієнових кон'югат – ДК), 278 нм (для кетодієнів та сполучених триєнів – КД+СТ) [4]. Вміст загальних гідроперекисів (ЗГП) визначали за реакцією з тіоціанатом амонію [11], вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [12], кількість α -токоферолу (α -ТЛ) – за кольоровою реакцією з двовалентним ферумом [5]; до результатів визначення вносили поправку на присутність холестеролу. Вміст аскорбінової кислоти (АК) визначали спектрофотометрично в реакції з 2,4-динітрофенолом [19], вміст відновленого глутатіону (ВГ) – за реакцією з алоксаном [9], активність глутатіонредуктази (ГР) – за окисненням НАДФН(H^+) [8], активність НАДФН-генеруючих дегідрогеназ глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (Г-6-Ф-ДГ), 6-фосфоглюконатдегідрогенази (6-ФГ-ДГ) та малатдегідрогенази (МДГ) – спектрофотометрично за відновленням НАДФ $^+$ [10]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження вказують на те, що субстанції винограду культурного є досить активним засобом, що знижує негативні прояви МС, проте ефективність різних застосованих субстанцій істотно відрізнялася.

Як видно з рисунка 1, загальний вміст ліпопротеїнів у сироватці крові хом'ячків з МС вірогідно зменшувався при використанні будь-якої з досліджуваних субстанцій, але найбільш вираженим цей ефект був при застосуванні вичавок винограду сорту "Каберне-Совіньон". Те ж характерно і для зниження вмісту апо-В-

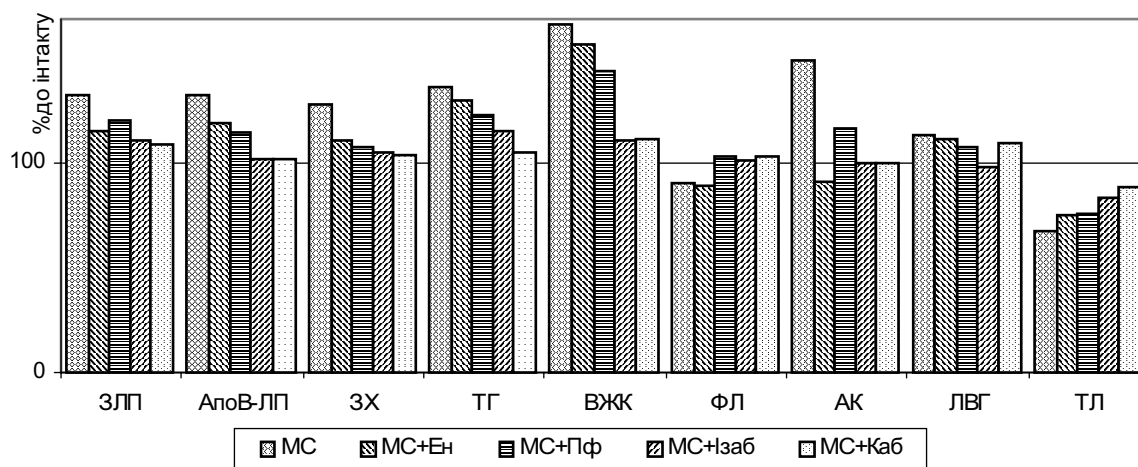


Рис. 1. Вплив субстанцій винограду культурного на зміни показників метаболізму ліпідів у сироватці крові хом'ячків-самців (віком 1 рік) з експериментальним метаболічним синдромом (% до інтакту, n=7).

ЛП, хоча в цьому випадку, як і щодо вмісту ЗХ та ВЖК, активність вичавок обох досліджених сортів винограду практично не відрізнялася.

Привертає увагу нормалізація вмісту фосфоліпідів (ФЛ) у сироватці крові за дії субстанцій винограду. Повернення вмісту ФЛ до рівня інтакту може бути пов'язане з гальмуванням їх окиснення, оскільки саме ненасичені жирні кислоти ФЛ є сполуками, що найбільш швидко та легко окиснюються вільними радикалами. Рівень антиоксидантів (токоферолу та аскорбінової кислоти) в сироватці крові під впливом субстанцій винограду культурного також загалом нормалізувався, що підтверджує їх високу антиокиснювальну активність.

Проте, незважаючи на досить високу сприятливу активність вичавок винограду сорту "Ізабела", їх застосування мало і негативні наслідки. Це, зокрема, зниження до інтактного рівня вмісту ЛВГ, яке супроводжує збільшення вмісту ЛНГ.

Досліджувані субстанції також нормалізували склад ліпопротеїнів крові. Так, у складі апо-В-ЛП знижувався вміст ЗЛ та ЗХ (табл. 1), причому концентрат "Еноант" зменшував вміст холестеролу в цій атерогенній фракції ліпопротеїнів навіть нижче контрольного рівня.

Вміст ТГ також загалом змінювався в бік нормалізації, але, з огляду на співвідношення

холестерол/триацилгліцероли, найсприятливішу дію мав концентрат "Поліфен".

Оксидативний статус апо-В-ЛП тварин із МС значно покращувався при застосуванні субстанцій винограду. Найкращим засобом, як і в інших випадках, виявилися вичавки винограду сорту "Каберне-Совіньон" (див. табл. 1).

Склад ЛВГ крові також зазнавав змін (табл. 2). У цих частинках знижувався, причому під впливом вичавок винограду сорту "Каберне-Совіньон" навіть до контрольних значень – загальний вміст ліпідів.

Рівень холестеролу також змінювався: знижувався під впливом концентрату "Еноант" та підвищувався за дії вичавок винограду сортів "Ізабела" "Каберне-Совіньон". Зменшення вмісту холестеролу в ЛВГ під дією концентрату "Еноант" може відбуватися через гальмування перекисних процесів, оскільки накопичення холестеролу в ЛП частинках, як вказувалося вище, має компенсаторний характер у відповідь на окиснення фосфоліпідів гідрофільної оболонки ЛП частинок. Вміст триацилгліцеролів знижувався за дії всіх субстанцій, найбільш ефективно – під впливом вичавок винограду сорту "Ізабела".

Щодо захисту ЛВГ від переокиснення, то тут найбільш ефективними також виявилися вичавки винограду сорту "Каберне", хоча

Таблиця 1 – Вплив субстанцій винограду культурного на зміни складу Апо-В-вмісних ліпопротеїнів у сироватці крові хом'ячків-самців (віком 1 рік) з експериментальним метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | МС | МС+Ен | МС+Пф | МС+Ізаб | МС+Каб |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| ЗЛ, % | 86,87±0,71* | 85,70±0,78/** | 85,12±0,37/** | 85,22±0,09/** | 84,00±0,19* |
| ЗХ, % | 8,39±0,24 | 7,87±0,04/** | 8,13±0,04 | 8,06±0,12** | 8,37±0,08* |
| ТГ, % | 37,55±1,89/** | 53,97±0,10/** | 53,02±0,14/** | 50,65±1,23/** | 49,57±0,40/** |
| α-ТЛ, ммоль/л | 2,68±0,08* | 2,98±0,05/** | 3,06±0,04/** | 3,17±0,02/** | 3,19±0,05/** |
| ІПЗ, ΔЕ/мл | 1,71±0,06* | 1,84±0,03/** | 1,90±0,02/** | 1,97±0,03** | 2,09±0,03** |
| ДК, ммоль/л | 37,25±1,50* | 30,63±0,41/** | 29,54±0,34/** | 28,77±0,14/** | 26,68±1,94** |
| КД+СТ, ΔЕ/мл | 8,18±0,11* | 7,49±0,04/** | 7,23±0,08/** | 7,17±0,08/** | 6,99±0,26** |
| ЗГП, ммоль/л | 108,25±1,39* | 98,52±0,55/** | 94,97±0,15/** | 90,65±1,15/** | 89,30±1,06/** |

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – зміни вірогідні порівняно з інтактом ($p \leq 0,05$); ** – зміни вірогідні порівняно з модельною патологією ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив субстанцій винограду культурного на зміни складу ліпопротеїнів високої густини в сироватці крові хом'ячків-самців (віком 1 рік) з експериментальним метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | МС | МС+Ен | МС+Пф | МС+Ізаб | МС+Каб |
|---------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| ЗЛ, % | 57,31±1,91* | 54,91±0,21/** | 53,09±0,08/** | 51,74±0,74/** | 49,20±0,42** |
| ЗХ, % | 11,21±0,76* | 10,54±0,30/** | 11,14±0,04* | 12,05±0,21* | 12,45±0,34/** |
| ТГ, % | 3,08±0,15* | 2,90±0,09/** | 2,11±0,12/** | 1,92±0,04/** | 1,96±0,03/** |
| α-ТЛ, ммоль/л | 5,70±0,35* | 7,47±0,20/** | 7,19±0,17/** | 7,36±0,11/** | 8,13±0,06** |
| ІПЗ, ΔЕ/мл | 7,31±0,17* | 7,67±0,08/** | 7,69±0,07/** | 7,99±0,05/** | 8,15±0,01/** |
| ДК, ммоль/л | 31,68±1,65* | 24,85±0,35/** | 23,44±0,40/** | 22,55±0,34/** | 21,88±0,23** |
| КД+СТ, ΔЕ/мл | 1,48±0,06* | 1,24±0,03** | 1,32±0,03/** | 1,25±0,03/** | 1,54±0,47/** |
| ЗГП, ммоль/л | 78,31±1,33* | 75,26±0,31/** | 75,62±0,54/** | 74,48±0,55/** | 73,41±0,39/** |

досить сприятливо діяли й інші субстанції. Вони ефективно знижували вміст продуктів (ДК, КД+СТ, ЗГП) та підвищували – субстратів (ІПЗ) ліпопероксидації, запобігали зменшенню рівня антиоксидантів (α -Т). Відзначимо, що рівень вторинних продуктів переокиснення ліпідів (КД+СТ) найбільш ефективно знижувався під впливом концентрату "Еноант" (до значень інтакту).

Істотні сприятливі зміни спостерігалися за дії субстанції винограду при МС і в печінці піддослідних тварин (рис. 2). Майже до норми повернулася активність одного з головних НАДФН-генеруючих ферментів – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Оскільки активність цього ферменту добре корелює з інтенсивністю ліпогенезу, можна припустити, що пригнічення ліпогенезу в печінці, яке розвивалося внаслідок гіперінсулінемії при МС, під впливом досліджуваних субстанцій дещо послаблювалося.

Найбільш активно відносно цього ферменту подіяв концентрат "Еноант". Щодо решти НАДФН-генеруючих дегідрогеназ, то їх активність під впливом субстанцій винограду також зазнала змін у напрямку нормалізації.

Оскільки вміст загальних ліпідів у печінці при цьому не зростав, а навіть дещо зменшувався (див. рис. 2), очевидно, що накопичення ліпідів в органі при МС відбувалося не за рахунок підсилення ліпогенезу, а через активне надходження цих сполук з крові, й субстанції винограду вплинули і на цей процес.

Зменшувався за дії вивчених субстанцій і потік ЛП до печінки, про що свідчило зниження вмісту Апо-В-ЛП в органі. Крім того, у складі цих ЛП нормалізувався вміст триацилгліцеролів (табл. 3), що вказувало на нормалізацію активності ліпаз, які впливають на ЛП у крові.

Покращувався і оксидантний стан печінки: майже відновилися рівні антиоксидантів, знизився вміст продуктів переокиснення, зріс вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками (див. рис. 2; табл. 3).

Перевірка дії однієї з досліджуваних субстанцій – поліфенольного концентрату "Еноант" – на хом'ячках-самицях різного віку з експериментальним МС підтвердила ефективність антиоксидантної терапії цієї патології.

Так, у сироватці крові цих тварин за дії концентрату "Еноант" знижувався вміст загальних ліпідів, триацилгліцеролів та вільних жирних

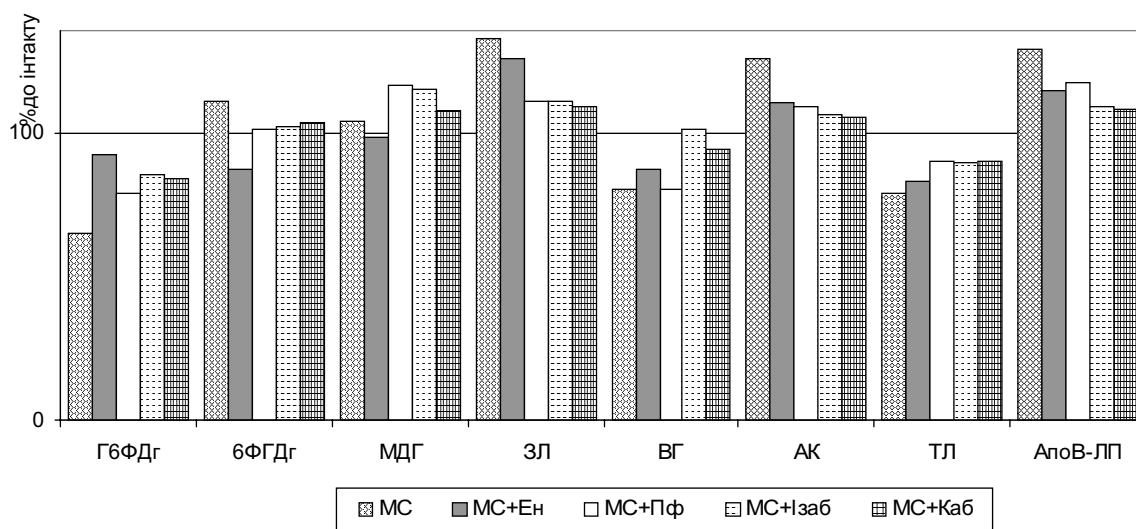


Рис. 2. Вплив субстанцій винограду культурного на зміни показників метаболізму ліпідів у печінці хом'яків-самців (віком 1 рік) з експериментальним метаболічним синдромом (% до інтакту, n=7).

Таблиця 3 – Вплив субстанцій винограду культурного на зміни складу Апо-В-вмісних ліпопротеїнів цитозолу печінки хом'яків-самців (віком 1 рік) з експериментальним метаболічним синдромом ($M \pm m$, n=7)

| Показник | МС | МС+Ен | МС+Пф | МС+Ізаб | МС+Каб |
|--------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ЗХ, % | 7,18±0,06* | 8,23±0,26**/** | 8,46±0,05** | 8,76±0,05** | 9,10±0,13** |
| ТГ, % | 42,00±1,29* | 44,64±0,52** | 44,42±0,43** | 45,95±0,50** | 45,41±0,73** |
| ІПЗ, ΔЕ/г | 2,13±0,06* | 2,39±0,04**/** | 2,71±0,03**/** | 2,99±0,09** | 2,77±0,16** |
| ЗГП, ммоль/г | 101,03±2,00* | 90,55±1,54**/** | 88,69±1,02**/** | 80,46±0,77**/** | 78,83±2,71**/** |

Примітка. * – зміни вірогідні порівняно з інтактом ($p \leq 0,05$), ** – зміни вірогідні порівняно з модельною патологією ($p \leq 0,05$).

Таблиця 4 – Вплив поліфенольного концентрату "Еноант" на показники обміну ліпідів у сироватці крові хом'ячків-самиць при експериментальному метаболічному синдромі (M±m, n=6)

| Вік | Група | ЗЛ, мг/мл | Апо-В-ЛП, мг/мл | ЗХ, ммоль/л | ТГ, мг/мл | ВЖК, ммоль/л | ДК в Апо-В-ЛП, нмоль/мл | α-ТЛ, нмоль/мл |
|---------|-------|-------------|-----------------|-------------|-------------|--------------|-------------------------|----------------|
| 4 тиж. | МС | 4,52±0,17 | 4,00±0,16 | 2,04±0,08 | 1,08±0,49 | 1,17±0,06 | 24,82±1,46 | 6,67±0,22 |
| | МС+Ен | 3,54±0,16** | 3,47±0,13 | 1,88±0,06 | 0,91±0,02** | 0,95±0,02** | 22,27±0,99 | 9,79±0,77** |
| 10 тиж. | МС | 7,75±0,20 | 3,84±0,11 | 2,58±0,07 | 1,40±0,04 | 1,42±0,04 | 23,58±1,35 | 10,49±0,82 |
| | МС+Ен | 6,88±0,14** | 3,30±0,08** | 2,22±0,05** | 1,18±0,03** | 1,15±0,03** | 21,10±1,14 | 12,87±0,36** |

Примітка. Тут і в наступній таблиці: ** – зміни вірогідні порівняно з модельною патологією (p<0,05).

Таблиця 5 – Вплив поліфенольного концентрату "Еноант" на показники обміну ліпідів у печінці хом'ячків-самиць при експериментальному метаболічному синдромі (M±m, n=6)

| Вік | Група | Г-6-Ф-ДГ, нмоль НАДФН/хв×мг.б. | ЗЛ, мг/г | α-ТЛ, нмоль/г | АК, мкмоль/г | ТБК-АП, нмоль/г |
|---------|-------|--------------------------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|
| 4 тиж. | МС | 4,96±0,11 | 140,75±9,15 | 21,01±1,47 | 3,73±0,14 | 1,97±0,06 |
| | МС+Ен | 4,62±0,07** | 111,53±4,08** | 25,31±0,34** | 4,08±0,10 | 1,74±0,09 |
| 10 тиж. | МС | 5,70±0,17 | 154,18±2,70 | 19,59±0,39 | 6,10±0,35 | 1,95±0,09 |
| | МС+Ен | 4,20±0,27** | 121,04±4,18** | 26,11±1,03** | 5,96±0,24 | 1,73±0,09 |

кислот. Крім того, в дорослих самиць концентрат спричиняв також зменшення вмісту Апо-В-ЛП та загального холестеролу, що також знижувало атерогенність МС.

Про антиоксидантну активність еноанту за умов нашого експерименту свідчило зростання в сироватці крові тварин, що вживали даний концентрат, вмісту основного антиоксиданта ліпідної фази – α-токоферолу (табл. 4).

Привертає увагу те, що вплив концентрату "Еноант" на ліпогенез у печінці самиць відрізнявся від ефекту, який спостерігали у самців, про що свідчили зміни активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази: якщо у самців активність даного ферменту за дії еноанту зростала, то у самиць вона знижувалась порівняно з тваринами з контрольною патологією (див. рис. 2; табл. 5).

Цей факт може бути пов'язаний з різними механізмами регуляції метаболізму ліпідів у самців і самиць, а також зі здатністю поліфенолів зв'язуватися з рецепторами до жіночих статевих гормонів. Зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у самиць супроводжувалося зменшенням у печінці вмісту загальних ліпідів, що ще раз підтвердило послаблення ліпогенезу під дією еноанту. Очевидно, даний факт має неоднозначне тлумачення і потребує подальшого вивчення.

Незважаючи на це, концентрат "Еноант" у самиць з експериментальним МС проявив високу антиоксидантну активність, про що

свідчило зростання під його впливом у печінці вмісту α-токоферолу (див. табл. 5).

Крім того, нами встановлено виражене зниження маси тіла хом'ячків, що вживали еноант паралельно з висококалорійною дієтою, порівняно з тваринами, що отримували тільки висококалорійну дієту (МС – (240±20) г, МС+Ен – (60±30) г* – зміни вірогідні відносно МС).

Таким чином, введення субстанцій винограду культурного при МС може запобігати підвищенню в крові вмісту загальних ліпопротеїнів та апо-В-ЛП, а також попереджувати активацію вільнорадикальних процесів у ліпопротеїнових частинках плазми та загалом нормалізує метаболізм ліпідів у печінці. Це свідчить про спроможність досліджуваних субстанцій послаблювати такі негативні наслідки МС, як розвиток атеросклерозу.

ВИСНОВКИ. 1. Гіперкалорійна дієта з використанням фруктози призводить до розвитку МС у піддослідних тварин.

2. Субстанції винограду культурного є досить активним засобом, що знижує негативні прояви МС, проте ефективність різних застосованих субстанцій істотно відрізняється.

3. Досліджувані субстанції також нормалізували склад ліпопротеїнів крові.

4. Оксидативний статус апо-В-ЛП тварин із МС значно покращувався при застосуванні субстанцій винограду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алмазов В.А., Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Красильникова Е.И. Метаболический сердечно-сосудистый синдром. – С.Пб.: Изд-во СПбГМУ, 1999. – 208 с.
2. Алмазов В.А., Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В. и др. Синдром инсулинорезистентности // Артериальная гипертензия. – 1997. – **3**, № 1. – С. 7-17.
3. Биологические мембраны. Методы / Под ред. Дж.Б. Финдлея, У.Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
4. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127-131.
5. Кибардин С.А. Определение витамина Е в сыворотке крови // Биохимия. – 1951. – **16**. – С. 511-514.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – С. 241-242.
7. Мельниченко Г.А. Ожирение в практике эндокринолога // РМЖ. – 2001. – **2**, № 9. – С. 82-87.
8. Путилина Ф.Е. Определение активности глутатионредуктазы // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 181-183.
9. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 183-185.
10. Путилина Ф.Е., Зоидзе С.Д. Определение активности дегидрогеназ пентозофосфатного пути // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 168-172.
11. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
12. Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1986. – 231 с.
13. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
14. Dutta A., Sudhir K., Dutta M. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: A review // Journal of the American College of Nutrition. – 2003. – **22**, № 4. – P. 258-268.
15. Goldschmidt M.G., Barret-Conner E., Edelman S.L. et al. Dyslipidaemia and ischaemic heart disease mortality among men and women with diabetes // Circulation. – 1994. – **89**. – P. 991-997.
16. Kahn B.B., Flier J.S. Obesity and insulin resistance // J. Clin. Invest. – 2000. – **106**, № 4. – P. 473-481.
17. Kannel W.B., Cuppels L.A., Ramaswami R. et al. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham study // J. Clin. Epidemiol. – 1991. – **44**, № 2. – P. 183-190.
18. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // Diabetologia. – 1985. – **28**, № 3. – P. 412-419.
19. Ogawa Y., Kishigami M. Study regarding to the measurement method for vitamin C in tissues // Ann. Rep. Shionogi Res. Lab. – 1957. – **7**. – P. 635-647.
20. Reaven G.M. Pathophysiology of insulin resistance in human disease // Physiol. Rev. – 1995. – **75**. – P. 473-486.
21. Wang P.R., Guo Q., Ippolito M. et al. High fat fed hamster, a unique animal model for treatment of diabetic dyslipidemia with peroxisome proliferator activated receptor alpha selective agonists // Eur. J. Pharmacol. – 2001. – **427**. – P. 285-293.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО, НА РАЗВИТИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У СИРИЙСКИХ ХОМЯЧКОВ

А.Л. Загайко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучены показатели метаболизма липидов и липопротеинов, продуктов липопероксидации и антиоксидантов в сыворотке крови и гомогенате печени хомячков с экспериментальным метаболическим синдромом (МС) и влияние перорального введения субстанций винограда культурного на эти показатели. Показано, что гиперкалорийная диета с использованием фруктозы приводит к развитию МС у животных. Субстанции винограда культурного оказались довольно активным средством, которое снижает негативные

проявления МС, тем не менее эффективность различных использованных субстанций существенным образом отличается. Исследуемые субстанции также нормализовали состав липопротеинов (ЛП) крови. Оксидативный статус апо-В-ЛП животных с МС значительно улучшался при использовании субстанций винограда. Таким образом, введение субстанций винограда культурного при МС может предотвращать повышение в крови содержания общих ЛП и апо-В-ЛП, а также предупреждать активацию свободнорадикальных процессов в липопротеиновых частицах плазмы и в целом нормализует метаболизм липидов в печени. Это свидетельствует о способности исследуемых субстанций ослаблять такие негативные следствия метаболического синдрома, как развитие атеросклероза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метаболический синдром, метаболизм липидов, свободнорадикальное окисление, виноград культурный, полифенолы, хомячки.

INFLUENCE OF POLYPHENOLIC COMPLEXES OBTAINED FROM GRAPES CULTURAL, ON EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME DEVELOPMENT IN SYRIAN HAMSTERS

A.L. Zahayko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The parameters of lipid and lipoprotein metabolism, lipoperoxidation products and antioxidants in blood serum and liver homogenate of hamsters with experimental metabolic syndrome and influence of peroral administration of Grapes cultural substances on these parameters are investigated. It has been shown, that hypercaloric diet with use of fructose results in development of metabolic syndrome (MS) at explored animals. The substances of grapes cultural have appeared to be a rather active agent, which reduces negative MS manifestations, nevertheless effectiveness of various used substances differs essentially. Used substances also normalized lipoprotein (LP) composition in blood. Oxidative status of apo-B-LP in animals with MS, was considerably better at use of grape substances. Thus, administration of Grapes substances under MS can prevent rising of total LP and apo-B-LP content in blood, and also warn an activation of free-radical processes in lipoprotein particles of plasma and, as a whole, normalizes lipid metabolism in liver. It testifies to ability of explored substances to relax such negative consequences of metabolic syndrome as atherosclerosis development.

KEY WORDS: metabolic syndrome, lipid metabolism, free-radical oxidation, Grapes cultural, polyphenols, hamsters.

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

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

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ "ПОЛЛЕНТАР" ТА ЙОГО СКЛАДОВИХ СУБСТАНЦІЙ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

О.Я. Міщенко, Л.В. Яковлева, С.Ю. Штриголь
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено дослідження церебропротекторної дії засобу "Поллентар" та його складових субстанцій (бурштинової кислоти та квіtkового пилку) порівняно з пірацетамом за умов експериментальної церебральної ішемії у щурів. Новий комбінований засіб "Поллентар" за вираженням церебропротекторної активності перевершує окремі складові субстанції (бурштинову кислоту і квіtkовий пилко) та препарат порівняння "Пірацетам", сприяючи 80 % виживаності тварин. Встановлено, що церебропротекторна дія поллентару забезпечується його здатністю активізувати аеробний шлях утворення енергії, гальмувати посилені процеси перекисного окиснення ліпідів та підвищувати антиоксидантний захист.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна церебральна ішемія, квіtkовий пилко, бурштинова кислота, поллентар, пірацетам, церебропротекторна активність.

ВСТУП. Судинні захворювання головного мозку – одна з провідних причин летальності та стійкої втрати працездатності населення всіх держав світу. На тлі старіння населення зберігається тенденція до невпинного зростання захворюваності та смертності від гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) [3, 10, 13]. В Україні щорічно майже в 175 000 пацієнтів реєструють інсульт, що посідає друге місце серед причин смерті після смертності від ішемічної хвороби серця [10]. Протягом року з моменту розвитку захворювання помирає кожний другий хворий [4, 13]. Майже в 80 % випадків ГПМК мають ішемічну етіологію [12, 14].

Гіпоксія, яка є одним із провідних патогенетичних механізмів розвитку метаболічних порушень при ГПМК, призводить до значних змін енергетичного метаболізму: підвищення рівня молочної кислоти та розвитку внутрішньоклітинного ацидозу. Це викликає порушення активності антиоксидантних ферментів, накопичення перекису водню, зростання концентрації вільних радикалів [6]. Ішемія головного мозку сприяє швидкому виснаженню антиоксидантної системи (АОС), що є причиною підвищення концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [1, 2, 16].

У зв'язку з вищенаведеним, доцільним є використання в комплексній терапії ГПМК

© О.Я. Міщенко, Л.В. Яковлева, С.Ю. Штриголь, 2007.

засобів, які здатні корегувати порушений метаболізм.

Метою даної роботи було порівняльне вивчення впливу нового засобу "Поллентар" та його складових субстанцій (бурштинової кислоти та квіtkового пилку) на метаболічні зміни, які виникають у результаті ішемічного пошкодження головного мозку щурів з експериментальною церебральною ішемією.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 63 білих нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г, що були поділені на шість груп. Тварини трьох груп профілактично протягом 14 днів одержували внутрішньошлунково, відповідно, засіб "Поллентар" у дозі 50 мг/кг, бурштинову кислоту (БК) в дозі 25 мг/кг та квіtkовий пилко (КП) у дозі 15 мг/кг. Поллентар у використаній дозі проявляв адаптогенну дію [7, 9]. Дози БК та КП відповідали вмісту цих субстанцій у поллентарі. Ще одній групі тварин, також у профілактичному режимі, внутрішньошлунково вводили препарат порівняння "Пірацетам" (виробництва Борщагівського ХФЗ) у дозі 200 мг/кг. Доза пірацетаму була адекватною для експериментальної оцінки церебропротекторного ефекту [15]. Щури 5-ї групи (контрольної патології) внутрішньошлунково одержували воду в об'ємі, еквівалентному до об'єму досліджуваних засобів. Глобальну

церебральну ішемію відтворювали у тварин вказаних груп під нембуталовим наркозом (40 мг/кг, внутрішньоочеревинно), перев'язуючи обидві загальні сонні артерії. За даних умов кровопостачання головного мозку відбувалося тільки за рахунок хребетних артерій. Щури ще однієї групи (хибнооперовані), відібрані для експерименту, піддавалися операційному втручанням без моделювання ішемії мозку. Через 24 год після операції на тлі введення препаратів спостерігали за виживаністю тварин, що є інтегральним показником церебропротекторної дії досліджуваних засобів.

Тварин, які вижили, декапітували під легким ефірним наркозом, витягували головний мозок, зважували його та визначали масовий коефіцієнт (МКМ).

У гомогенаті з великих півкуль головного мозку визначали вміст лактату [6], пірувату [5]. Інтенсивність ПОЛ визначали за концентрацією ТБК-реактивних, стан АОС – за вмістом відновленого глутатіону (G-SH) в гомогенаті мозку та сироватці крові [4].

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили з використанням критерію χ^2 при оцінці виживаності тварин та критерію Стюдента при аналізі біохімічних показників [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз одержаних даних (табл. 1) свідчить про те, що в групі тварин з церебральною ішемією (контрольна патологія) за першу добу загинуло більше половини щурів – понад 58 %.

У групі тварин, які отримували поллентар, після першої доби виживаність щурів склала 80 %, вона була найвищою порівняно з усіма досліджуваними групами. Виживаність тварин під впливом складових субстанцій поллентару (квіткового пилку та бурштинової кислоти) становила, відповідно, 36,4 та 50 %. У цілому можна стверджувати, що вплив поллентару на виживаність щурів є сумою ефектів його складових субстанцій. Протекторний ефект препарату порівняння "Пірацетам" був менш вира-

женим (58,3 %), ніж поллентару, та мав статистично недостовірний характер відносно контрольної групи.

Отже, поллентар проявив виражену протекторну дію на моделі глобальної церебральної ішемії у щурів – майже у 2 рази зросла виживаність тварин порівняно з контрольним показником. За ефективністю поллентар перевершив ноотропний препарат "Пірацетам", який сприяв підвищенню виживаності експериментальних тварин тільки в 1,4 раза.

Аналіз досліджуваних біохімічних показників дозволив припустити механізми порушень, що відбуваються на тлі експериментальної церебральної ішемії (табл. 2).

Результати дослідження показали, що в мозку щурів групи контрольної патології вміст лактату підвищився в 1,5 раза, а концентрація пірувату зберігалась на рівні інтактного контролю. Проте співвідношення лактат/піруват, що є показником балансу анаеробного (гліколітичного) та аеробного перетворення вуглеводів, зросло з 4,9 до 7,4, що вказує на пригнічення аеробного і посилення анаеробного гліколітичного шляху за умов недостатнього забезпечення киснем у результаті порушення кровопостачання мозку.

При ацидозі у тварин групи контрольної патології спостерігали гіперактивацію процесів ПОЛ та зниження антиоксидантного захисту, про що свідчили підвищений вміст ТБК-реактивних та низький рівень відновленого глутатіону як у гомогенаті мозку, так і в сироватці крові.

На формування набряку мозку в результаті ішемії на тлі метаболічного ацидозу та активації ПОЛ вказувало збільшення МКМ, що був вірогідно вищим у тварин групи контрольної патології порівняно з групою інтактних щурів.

Отже, у тварин групи контрольної патології спостерігали виражений набряк мозку, що формувався на тлі посилення анаеробного метаболічного шляху енергоутворення, інтенсифікації процесів ПОЛ та зниження активності

Таблиця 1 – Вплив досліджуваних засобів на виживаність щурів з глобальною церебральною ішемією

| Групи тварин | Доза, мг/кг | Усього тварин у групі | Кількість тварин, які вижили | % тварин, які вижили |
|---|-------------|-----------------------|------------------------------|----------------------|
| Інтактний контроль (хибнооперовані тварини) | – | 6 | 6 | 100 |
| Контрольна патологія | – | 12 | 5 | 41,6 |
| Патологія+поллентар | 50 | 10 | 8 | 80* |
| Патологія+квітковий пилкок | 25 | 11 | 4 | 36,4 |
| Патологія+бурштинова кислота | 15 | 12 | 6 | 50 |
| Патологія+пірацетам | 200 | 12 | 7 | 58,3 |

Примітка. * – відхилення вірогідні щодо групи контрольної патології, $p \leq 0,05$.

глутатіонової системи ендogenous антиоксидантного захисту.

Поллентар проявляв позитивний вплив на метаболічні зміни в мозку тварин з експериментальною церебральною ішемією. Порівняно з групою контрольної патології, під дією поллентару відбувались значне пригнічення інтенсивності анаеробних процесів, про що свідчило зменшення вмісту лактату в 1,8 раза, та посилення аеробних процесів окиснення субстратів. Співвідношення лактат/піруват під впливом поллентару знижувалось з 7,4 до 4,2, тобто до рівня інтактного контролю. Новий засіб сприяв також гальмуванню процесів ПОЛ на тлі зростання активності АОС, вірогідно пригнічуючи рівень ТБК-реактивних та підвищуючи вміст відновленого глутатіону в гомогенаті мозку та сироватці крові. Така корекція поллентаром ішемічних метаболічних порушень сприяла зменшенню набряку мозку: МКМ становив 0,76 проти 1,08 у тварин групи контрольної патології.

На тлі введення складових субстанцій засобу (бурштинової кислоти та квіткового пілку) спостерігали аналогічну до групи тварин, яким вводили поллентар, динаміку досліджуваних біохімічних показників, проте менш позитивно виражену. Рівень лактату в мозку щурів під впливом БК та КП був фактично таким, як і в групі контрольної патології, що проявилось дещо нижчим, порівняно з цією групою, співвідношенням лактат/піруват. Проте вказаний показник був вищим, ніж у групі тварин з поллентаром. Обидва засоби вірогідно пригнічували процеси ПОЛ у мозку та значно менше

впливали на такі в сироватці крові, проте протекторний ефект на глутатіонову АОС був більш вираженим у сироватці крові, про що свідчили показники вмісту глутатіону. Менш виражений корегувальний вплив окремих складових субстанцій поллентару, зокрема квітового пілку, спостерігали на порушенні метаболічних процесів. Підтвердженням цього є високий рівень набряку мозку, що майже відповідає показнику тварин групи контрольної патології (див. табл. 1).

Препарат порівняння "Пірацетам", як і засіб "Поллентар", сприяв активації аеробного шляху утворення енергії в мозку, знижуючи рівень лактату, підвищуючи рівень пірувату та нормалізуючи співвідношення лактат/піруват. Проте препарат невірогідно щодо групи контрольної патології гальмував процеси ПОЛ у мозку та корегував антиоксидантний захист. Позитивна дія пірацетаму на систему ПОЛ/АОС була більш вираженою в сироватці крові. Це, ймовірно, пояснюється тим, що профілактичне введення пірацетаму сприяло активізуючим метаболічним змінам у мозку, зокрема підвищенню рівня збуджуючих амінокислот, на тлі чого, можливо, і спостерігався високий рівень процесів ПОЛ і АОС. За таких умов і термінів експерименту пірацетам не проявляв вираженого антиоксидантного ефекту. На тлі описаних показників препарат зменшував набряк головного мозку, проте поступався поллентару за показником виживаності тварин.

Отже, можна констатувати, що серед досліджуваних засобів поллентар проявив вира-

Таблиця 2 – Показники церебропротекторної дії досліджуваних засобів на моделі церебральної ішемії у щурів

| Показники | Групи тварин | | | | | |
|---------------------------|---|----------------------|--------------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------------|
| | Інтактний контроль (хибнооперовані тварини) | Контрольна патологія | Патологія+ поллентар, 50 мг/кг | Патологія+ бурштинова кислота, 25 мг/кг | Патологія+ квітковий пілок, 15 мг/кг | Патологія+ пірацетам, 200 мг/кг |
| МКМ, г/100г | 0,74±0,01 | 1,08±0,10* | 0,76±0,03** | 0,87±0,02**/** | 0,97±0,04* | 0,92±0,03* |
| Гомогенат головного мозку | | | | | | |
| Лактат, ммоль/г | 1,78±0,17 | 2,69±0,17* | 1,66±0,15** | 2,66±0,58 | 2,62±0,43 | 2,13±0,14** |
| Піруват, ммоль/г | 0,359±0,013 | 0,362±0,023 | 0,387±0,011 | 0,446±0,012**/** | 0,396±0,019 | 0,443±0,018**/** |
| Лактат/піруват | 4,9 | 7,4 | 4,2 | 5,9 | 6,6 | 4,8 |
| ТБК-реактанти, ммоль/г | 432,3±65,9 | 526,8±32,3* | 354,8±32,5** | 350,4±18,8**/** | 386,1±22,0** | 479,1±27,1 |
| G-SH, мкмоль/г | 1,51±0,06 | 0,96±0,07* | 1,34±0,08** | 1,08±0,14* | 1,06±0,15* | 1,16±0,13* |
| Сироватка крові | | | | | | |
| ТБК-реактанти, ммоль/л | 0,43±0,03 | 0,57±0,05* | 0,35±0,04** | 0,46±0,09 | 0,45±0,06 | 0,43±0,05 |
| G-SH, мкмоль/л | 4,70±0,37 | 2,71±0,43* | 4,19±0,34** | 3,77±0,69 | 6,50±0,85** | 4,74±0,84** |

Примітка. * – відхилення вірогідні щодо групи хибнооперованих тварин, $p \leq 0,05$;

** – відхилення вірогідні щодо групи тварин з контрольною патологією, $p \leq 0,05$.

жений корегувальний вплив на порушені метаболічні процеси в мозку щурів на тлі експериментальної церебральної ішемії, сприяючи 80 % виживаності тварин, що в 1,4 раза більше, ніж під дією пірацетаму. За вираженням церебропротекторного ефекту поллентар перевершує окремі складові субстанції: квітковий пилок та бурштинову кислоту. Висока церебропротекторна активність його зумовлена багатим полікомпонентним складом. Це метаболічні субстрати: амінокислоти, вітаміни, фосфоліпіди, вуглеводи, що регулюють обмінні процеси в тканинах; макро- та мікроелементи, необхідні для функціонування ферментативних систем; фенольні сполуки, які забезпечують пряму антиоксидантну та мембранопротекторну дії [2, 4]. Відповідно до цього, механізм церебропротекторної дії поллентару, ймовірно, реалізується завдяки антиоксидантним та антигіпоксичним властивостям препарату [4,

5], а також відновленню мозкового кровообігу [8], що забезпечують комплексну корегувальну дію на виявлені порушення, які виникають на тлі церебральної ішемії. Факт більш вираженого церебропротекторного ефекту поллентару, порівняно зі складовими компонентами (квітковим пилом та бурштиновою кислоту), підтверджує доцільність створення та впровадження такої композиції.

ВИСНОВОК. Новий комбінований засіб "Поллентар" за церебропротекторною активністю перевершує окремі складові субстанції (бурштинову кислоту і квітковий пилок) та препарат порівняння "Пірацетам", сприяючи 80 % виживаності тварин. Церебропротекторна дія поллентару забезпечується здатністю корегувати дисбаланс анаеробно/аеробного шляху утворення енергії, гальмувати посилені процеси перекисного окиснення ліпідів та підвищувати антиоксидантний захист.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бульон В.В., Зарубина И.В., Коваленко А.Л. и др. Церебропротективный эффект цитофлавина при закрытой черепно-мозговой травме // Эксперим. и клин. фармакология. – 2003. – **66**, № 6. – С. 56-58.
2. Гаевый М.Д., Погорелый В.Е., Аджиенко Л.М., Приходько А.К. Фармакологическая коррекция пост-ишемических цереброваскулярных нарушений // Фармакологическая регуляция тонуса сосудов / Под ред. П.А. Галенко-Ярошевского. – М.: Изд-во РАМН, 1999. – С. 451-509.
3. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2003. – № 9 (приложение "Инсульт"). – С. 3-7.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск: Беларусь, 2000. – 2. – С. 103-104.
6. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследований в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 240.
7. Міщенко О.Я. Фармакологічне вивчення нового адаптивного засобу на основі продуктів бджільництва // Апітерапія: погляд у майбутнє: Мат. II з'їзду апітерапевтів України (31 жовтня – 1 листопада 2002 р., м. Харків) / Під ред. В.П. Черниха, О.І. Тихонова, Т.Г. Ярних. – Харків: Золоті сторінки, 2002. – С. 266-272.
8. Міщенко О.Я., Штриголь С.Ю., Яковлева Л.В. Вивчення церебропротекторної дії засобу "Поллен-

- тар" // Мед. хімія. – 2003. – № 3. – С. 14-17.
9. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В., Лелека М.В. Експериментальне вивчення впливу нового адаптивного засобу "Поллентар" на витривалість щурів // Мед. хімія. – 2002. – № 4. – С. 48-51.
10. Полищук Н.Е., Гуляев Д.В. Что делать? Или необходимость организационных изменений в борьбе с инсультом в Украине // Doctor. – 2003. – № 3. – С. 7-9.
11. Стентон Г. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
12. Суслина З.А. Ишемический инсульт: принципы лечения в острейшем периоде // Нервные болезни. – 2004. – № 1. – С. 14-18.
13. Яворская В.А., Фломин Ю.В., Дьолог Н.В., Гребенюк А.В. Профилактика инсульта с позиций доказательной медицины: ABC // Укр. мед. часопис. 2004. – № 4 (42). – VII-VIII. – С. 49-57.
14. Albers G.W., Caplan L.R., Easton J.D. et al. Transient ischemic attack: proposal for a new definition // New Engl. J. Med. – 2004. – № 347. – P. 1713-1716.
15. Fleishaker J.C., Hulst Z.C., Peters G.R. Multi-dose tolerability and pharmacokinetics of tirilazad mesilate at doses of up to 10 mg/kg/day administered over 5-10 days in healthy volunteers // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 1994. – **32**, № 5. – P. 223-230.
16. Yamamoto M., Shima T., Uozumi T. et al. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and the protective effect of alpha-tocopherol administration // Stroke. – 1983. – **14**, № 6. – P. 977-982.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СРЕДСТВА "ПОЛЛЕНТАР" И ЕГО СОСТАВНЫХ СУБСТАНЦИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

О.Я. Мищенко, Л.В. Яковлева, С.Ю. Штрыголь
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено исследование церебропротекторного действия средства "Поллентар" и его составных субстанций (янтарной кислоты и цветочной пыльцы) в сравнении с пирацетамом в условиях экспериментальной церебральной ишемии у крыс. Новое комбинированное средство "Поллентар" по выраженности церебропротекторной активности превосходит отдельные составные субстанции (янтарную кислоту и цветочную пыльцу), а также препарат сравнения "Пирацетам". Установлено, что церебропротекторное действие поллентара обеспечивается его способностью активизировать аэробный путь образования энергии, тормозить усиленные процессы перекисного окисления липидов и повышать антиоксидантную защиту.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальная церебральная ишемия, цветочная пыльца, янтарная кислота, поллентар, пирацетам, церебропротекторная активность.

COMPARATIVE STUDY OF CEREBROPROTECTIVE ACTION OF DRUG "POLLENTAR" AND ITS COMPONENTS AT EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA

O.Ya. Mishchenko, L.V. Yakovleva, S.Yu. Shtrygol
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

Research of cerebroprotective action of drug "Pollentar" and its components (succinic acid and flower pollen) compared to piracetam in conditions of experimental brain ischemia at rats was carried out. The new combinative drug "pollentar" excels in cerebroprotective action its components as well as comparison drug "Piracetam" promoting 80 % survival of animals. It was shown that cerebroprotective action of drug "Pollentar" is characterized by increase of aerobic metabolic processes, oppression of POL processes, and increase activity of antioxydative system.

KEY WORDS: experimental brain ischemia, succinic acid, flower pollen, pollentar, piracetam, cerebroprotective activity.

Адреса для листування: О.Я. Міщенко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

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

АКТИВНІСТЬ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ У НЕЙТРОФІЛАХ КРОВІ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ

В.К. Казимирко, В.В. Кутовий, Г.В. Пономарьова,
Т.С. Сілантьєва, А.Г. Дубкова, Л.М. Іваницька

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

Результати досліджень свідчать про посилення енергетичних та вільнорадикальних процесів у нейтрофілах крові хворих з гострим коронарним синдромом. Ці зміни пов'язані з розвитком неспецифічного адаптаційного синдрому, що підтверджено у досліджах in vitro.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемічна хвороба серця, стабільна стенокардія напруження, гострий коронарний синдром, інфаркт міокарда, цитохімія, нейтрофіли.

ВСТУП. Вивчення енергетичного та вільнорадикального метаболізму нейтрофільних гранулоцитів при різних захворюваннях є актуальною проблемою. Від стану цих процесів залежить функціональна активність клітин. Нейтрофіли крові є тонким індикатором метаболічних змін, що відбуваються в організмі при різних захворюваннях.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою роботи було вивчити активність цитохромоксидази та мієлопероксидази нейтрофільних гранулоцитів крові у хворих на ішемічну хворобу серця: 23 хворих зі стабільною стенокардією напруження II функціонального класу (ФК), 23 пацієнтів з гострим інфарктом міокарда без зубця Q на ЕКГ, 49 – з інфарктом міокарда з патологічним зубцем Q. Вік хворих коливався в діапазоні 31-70 років, чоловіків було 51,14 %, жінок – 42,86 %. Цитохімічні дослідження проводили на першу добу госпіталізації у стаціонарі та після 10 днів лікування. Цитохромоксидазу визначали за допомогою G-реакції, мієлопероксидазу – за Грахам-Кноллем [1, 2]. Середній цитохімічний коефіцієнт (СЦК) визначали за формулою Astaldu та Verga. Статистичну обробку цифрового матеріалу проводили за методом Монцевичюте – Ерінгене. Як контроль використовували кров 41 донора.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведене дослідження активності окисно-відновних

ферментів у нейтрофілах крові хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС), зокрема зі стенокардією напруження II функціонального класу, не виявило у них статистично вірогідного зростання активності цитохромоксидази та мієлопероксидази (показники перевищували рівень донорів, відповідно, на 3,08 та 3,55 %). Після комплексного лікування активність ферментів через 10 днів також не відрізнялась від рівня показників здорових осіб. Значне підвищення активності ферментів спостерігалось у хворих, які мали ускладнення – СН ІІБ (3 хворих), тахісistolічну форму миготливої аритмії (2 хворих). Здатність нейтрофільних гранулоцитів до поглинання бактерій у них була зниженою.

Зовсім іншими були цитохімічні зміни в нейтрофілах крові хворих з гострим коронарним синдромом. Так, у хворих на гострий інфаркт міокарда без зубця Q на ЕКГ на момент госпіталізації показники активності ферментів, що вивчались, були різко підвищеними. Аналогічний рівень показників спостерігався у хворих на інфаркт міокарда із зубцем Q (табл. 1).

На першу добу розвитку інфаркту міокарда з патологічним зубцем Q спостерігалася виражена інтенсифікація тканинного дихання і вільнорадикального окиснення, що проявилось підвищенням активності цитохромоксидази та мієлопероксидази. СЦК активності цитохромоксидази перевищував показники здорових осіб на 29,99 %, пероксидази – на 19,27 %. Максимальні значення показників спостері-

© В.К. Казимирко, В.В. Кутовий, Г.В. Пономарьова, Т.С. Сілантьєва, А.Г. Дубкова, Л.М. Іваницька, 2007.

Таблиця 1 – Динаміка цитохімічних змін у нейтрофільних гранулоцитах крові хворих на ішемічну хворобу серця

| Контингент | Середні цитохімічні коефіцієнти (од.) | |
|--|--|--|
| | цитохромоксидаза | мієлопероксидаза |
| Донори (n=41) | 1,92±0,02 | 1,97±0,02 |
| ІХС: стабільна стенокардія ІІ ФК при госпіталізації (n=23) | 2,03±0,03 p>0,05 | 2,04±0,03 p>0,05 |
| Через 10 днів | 1,95±0,01 p>0,5 p ₁ >0,05 | 1,96±0,01 p>0,5 p ₁ >0,05 |
| Інфаркт міокарда без зубця Q при госпіталізації (n=23) | 2,47±0,04 p<0,001 | 2,42±0,04 p<0,001 |
| Через 10 днів | 2,10±0,04 p<0,01 p ₁ <0,001 | 2,07±0,04 p<0,05 p ₁ <0,001 |
| Інфаркт міокарда із зубцем Q при госпіталізації (n=49) | 2,43±0,04 p<0,001 | 2,44±0,04 p<0,001 |
| Через 10 днів | 2,08±0,04 p<0,01 | 2,11±0,04 p<0,01 |

Примітка. p – ступінь вірогідності порівняно з показниками здорових осіб; p₁ – ступінь вірогідності порівняно з показниками хворих зі стенокардією напруження ІІ ФК.

гались у хворих з ускладненнями (кардіогенний шок, гостра серцева недостатність, набряк легень, тромбоемболія гілок легеневої артерії). Через 10 діб лікування, незважаючи на виражене зниження, показники цитохромоксидази та мієлопероксидази продовжували перевищувати аналогічні показники здорових осіб. Рівень показників активності ферментів залишався високим у пацієнтів з ускладненнями (аневризма лівого шлуночка, синдром Дреслера, рецидивний інфаркт міокарда), а також у 3 хворих із супровідним цукровим діабетом. Зниження здатності лейкоцитів до фагоцитозу (індекс Райта в середньому зменшувався на 21,53 % порівняно з показниками здорових осіб) спостерігалось у пацієнтів з тяжким перебігом захворювання з переліченими вище ускладненнями та супровідним цукровим діабетом. Визначення цитохімічних показників було більш інформативним порівняно з АСТ, ЛДГ.

Результати наших досліджень свідчать про посилення енергетичних і вільнорадикальних процесів у нейтрофільних гранулоцитах хворих на ІХС, зокрема інфаркт міокарда, як з патологічним зубцем Q, так і без нього. Ці зміни пов'язані з розвитком неспецифічного адаптаційного синдрому, що підтверджено в дослідженнях *in vitro*. Так, внесення у проби з кров'ю адреналіну (0,0002 мг/мл), норадреналіну (0,008 мг/мл) та інкубація їх у термостаті протягом 30 хв супроводжувались збільшенням СЦК цитохромоксидази, відповідно, з

1,92±0,02 до 2,29±0,04 (p<0,001) та 2,19±0,05 (p<0,001), мієлопероксидази – з 1,97±0,02 до 2,16±0,03 (p<0,001) та 2,10±0,03 (p<0,001) відповідно. СЦК сумарних дегідрогеназ (НСТ-тест) підвищився з 1,55±0,04 до 2,00±0,03 (p<0,001) та 1,96±0,03 (p<0,001), АТФ-ази – з 0,52±0,05 до 0,76±0,04 (p<0,001) та 0,58±0,06 (p>0,2) відповідно. Ця дія катехоламінів супроводжувалась зростанням фагоцитарної активності клітин, у тому числі завершеністю фагоцитозу.

Таким чином, нейтрофіли є тонким індикатором метаболічних змін, які відбуваються в організмі при ішемічній хворобі серця. Енергетичні й вільнорадикальні процеси в цих клітинах інтенсифікуються адреналіном і норадреналіном. Визначення цитохімічних показників при інфаркті міокарда є більш інформативним порівняно з аспарагіною амінотрансферазою та загальною лактатдегідрогеназою.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток у хворих на ішемічну хворобу серця гострого інфаркту міокарда супроводжується підсиленням окисно-відновних процесів у нейтрофілах крові, зокрема підвищенням активності цитохромоксидази та мієлопероксидази. Ці зміни зумовлені катехоламінами внаслідок розвитку неспецифічного адаптаційного синдрому.

2. Цитохімічне визначення активності ферментів у нейтрофілах може використовуватись у клінічній практиці з діагностичною метою при гострому коронарному синдромі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.Т., Струков А.И., Фукс Б.Б. Принципы и методы гистоцитохимического анализа в патологии. – М.: Медицина, 1971. – 368 с.
2. Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Филатова Р.С., Шляховенко В.А. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов. – К.: Наукова думка, 1974. – 244 с.

АКТИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В НЕЙТРОФИЛАХ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

**В.К. Казимирко, В.В. Кутовый, Г.В. Пономарева,
Т.С. Силантьева, А.Г. Дубкова, Л.Н. Иваницкая**
НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ИМ. П.Л. ШУПИКА

Резюме

Результаты исследований свидетельствуют об усилении энергетических и свободнорадикальных процессов в нейтрофилах крови больных с острым коронарным синдромом. Эти изменения связаны с развитием неспецифического адаптационного синдрома, что подтверждено в исследованиях in vitro.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемическая болезнь сердца, стабильная стенокардия напряжения, острый коронарный синдром, инфаркт миокарда, цитохимия, нейтрофилы.

ACTIVITY OF OXIDATION-REDUCTION FERMENTS IN NEUTROPHILS OF BLOOD AT ISCHEMIC HEART DISEASE

**V.K. Kazymyrko, V.V. Kutovy, H.V. Ponomaryova,
T.S. Silantyeva, A.H. Dubkova, L.M. Ivanytska**
NATIONAL MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION BY P.L. SHURYK

Summary

Results of researches testify to intensifying of energetic and free-radical processes in blood neutrophils of the patients with acute coronary syndrome. These changes are related to the development of non-specific adaptative syndrome that is confirmed in researches in vitro.

KEY WORDS: ischemic heart disease, stable stenocardia of tension, acute coronary syndrome, myocardial infarction, cytochemistry, neutrophils.

Адреса для листування: В.К. Казимирко, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, вул. Дорогожичська, 9, Київ, 04112, Україна.

ІММОБІЛІЗАЦІЯ ПАПАЇНУ ТА СЕЧОВИНИ В ПОЛІВІНІЛОВИЙ СПИРТ**І.І. Романовська, С.С. Декіна****ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В. БОГАТСЬКОГО НАН УКРАЇНИ, ОДЕСА**

Вивчено сумісну іммобілізацію папаїну та сечовини в полівініловий спирт. Взаємодію матриці та ферменту підтверджено методами УФ-спектроскопії та віскозиметрії. Розроблено умови включення папаїну та сечовини в полівініловий спирт; отримано комплексний іммобілізований препарат з підвищеною протеолітичною активністю, термостабільністю, розширеними рН- і термопрофілями активності, стабільний протягом 1 року зберігання, пролонгованої дії. Проведені медико-біологічні випробування іммобілізованого препарату у вигляді плівки (площа – 0,64 см², товщина – 0,35 мм) на лужних опіках рогівки очей кроликів показали потенційну можливість його застосування для опікової терапії в офтальмології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: папаїн, сечовина, іммобілізація, полівініловий спирт, плівки, лужні опіки.

ВСТУП. Папаїн (КФ 3.4.22.2) широко застосовують у біологічних та біомедичних наукових дослідженнях, біотехнології, він незамінний при дослідженні рецепторного апарату клітин, структури білків, хімічному аналізі та очищенні різних біологічно активних речовин. Висока протеолітична та фібринолітична активність папаїну дозволяє застосовувати фермент у багатьох галузях медицини (хірургія, травматологія, офтальмологія) [3, 5, 9, 10]. Специфічний вплив на гнійно-некротичні процеси є одним з основних напрямків лікувального застосування папаїну [6, 7], ефективність дії якого підвищується при використанні сечовини. Застосування в офтальмологічній практиці розчинів папаїну і сечовини не завжди є доцільним, тому що супроводжується складністю дозування препарату, утворенням високої локальної концентрації ферменту в зоні ураження, нестабільністю при зберіганні, різкою больовою дією, подразненням, труднощами при опіках очей, особливо тяжкого ступеня, через значний набряк повік і блефароспазм. Ось чому одержання іммобілізованої плівкової форми папаїну і сечовини є важливим завданням.

Метою даної роботи було вивчення сумісної іммобілізації папаїну і сечовини в полівініловий спирт.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували папаїн із Carica papaya (Merck) з активністю 320 Од/г, сечовину "чда", полівініловий спирт (ПВС) (М.м. 30000).

© І.І. Романовська, С.С. Декіна, 2007.

Вимірювання в'язкості розчинів ПВС проводили за допомогою віскозиметра Оствальда з діаметром капіляра 0,73 мм [2].

Протеолітичну активність вільного та іммобілізованого папаїну визначали за модифікованим методом Ансона [4], субстрат казеїн – за Гаммерстейном. За одиницю протеолітичної активності брали таку кількість ферменту, що за 1 хв при 37 °С каталізує розщеплення казеїну до продуктів, що не осаджуються трихлор-оцтовою кислотою і вміст яких виражено в мікромолях тирозину.

Вміст білка контролювали методом Лоурі-Хартрі [8], сечовини – методом Мішона і Арно [1].

Іммобілізацію здійснювали, змішуючи розчини папаїну, папаїну і сечовини в Na-фосфатному буферному розчині (0,03 М; рН=7,4) з розчином ПВС. Отриману суміш розливали в чашки Петрі й сушили при кімнатній температурі до постійної маси.

Для вивчення залежності протеолітичної активності папаїну від рН, рівні за активністю проби іммобілізованого і вільного ферменту інкубували у відповідних буферних розчинах (рН=4,0-10,0) з наступним визначенням активності. Вплив температури на залишкову активність гідролізу казеїну вільним та іммобілізованим ферментом вивчали в діапазоні від 10 до 70 °С при рН 7,4. Для вивчення термостабільності рівні за активністю проби термостатували при 50 °С і визначали залишкову активність з інтервалом 10-20 хв. Розчинність препарату визначали візуально, поміщаючи 50 мг

його в 10 см³ дистильованої води при температурі 37 °С та періодично струшуючи.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Імобілізація папаїну в ПВС здійснювалась за рахунок взаємодії ферменту з носієм, що підтверджувалось методами вискозиметрії та УФ-спектроскопії.

Зниження значень в'язкості розчинів полівинилового спирту (табл. 1) свідчило про компактизацію молекули ПВС, що відбувалась в результаті взаємодії. Разом із тим, присутність сечовини не впливала на зміну в'язкості полімеру, що вказувало на її тільки механічне включення.

На рисунку 1 представлені спектри поглинання розчинів папаїну в присутності ПВС і сечовини при однаковій у всіх випадках концентрації ферменту. В присутності полімеру відзначено збільшення оптичної густини (гіперхромний ефект), що свідчило про наявність взаємодій між матрицею і ферментом. Відсутність змін у спектрах при додаванні сечовини підтвердили результати вискозиметрії, що вказували на відсутність участі сечовини в утворенні продукту взаємодії між ферментом і носієм.

Методом мольних відносин встановлено мольне співвідношення папаїн:ПВС, що дорівнює 1:1,2, зниження вмісту ПВС призводило до механічного включення ферменту.

на 1:1,2, зниження вмісту ПВС призводило до механічного включення ферменту.

На підставі проведених експериментів здійснено імобілізацію папаїну і сечовини з масовим співвідношенням фермент:носій:сечовина 1:7:0,75; отримано напівпрозорі плівки кремового кольору, без запаху, площею 0,64 см², товщиною 0,35 мм, з кількісним включенням папаїну і сечовини, що розчинялися протягом 25 хв з повним виходом папаїну і сечовини. При сумісній імобілізації одержано комбінований препарат з активністю (389±4) ПО/г, що перевищувала в 1,6 раза активність імобілізованого папаїну (табл. 2). Такий ефект, що проявляється і при зберіганні препаратів протягом року, пояснюється дією сечовини, яка частково денатурує субстрат, і призводить до повного розриву водневих і дисульфідних зв'язків білка, зміни конформації молекул і дезагрегації білків струпа з його наступним розпушенням, що забезпечує більшу доступність пептидних зв'язків в окремих фрагментах для папаїну.

Дослідження властивостей комплексного імобілізованого препарату, порівняно з вільним, імобілізованим папаїном у присутності сечовини, показало розширення його рН-оптимуму в ділянку кислих значень рН (до 5,0), що дозволяє зберегти високу протеолітичну активність у середовищі ранового вмісту (рис. 2). На рисунку 3 представлено температурні залежності швидкості гідролізу казеїну вільним папаїном і його імобілізованою формою. У таблиці 3 наведено значення констант термоінактивації, обчислено як константи швидкості мономолекулярної реакції за тангенсом кута нахилу лінійного графіка залежності натурального логарифма величини зали-

Таблиця 1 – Кінематична в'язкість розчинів ПВС

| Об'єкт дослідження | В'язкість, мстокс М±m |
|---------------------|-----------------------|
| ПВС | 2,34±0,07 |
| ПВС+папаїн | 2,17±0,07 |
| ПВС+папаїн+сечовина | 2,20±0,07 |
| ПВС+сечовина | 2,33±0,05 |

Примітка. p>0,001 при n=9.

Таблиця 2 – Імобілізація папаїну і сечовини в плівки ПВС

| Препарат | Протеолітична активність | | | | | | | |
|-----------------|--------------------------|---------------|----------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------|
| | Після імобілізації | | При зберіганні | | | | | |
| | ПО/г M±m | % від вих. | 1 міс. | | 3 міс. | | 12 міс. | |
| ПО/г M±m | | | % від вих. | ПО/г M±m | % від вих. | ПО/г M±m | % від вих. | |
| Папаїн | 238±6 | 74,4 | 223±5 | 69,7 | 202±6 | 63,1 | 201±5 | 62,8 |
| Папаїн+сечовина | 389±9 | 121,7 | 380±5 | 118,8 | 362±9 | 113,1 | 361±8 | 112,8 |

Примітка. p>0,001 при n=6.

Таблиця 3 – Константи термоінактивації вільного й імобілізованого папаїну

| Папаїн | K _и · 10 ³ , хв ⁻¹ M±m | |
|---------------------------------------|---|-----------|
| | 37 °С | 50 °С |
| Вільний | 3,17±0,09 | 4,01±0,08 |
| Імобілізований | 2,68±0,08 | 2,02±0,09 |
| Вільний у присутності сечовини | 0,71±0,05 | 2,37±0,07 |
| Імобілізований у присутності сечовини | 0,32±0,03 | 1,02±0,03 |

Примітка. p>0,001 при n=6.

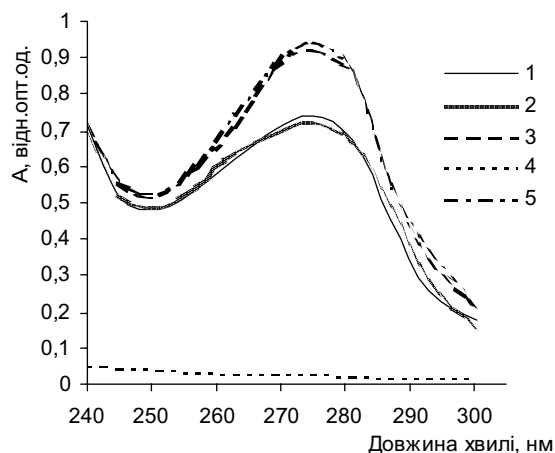


Рис. 1. Спектри поглинання розчинів папаїну: 1 – папаїн; 2 – папаїн+сечовина; 3 – папаїн+ПВС; 4 – ПВС+сечовина; 5 – папаїн+ПВС+сечовина.

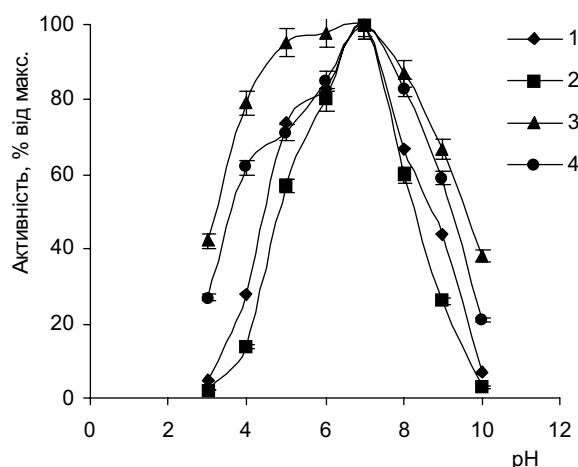


Рис. 2. Залежність протеолітичної активності папаїну від рН середовища: 1 – вільний фермент; 2 – вільний фермент у присутності сечовини; 3 – іммобілізований фермент; 4 – іммобілізований фермент у присутності сечовини.

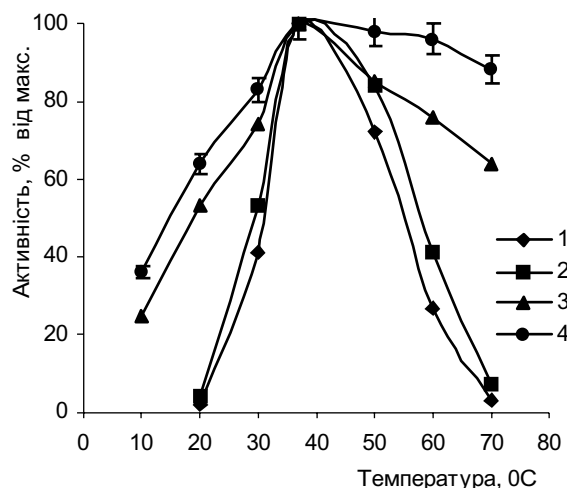


Рис. 3. Залежність протеолітичної активності папаїну від температури: 1 – вільний фермент; 2 – вільний фермент у присутності сечовини; 3 – іммобілізований фермент; 4 – іммобілізований фермент у присутності сечовини.

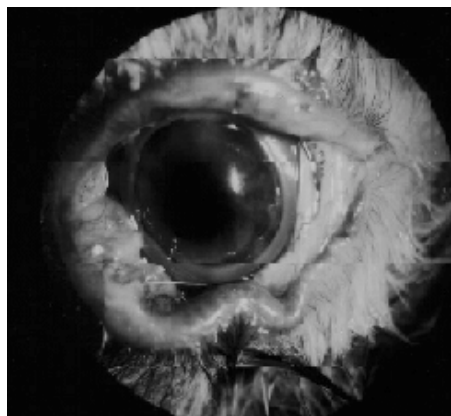


Рис. 4. 50 хвилин після аплікації полімерної плівки з іммобілізованими папаїном і сечовиною. Мутні шари рогівки відторглись.

шкової активності від часу методом лінійної регресії. Розширення термооптимуму іммобілізованої форми, поряд зі зниженням значень констант термоінактивації, свідчить про підвищення термостабільності іммобілізованого папаїну.

Разом зі співробітниками НДІ очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова були проведені медико-біологічні випробування розроблених ОЛП на моделях тяжких лужних опіків рогівки очей 20 кроликів породи шиншила. Усі експерименти з тваринами виконано згідно із Законом України № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" та з використанням епібульбарної анестезії. Sol. dikaini 0,5 % вводили по 2 краплі 3 рази на день у кон'юнктивальну порожнину. Опік рогівки ока кроликів викликали 10-секундною експозицією 10 % розчину гідроокису натрію за допомогою спеціального аплікатора, потім око промивали 10 см³ фізіологічного розчину.

Ферментну обробку опікової поверхні проводили розчином папаїну і сечовини та комплексним іммобілізованим препаратом. Через 25 хв після застосування розчину некротично змінений шар рогівки розпушувався і піднімався над поверхнею рогівки у вигляді "шапки". Результатом використання ОЛП стало площинне відторгнення щільної за структурою некротично зміненої ділянки рогівки через 45 хв, що легко й повністю відділялася, забезпечуючи можливість проведення невідкладної кератопластики (рис. 4).

ВИСНОВОК. На основі полівінілового спирту було отримано плівки сумісно іммобілізованих папаїну і сечовини з високою протеолітичною активністю, стабільністю, пролонгованою дією й можливістю потенційного використання для опікової терапії в офтальмології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. – М.: Наука, 1965. – 544 с.
2. Бартенев Г.М., Френкель С.Я. Физика полимеров. – Л.: Химия, 1990. – 432 с.
3. Зузук Б.М., Куцик Р.В., Куровець Л.М. и др. Папайя – дынное дерево (*Саргиса рарауа* L.) (Аналитический обзор) // Провизор. – 2001. – № 14. – С. 3-16.
4. Польшалина Г.В., Чередниченко В.С., Римаева Л.В. Определение активности ферментов. – М.: ДеЛи принт, 2003. – С. 230-231.
5. Рахимов М.Р. Фармакологическое исследование папаина растения папайя, культивированного в Узбекистане // Экспер. и клин. фармакол. – 2000. – **63**, № 3. – С. 55-57.
6. Старков Г.Л., Осна А.И., Россинский В.И. и др. Папаин как лечебный фермент в медицине // Клин. мед. – 1978. – № 8. – С. 119-122.
7. Чаланова Р.И. Изучение некролитических свойств некоторых протеолитических ферментов при щелочных ожогах глаз // Офтальм. журн. – 1988. – № 4. – С. 277-280.
8. Hartree E.E. Determination of protein modification of the Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. – 1972. – **48**, № 1. – P. 422-427.
9. Starley I.F., Mohammed P., Schneider G. The treatment of pediatric burns using topical papaya // Burns. – 1999. – **25**, № 7. – P. 636-639.
10. Wright J.B., Shi L. Accuzyme Papain-Urea Debriding Ointment: A Historical Review // Wounds. – 2003. – **15**, № 4. – P. 1-12.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ПАПАИНА И МОЧЕВИНЫ В ПОЛИВИНИЛОВЫЙ СПИРТ

И.И. Романовская, С.С. Декина

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. А.В. БОГАТСКОГО НАН УКРАИНЫ, ОДЕССА

Резюме

Изучено совместную иммобилизацию папаина и мочевины в поливиниловый спирт. Взаимодействие матрицы и фермента подтверждено методами УФ-спектроскопии и вискозиметрии. Разработаны условия включения папаина и мочевины в поливиниловый спирт; получен комплексный иммобилизованный препарат с повышенной протеолитической активностью, термостабильностью, расширенными рН- и термопрофилями активности, стабильный на протяжении 1 года хранения, пролонгированного действия. Проведенные медико-биологические испытания иммобилизованного препарата в виде пленки (площадь – 0,64 см², толщина – 0,35 мм) на щелочных ожогах роговицы глаз кроликов показали потенциальную возможность его применения для противоожоговой терапии в офтальмологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: папаин, мочевина, иммобилизация, поливиниловый спирт, пленки, щелочные ожоги.

THE PAPAIN AND UREA IMMOBILIZATION INTO POLYVINYL ALCOHOL

I.I. Romanovska, S.S. Dekina

PHYSICS-CHEMICAL INSTITUTE BY O.V. BOHATSKY OF NAS OF UKRAINE, ODESSA

Summary

The combined immobilization of papain and urea into polyvinyl alcohol has been studied. Interaction between matrix and enzyme was proved by the methods of UV-spectroscopy and viscosimetry. Conditions for the papain and urea inclusion into polyvinyl alcohol have been developed; complex immobilized preparation, which is stable within a year of storage, with the prolonged action and improved proteolytic activity, thermal stability, with the expanded pH- and thermal profiles of activity has been obtained. Medical-biological trials of immobilized preparation as a film (area – 0, 64 cm², thickness – 0,35 mm) on the alkaline burns of the rabbit's eye cornea demonstrated that its application for anti-burn therapy in ophthalmology is prospective.

KEY WORDS: papain, urea, polyvinyl alcohol, immobilization, films, alkaline burns.

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

ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ОКИСНО-ВІДНОВНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПЕРИТОНІТУ ТА ЙОГО РОЗВИТКУ НА ТЛІ ПОЄДНАНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Ф.В. Гринчук

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У роботі представлено результати дослідження співвідношення активності окисної та відновної систем крові щурів за умов гострого перитоніту. Встановлено, що поєднання останнього з цукровим діабетом та ураженням печінки і нирок має характерні закономірності – спотворення окисно-відновних процесів та швидкий розвиток недостатності антиоксидантних систем.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перитоніт, поєднана патологія, окисно-відновна система.

ВСТУП. Вільнорадикальне окиснення – одна з найважливіших ланок метаболізму. Зумовлено це роллю таких реакцій у підтриманні стабільності біологічних мембран, процесах мітозу, апоптозу, некрозу, детоксикації, формуванні реакцій неспецифічної резистентності, утворенні біологічно активних речовин тощо [1, 9]. Відповідно, відновна система, що включає численні фактори, до яких відносять ферменти, вітаміни, білки крові й т. ін., є важливим чинником підтримання гомеостазу, оскільки врівноважує процеси пероксидації [5, 8].

Змінам співвідношення активності про- та антиоксидантної систем відводиться важлива роль у розвитку численних захворювань [4, 6, 13]. Зокрема, порушення редокс-рівноваги є однією з провідних ланок патогенезу гострого перитоніту, що пов'язують із недостатністю антиоксидантного захисту [12]. Однак особливості таких процесів в умовах, коли перитоніт розвивається на тлі попередніх змін окисно-відновних реакцій, зумовлених супровідною патологією, залишаються нерозкритими. Окрім того, в більшості робіт, присвячених перитоніту, такі процеси часто розглядаються дещо уособлено, відокремлено від змін інших систем. Разом із тим, зростання захворюваності на різноманітні, перш за все хронічні, захворювання робить такі дослідження актуальними.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріал досліджень становили 123 білих статевозрілих щурів лінії Вістар масою від 180 до 200 г. Перитоніт

© Ф.В. Гринчук, 2007.

моделювали за розробленою методикою, шляхом черезстравохідної перфорації шлунка спеціальним пристроєм [11]. Супровідною патологією (СП) було одне з найпоширеніших захворювань – цукровий діабет (ЦД), який моделювали шляхом підшкірного введення 1,6 % розчину алоксану на дистильованій воді в дозі 16 мг на 100 г маси [2]. Крім того, враховуючи значну розповсюдженість патології печінки та нирок, ми моделювали їх ураження шляхом підшкірного введення 5 % розчину нітриту натрію на дистильованій воді в дозі 0,5 мг на 100 г маси, що викликало розвиток гломерулонефриту та гепатиту [10].

Тварин поділили на такі групи. До 1-ї групи ввійшли 20 щурів із перитонітом, контролем для яких були 5 інтактних та 12 псевдооперованих тварин, яким вводили пристрій без перфорації шлунка. До 2-ї – 20 щурів із перитонітом на фоні гепатиту та гломерулонефриту, контролем для яких були 17 тварин, яким вводили нітрит натрію, з них 12 псевдооперованих. До 3-ї – 20 щурів із перитонітом на фоні цукрового діабету, контролем для яких були 17 тварин із моделлю діабету, з них 12 псевдооперованих. Окрему групу склали 12 тварин, яким підшкірно вводили дистильовану воду в кількості 1 мл на 100 г маси.

При виконанні роботи дотримували основних вимог Ванкуверської конвенції (1979, 1994) про біомедичні експерименти. Виводили тварин з експерименту шляхом декапітації. Усі маніпуляції проводили під хлороформним наркозом.

Для оцінки активності процесів пероксидації визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) в еритроцитах та окиснювальну модифікацію білка (ОМБ) у плазмі. Активність антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом у плазмі церулоплазміну (ЦП) та SH-груп, що входять до складу багатьох біологічних сполук, у тому числі відновленого глутатіону, альбуміну, які є важливими компонентами антиоксидантного захисту [8].

Активність системи неспецифічного захисту оцінювали за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Токсичність плазми визначали за вмістом молекул середньої маси (МСМ).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що вихідний вміст МДА в еритроцитах піддослідних тварин практично не відрізнявся від інтактних (рис. 1). Разом із тим, ОМБ (рис. 2)

у щурів із ЦД та, особливо, токсичним ураженням була вірогідно нижчою, ніж у інтактних. Причиною цього могла бути надмірна активація ферментативних механізмів АОС, що проявлялось різким зростанням вмісту ЦП при цукровому діабеті (рис. 3) та не менш вираженим збільшенням вмісту SH-груп (рис. 4) у тварин із токсичним ураженням. Такі зміни активності редокс-системи можуть викликати патологію обміну при ЦД, захворюваннях печінки та нирок внаслідок недостатності ОМБ, яка є обов'язковим компонентом цілої низки метаболічних процесів [1, 9].

Білки із зміненою біологічною структурою можуть набувати антигенних властивостей. Звертає на себе увагу суттєва перевага рівня ЦІК (рис. 5) у тварин із токсичним ураженням та ЦД порівняно з інтактними, що свідчить про активацію гуморальної ланки імунної системи,

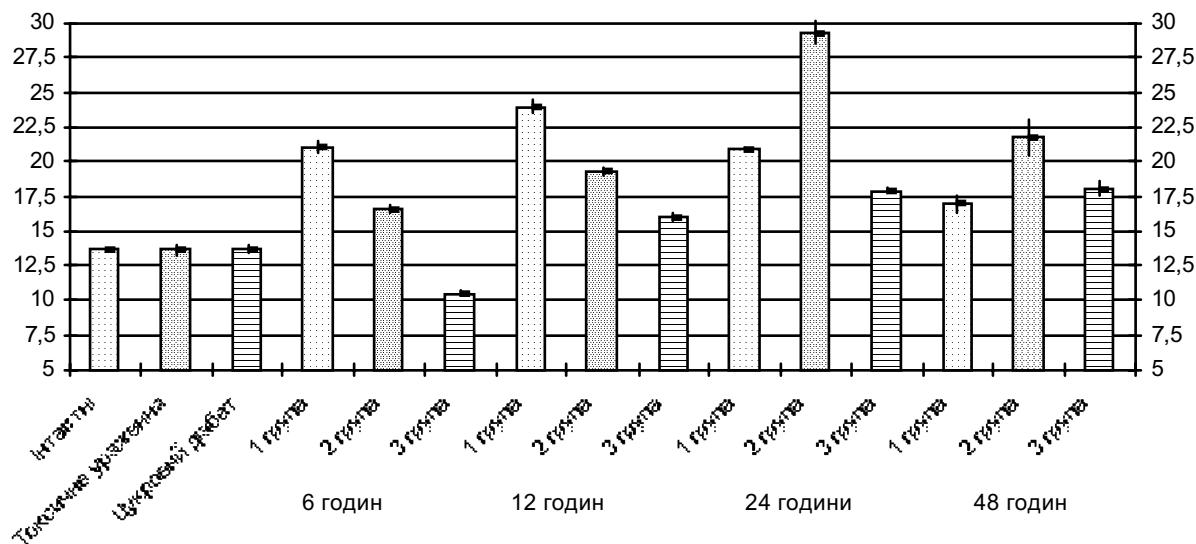


Рис. 1. Динаміка вмісту малонового діальдегіду (мкмоль/л) в еритроцитах експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

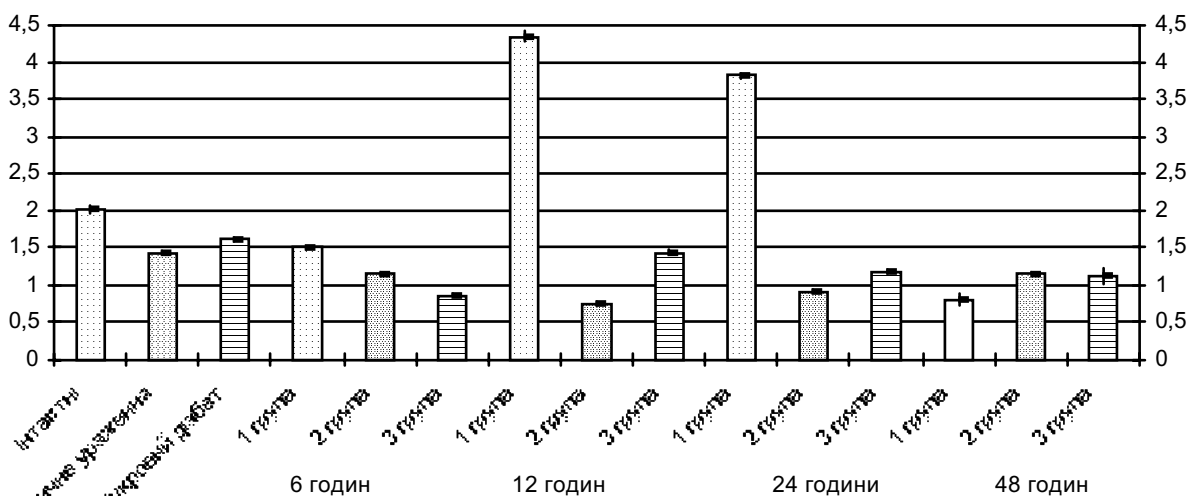


Рис. 2. Динаміка величини окиснювальної модифікації білка (о.о.г/мл) у плазмі експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

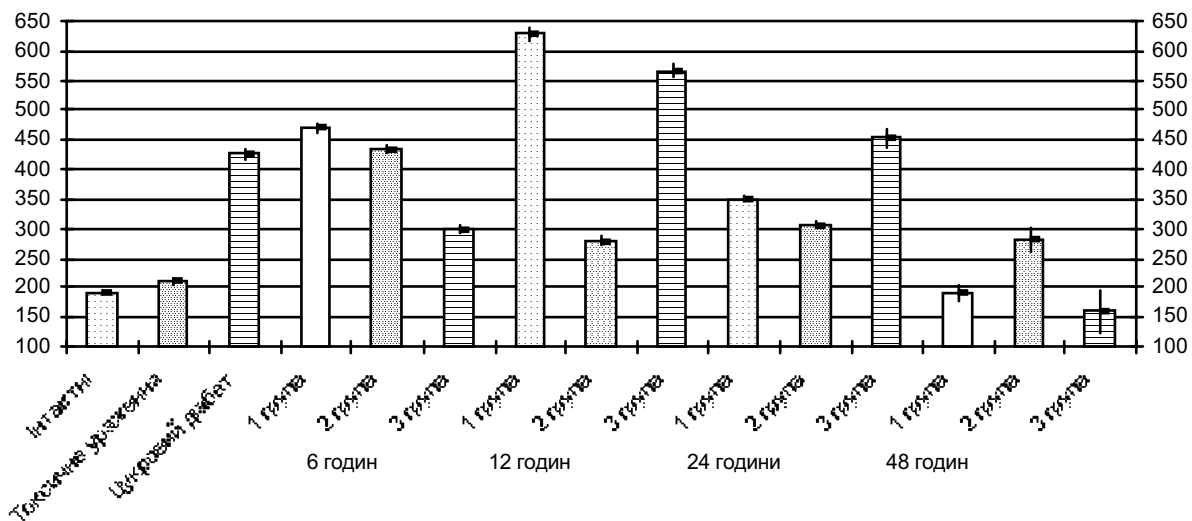


Рис. 3. Динаміка вмісту церулоплазміну (мг/л) у плазмі експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

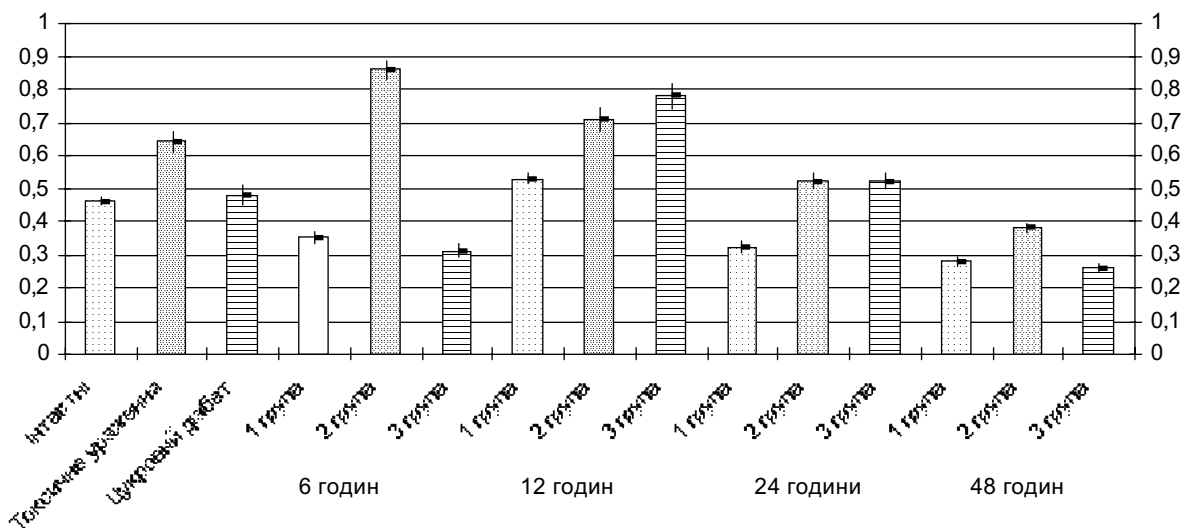


Рис. 4. Динаміка вмісту SH-груп (мкмоль/мл) у плазмі експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

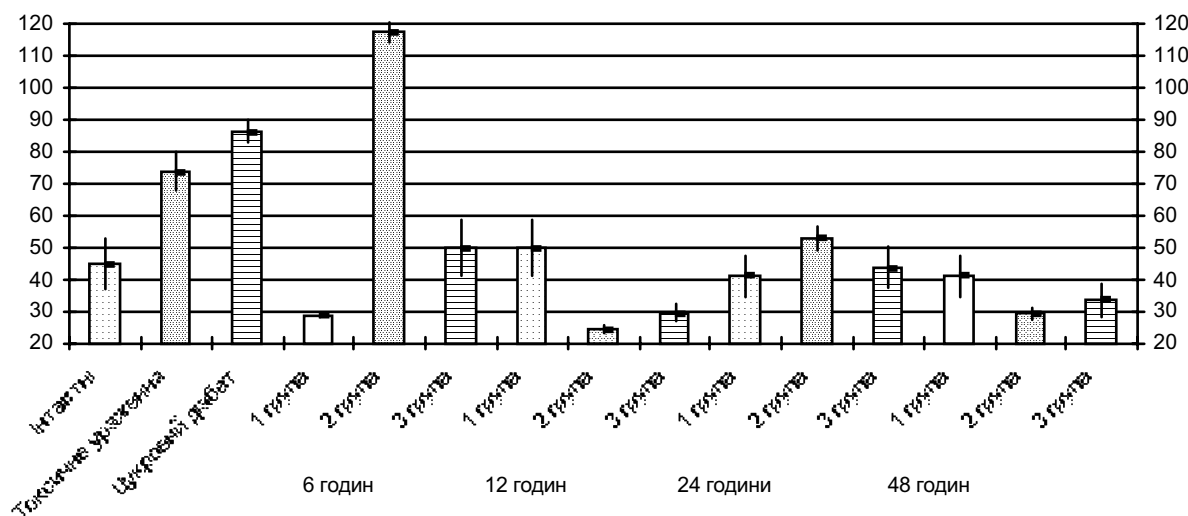


Рис. 5. Динаміка рівня циркулюючих імунних комплексів (од.) у плазмі експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

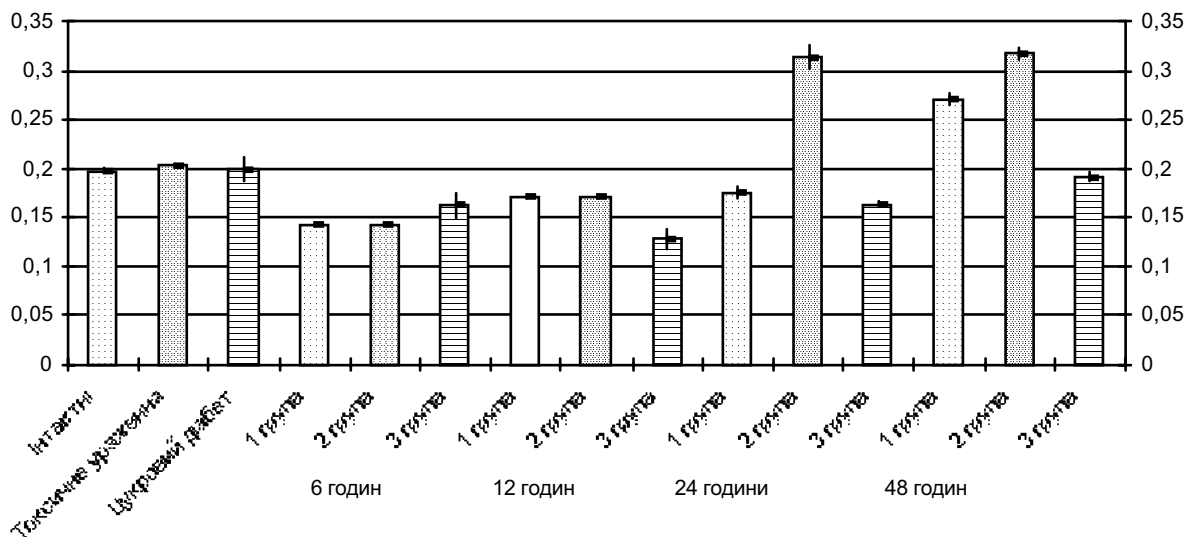


Рис. 6. Динаміка рівня молекул середньої маси (ум.од.) у плазмі експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту.

причиною якої могло бути збільшення кількості аутоантигенів. Зростання вмісту ЦІК стимулює функціональну активність нейтрофільних лейкоцитів, перш за все за рахунок киснево-залежних механізмів [3, 7], наслідком чого є утворення продуктів часткового відновлення кисню, вільних радикалів, гідрооксидів, які могли ініціювати виявлену нами активацію АОС.

Моделювання перитоніту викликало зростання через 6 год вмісту МДА у тварин 1-ї та 2-ї груп, що свідчить про активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Це супроводжувалось закономірним підвищенням рівня ЦП, а у 2-й групі – й SH-груп. В останній групі відмічено також різке збільшення кількості ЦІК, що могло бути причиною додаткової активації неферментних відновлювальних механізмів. Зростання активності АОС призводило до суттєвого зниження ОМБ. Однак найвищі значення показника зберігались у 1-й групі.

Деякі інші закономірності спостерігались у цей період у щурів із ЦД. Параметри всіх означених показників вірогідно зменшувались. Однак вміст ЦП, хоча й був найнижчим, продовжував суттєво переважати такий у інтактних тварин.

Характерно, що в цей же період у плазмі крові тварин усіх дослідних груп зменшувався вміст МСМ (рис. 6). Однією з причин цього може бути активація відновних реакцій, одним із біологічних ефектів яких є трансформація та знешкодження токсинів [8, 9]. Разом із тим, звертає на себе увагу те, що параметри показника вірогідно переважали у 3-й групі.

Через 12 год з моменту виникнення перитоніту в усіх піддослідних тварин відмічено прогресуюче вірогідне зростання в еритро-

цитах вмісту МДА, параметри якого послідовно збільшувались від 3-ї до 1-ї групи. Рівень ОМБ підвищувався в 3-й та, особливо виражено, 1-й групах, що є проявом наростаючої активності окиснювальних реакцій. У цих же групах відмічено паралельну активацію АОС, про що свідчило значне збільшення в плазмі крові вмісту ЦП та SH-груп.

У тварин 2-ї групи мало місце стрімке зниження параметрів критеріїв стану АОС, що можна розцінити як початкові прояви неспроможності відновної системи. Разом із тим, рівень ОМБ у цій групі продовжував зменшуватись, що вказує на прогресуючі порушення метаболізму. Звертає на себе увагу також найнижчий вміст ЦІК. Можливо, причиною цього були структурні зміни імуноглобулінів внаслідок порушення їх окиснювальної трансформації та втрата ними біологічної активності.

Майже всі означені показники вірогідно переважали у 1-й групі. Причиною цього могла бути стимуляція функціональної активності гранулоцитів у відповідь на різке зростання вмісту ЦІК та пов'язаний з цим "кисневий вибух" [3].

У цей же період у перших двох групах спостерігалось вірогідне підвищення рівня МСМ, яке вказує на зростання токсичності плазми. Зменшення параметрів у 3-й групі можна розцінити як прояв інверсії реактивності відновлювальної системи, основною точкою прикладання якої була трансформація токсичних речовин. Підтвердженням цього є показники МДА, параметри якого у таких тварин зросли найбільше – в 1,5 раза.

Через 24 год рівень МДА у 2-й та 3-й групах продовжував прогресивно зростати, а у 1-й

групі, хоча дещо зменшувався, проте залишався на високому рівні. Величина ОМБ у 2-й групі помірно збільшувалась, хоча показники залишались меншими за вихідні, а у решти – знижувалася. Це вказує на стійку активацію ПОЛ, яка наростала у тварин із поєднаною патологією (ПП). Зміни у них рівня ОМБ свідчать про тривалі порушення білкового метаболізму.

Звертає на себе увагу те, що вміст ЦІК у плазмі крові тварин 1-ї групи також зменшувався, а у решти – зростав, що могло бути однією з причин деякого зниження активності процесів ПОЛ при перитоніті та зростання при ПП.

Поряд із цим, вміст відновних факторів різко знижувався, за винятком ЦП у 3-й групі, параметри якого, проте, були найменшими, що може свідчити про прогресуючу недостатність АОС у тварин з токсичним ураженням печінки та нирок і початкові прояви такої недостатності у 1-й та 3-й групах, на що вказують співвідношення критеріїв редокс-системи. Вміст МДА та рівень ОМБ зменшувались незначно, кількість ЦП знизилась майже вдвічі, а SH-груп – втричі.

Такі процеси супроводжувались суттєвим підвищенням токсичності плазми. Вміст МСМ суттєво зростав, більш виражено в 3-й та, особливо, 2-й групах піддослідних тварин.

Через 48 год відмічено різке зниження вмісту ЦП і SH-груп у 1-й та 3-й групах, що свідчить про наростаючу неспроможність АОС. У 2-й групі кількість ЦП зменшилась незначно, а SH-груп – навіть дещо зросла. Проте слід зауважити, що більшість тварин цієї групи загинула ще до 48 год, що не дозволило зробити вірогідні порівняння. Разом із тим, досить високий рівень параметрів відновної системи у щурів, які вижили, свідчить про значну роль останньої у процесах розвитку перитоніту.

Кількість МДА в еритроцитах у цей період зменшилась у 1-й та 2-й групах, а у 3-й – практично не змінилась. Однак параметри показників у всіх випадках перевищували вихідні.

Рівень ОМБ плазми крові у 1-й групі піддослідних тварин різко знизився, причому значення параметрів були майже вдвічі меншими за вихідні. В інших групах показники залишались майже незмінними.

Однією з причин зниження активності окисних процесів могло бути пригнічення функціональної здатності неспецифічного захисту, характерне для перитоніту [3, 7]. Окрім

того, у всіх групах мав місце невисокий вміст ЦІК, що знижував стимуляцію нейтрофільних лейкоцитів. Додатковим фактором, який призводив до зменшення вмісту продуктів ПОЛ та рівня ОМБ, могла бути взаємна анігіляція вільних радикалів внаслідок попереднього критичного зростання їх кількості [1, 9].

Вміст МСМ у 1-й та 3-й групах продовжував збільшуватись, а у 2-й – залишався на високому рівні.

Слід зазначити, що параметри всіх означених показників у групах псевдооперованих тварин, а також у таких, яким підшкірно вводили дистильовану воду протягом всього періоду спостереження, вірогідно не змінювались і практично не відрізнялись від вихідних.

Проведений аналіз дозволяє зробити висновки, що розвиток у тварин ЦД та токсичного ураження печінки і нирок спричиняє надмірну активацію АОС, зміни ОМБ, що призводить до порушення структури білків. Розвиток запального процесу в очеревинній порожнині супроводжується прогресуючою активацією окисних реакцій. При цьому в щурів із перитонітом активується АОС, а у тварин із ПП спостерігається інверсія реакцій редокс-системи, яка швидко, вже через 12 год, переростає у недостатність антиоксидантного захисту, початкові прояви якого у тварин без супровідної патології відмічено лише через 24 год. Такі процеси супроводжуються зростанням токсичності плазми крові. Незважаючи на відмінності між ЦД та ураженням печінки і нирок, механізми розвитку перитоніту при поєднаній патології мають характерні закономірності.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток запального процесу в очеревинній порожнині спричиняє різке зростання активності реакцій окиснення, що призводить до виснаження та недостатності антиоксидантних систем.

2. Порушення рівноваги у редокс-системі при цукровому діабеті та ураженні печінки і нирок зумовлює хронічну активацію ферментів антиоксидантної системи, зміни окиснювальної модифікації білка, що може бути однією з причин метаболічних порушень.

3. Поєднання перитоніту з цукровим діабетом та ураженням печінки і нирок спотворює окисно-відновні процеси та швидко викликає недостатність антиоксидантних систем.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при пато-

логии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – Ч. 1. – 202 с.

2. Баранов В.Г., Соколова И.М., Гаспарян Э.Г. и др. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии. – Л.: Наука, 1983. – 240 с.
3. Гаин Ю.М., Леонович С.И., Завада Н.В. и др. Иммунный статус при перитоните и пути его патогенетической коррекции. – Мн: ООО "Юнипресс", 2001. – 256 с.
4. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатионової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настійки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біології і медицини. – 1998. – № 7. – С. 10-15.
5. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992. – **64**, № 2. – С. 3-15.
6. Кришталь Н.В., Кухарчук А.Л., Роговой Ю.Е. Патогенетическая роль перекисного окисления липидов в развитии эндотоксической нефропатии // Доклады АН Украины. – 1994. – № 3. – С. 161-163.
7. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск: Наука, 1983. – 254 с.
8. Мещишен І.Ф. Глутатионова система організму за умов норми та патології. – Чернівці, 1999. – 26 с.
9. Мещишен І.Ф., Пішак В.П. Обмін речовин у людини. – Чернівці: Медінститут, 1995. – 193 с.
10. Пат. 31164А, Україна, МКИ А61В10/00, АК31/515. Спосіб моделювання гострої ниркової недостатності / О.С. Федорук. – Опубл. 16.04.2001. – Бюл. № 3. – 2 с.
11. Пат. 4766, Україна, МКИ А61В17/00, А61М27/00. Спосіб моделювання гострого перитоніту / Ф.В. Гринчук, І.Ю. Полянський – Опубл. 15.02.2005. – Бюл. № 2. – 3 с.
12. Полянський І.Ю., Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Оксидантно-антиоксидантний стан крові та печінки за умов експериментального перитоніту // Шпитальна хірургія. – 1999. – № 2. – С. 101-105.
13. Христин Т.М. Хронічний панкреатит у геріатричних хворих: особливості стану пероксидації ліпідів та антиоксидантної системи // Мед. хімія. – 2002. – **4**, № 1. – С. 80-82.

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПЕРИТОНИТА И ЕГО РАЗВИТИЯ НА ФОНЕ СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИИ

Ф.В. Гринчук

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В работе представлены результаты исследования соотношения активностей окислительной и восстановительной систем крови крыс в условиях острого перитонита. Установлено, что сочетание последнего с сахарным диабетом и поражением печени и почек имеет характерные закономерности – извращение окислительно-восстановительных процессов и быстрое развитие недостаточности антиоксидантных систем.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перитонит, сочетанная патология, окислительно-восстановительная система.

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDEXES OF REDOX SYSTEM IN RAT BLOOD AT PERITONITIS AND ITS DEVELOPMENT ON BACKGROUND OF ASSOCIATED PATHOLOGY

F.V. Hrynychuk

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The results of research of correlation of redox system activity in rat blood at acute peritonitis has been presented in the article. It has been stated that association of the acute peritonitis with diabetes mellitus and pathology of liver and kidneys has specific characteristics – distortion of redox processes and rapid development of the antioxidant systems insufficiency.

KEY WORDS: peritonitis, associated pathology, redox system.

Адреса для листування: Ф.В. Гринчук, вул. Українська, 2, кв. 4, Чернівці, 58001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ПЛОДІВ ТА ЕКСТРАКТІВ ВИДІВ ГЛОДУ

Н.В. Сидора, А.М. Ковальова
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Визначено кількісний вміст макро- і мікроелементів плодів та екстрактів п'яти видів глоду: *Crataegus canadensis* Sarg., *C.arnoldiana* Sarg., *C.submollis* Sarg., *C.mollis* Sarg. та *C.pseudokyrstostyla* Klok. У досліджуваних зразках ідентифіковано 6 макро- та 10 мікроелементів. Установлено, що в плодах та екстрактах найбільше накопичуються (мг/100 г) К, Са, Mg, Р, Cu, Mn, Al та Si.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глід, плоди, екстракти, макро- і мікроелементи.

ВСТУП. За результатами фітохімічного дослідження вегетативних та генеративних органів нефармакопейних українських видів глоду, проведеного нами раніше, в сировині було визначено різні групи біологічно активних речовин (БАР). Більш детально нами вивчалися флавоноїди та гідроксикоричні кислоти [3]. Представники північноамериканської групи культивуються на території України майже два століття, добре призвичаїлись та подекуди здичавіли, тому можуть бути потенційним джерелом сировини з різноманітним вмістом БАР [9, 10]. Методом спектрофотометрії в плодах цих видів визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, який відповідає вимогам аналітично-нормативної документації: як Державній фармакопеї 11 видання (ДФ XI), так і Європейській фармакопеї (ЄФ) [1, 8]. Відомо, що мінеральні речовини впливають на обмінні процеси організму, а їх недостатність призводить до виникнення різних захворювань та патологій. Макро- та мікроелементи містяться в рослинах в органічно зв'язаній, найбільш доступній формі [4]. У плодах багатьох рослин збалансованість та кількісний вміст мінеральних речовин унікальний. Хімічні елементи входять до складу клітин тканин, органів та крові [1]. Мінерали разом з водою забезпечують постійність осмотичного тиску, кислотно-лужного балансу [5, 6]. З їх участю відбуваються процеси всмоктування, кровотворення, секреції, виведення з організму шлаків, скорочення м'язів, внутрішньоклітинне дихання. Мікроелементи діють в організмі шляхом

© Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, 2007.

включення їх у незначній кількості в структуру біологічно активних речовин, переважно ферментів. У комплексі макро- та мікроелементи позитивно впливають на роботу серцево-судинної системи: регулюють водно-сольовий баланс та кров'яний тиск (Na), що необхідно при лікуванні гіпертонічної хвороби, перешкоджають проникненню ліпідів у плазму крові, а також відкладенню їх на судинних стінках, що запобігає виникненню атеросклерозу; беруть участь у регуляції водно-електролітного обміну та осмотичного тиску (К); нормалізують обмін вуглеводів та води (Са); беруть участь у формуванні сполучної та епітеліальної тканин (Al), забезпечують їх пружність та еластичність (Si, Cu); входять до складу ферментних систем організму (Mg, Mn); попереджують виникнення анемії (Fe, Co). Велику увагу приділяють мікроелементам Cu та Mn (для профілактики і лікування серцево-судинних захворювань), які запобігають ураженню судин та серцевого м'яза [5,7].

Доцільно було вивчити елементний склад плодів та екстрактів досліджуваних видів глоду.

Метою нашої роботи стало визначення мінерального складу плодів та екстрактів нефармакопейних видів глоду флори України.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були плоди п'яти видів глоду (глоду канадського *Crataegus canadensis* Sarg., г. арнольда *C.arnoldiana* Sarg., г. м'якуватого *C.submollis* Sarg., г. м'якого *C.mollis* Sarg. та г. несправжньо-кривостовпчикового *C.pseudokyrstostyla* Klok.) та екстракти з них (екстрагент –

70° спирт етиловий) із сухим залишком 16-19 %, які отримано нами у лабораторних умовах. Наразі проводять біологічні дослідження отриманих екстрактів з глоду.

Якісний склад та кількісний вміст елементів вивчали з використанням методу атомно-емісійної спектроскопії [2]. Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с. Як джерело збудження спектрів було використано ІВС-28. Спектри реєстрували на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і тринізною системою освітлення щілини. Фотометрували лінії спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм у пробах порівняно із стандартними зразками суміші мінеральних елементів за допомогою мікрофотометра МФ-4.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У досліджуваних зразках визначено вміст 6 макро- (K, Si, Na, Ca, P, Mg) та 10 мікроелементів (Fe, Mn, Al, Pb, Sr, Zn, Ni, Mo, Cu, Cr). Крім того, в плодах та екстрактах глоду відсутні або перебувають за межами можливостей виявлення методом емісійної спектроскопії кобальт (<0,03), кадмій (<0,01), арсен (<0,01) та сурма (<0,01). Результати елементного аналізу плодів глоду наведено у таблиці 1.

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, плоди найбільше накопичують (мг/100 г) макроелементи: калій (950-1330), кальцій (260-390), магній (110-150), фосфор (40-80), крем-

ній (60-120) та мікроелементи: мідь (1-2), марганець (5-13), алюміній (6-130), залізо (9-85). Найбільший вміст (мг/100 г) калію (1330), кальцію (390), магнію (170), міді (0,50), алюмінію (130) та марганцю (13) характерний для плодів г. несправжньо-кривостовпчикового, натрію (90) – для г. канадського, заліза – для г. м'якуватого (85) та г. м'якого (80).

Результати елементного аналізу екстрактів плодів глоду наведено у таблиці 2.

Дані таблиці 2 свідчать про те, що до екстрактів переважно переходять макроелементи, причому кількісний відсотковий вміст деяких зростає в декілька разів (мг/100 г): калій (3330-5350), натрій (360-950), кальцій (6220-1270), магній (520-710), фосфор (150-280), кремній (190-630). Мікроелементи алюміній (1,2), стронцій (0,2), мідь (0,7-1), переходять до екстрактів у меншій або однаковій відсотковій кількості від вмісту в плодах; кількісний вміст інших мікроелементів збільшується.

Найбільший вміст калію (5350), кальцію (1270), фосфору (310), натрію (950), магнію (710), кремнію (630) відмічено в екстрактах г. канадського; алюмінію (35) та заліза (60) – г. м'якуватого; марганцю (60) – г. несправжньо-кривостовпчикового.

ВИСНОВКИ. 1. Визначено елементний склад плодів та екстрактів п'яти видів глоду: *C.pseudokyrstostyla*, *C.canadensis*, *C.arnoldiana*, *C.submollis*, *C.mollis*. У досліджуваних об'єктах ідентифіковано макро- (K, Si, Na, Ca, P, Mg) та

Таблиця 1 – Макро- та мікроелементний склад плодів глоду

| Елемент | Вид глоду | | | | |
|-------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| | <i>C.pseudokyrstostyla</i> | <i>C.canadensis</i> | <i>C.arnoldiana</i> | <i>C.submollis</i> | <i>C.mollis</i> |
| Макроелементи, мг/100 г | | | | | |
| Калій (K) | 1330 | 990 | 1090 | 960 | 950 |
| Натрій (Na) | 85 | 90 | 60 | 60 | 55 |
| Кальцій (Ca) | 390 | 260 | 280 | 290 | 290 |
| Фосфор (P) | 80 | 50 | 55 | 50 | 40 |
| Магній (Mg) | 150 | 110 | 130 | 115 | 110 |
| Кремній (Si) | 120 | 60 | 85 | 80 | 70 |
| Мікроелементи, мг/100 г | | | | | |
| Залізо (Fe) | 22 | 9 | 26 | 85 | 80 |
| Марганець (Mn) | 13 | 6 | 7 | 6 | 5 |
| Алюміній (Al) | 130 | 6 | 60 | 30 | 20 |
| Свинець (Pb) | 0,04 | <0,03 | 0,03 | <0,03 | <0,03 |
| Стронцій (Sr) | 0,4 | 0,9 | 0,6 | 0,9 | 0,7 |
| Цинк (Zn) | 0,9 | 0,3 | 0,3 | 0,6 | 0,5 |
| Нікель (Ni) | 0,30 | 0,15 | 0,20 | 0,10 | 0,09 |
| Молібден (Mo) | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| Мідь (Cu) | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| Хром (Cr) | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Таблиця 2 – Макро- та мікроелементний склад екстрактів плодів глоду

| Елемент | Вид глоду | | | | |
|-------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| | <i>C.pseudokyrstostyla</i> | <i>C.canadensis</i> | <i>C.arnoldiana</i> | <i>C.submollis</i> | <i>C.mollis</i> |
| Макроелементи, мг/100 г | | | | | |
| Калій (K) | 3500 | 5350 | 3350 | 3570 | 3330 |
| Натрій (Na) | 930 | 950 | 600 | 360 | 600 |
| Кальцій (Ca) | 620 | 1270 | 890 | 710 | 620 |
| Фосфор (P) | 280 | 310 | 240 | 180 | 150 |
| Магній (Mg) | 700 | 710 | 520 | 530 | 520 |
| Кремній (Si) | 190 | 630 | 240 | 480 | 280 |
| Мікроелементи, мг/100 г | | | | | |
| Залізо (Fe) | 19 | 24 | 15 | 60 | 30 |
| Марганець (Mn) | 60 | 2,5 | 3 | 5 | 2 |
| Алюміній (Al) | 1,2 | 1,4 | 0,6 | 35 | 30 |
| Свинець (Pb) | 0,2 | <0,3 | <0,3 | 0,1 | 0,1 |
| Стронцій (Sr) | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,12 | 1 |
| Цинк (Zn) | 7 | 2 | 6 | 6 | 9 |
| Нікель (Ni) | 1 | 0,5 | 1 | 0,60 | 0,80 |
| Молібден (Mo) | 1 | 2 | 0,2 | 0,2 | 0,5 |
| Мідь (Cu) | 0,7 | 0,9 | 0,7 | 0,8 | 1 |
| Хром (Cr) | 19 | 24 | 15 | 60 | 30 |

мікроелементи (Fe, Mn, Al, Pb, Sr, Zn, Ni, Mo, Cu, Cr).

2. Встановлено, що в плодах та екстрактах найбільше накопичуються калій, кальцій, магній, фосфор, мідь, марганець, алюміній та кремній.

3. Найбільший вміст калію, кальцію, магнію, міді, алюмінію та марганцю характерний для плодів г. несправжньо-кривостовпчикового.

4. В екстрактах г. канадського найбільший вміст калію, кальцію, фосфору, натрію, магнію, кремнію; г. м'якуватого – алюмінію.

5. Високий вміст та здатність до накопичення мікроелементів, що позитивно впливають на серцево-судинну систему в силовині, дозволяють вважати глід перспективним джерелом біологічно активних елементів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа /МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
2. Ковалева А.М., Сидора Н.В., Ковалев С.В. и др. Элементный состав плодов и экстрактов нефармакопейных видов боярышников // Материалы X Международного съезда "Фитофарм-2006". – С.Пб., 27-30 июня 2006. – С. 176-179.
3. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В. та ін. Фармакогностичне дослідження деяких північноамериканських видів *Crataegus* L. // Вісник фармації. – 2005. – № 2. – С. 16-20.
4. Ноздрюхина Л.Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М., 1977. – 150 с.
5. Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я., Павленко Н.В. Химия биогенных элементов. – К.: Выща школа, 1990. – 270 с.
6. Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D. // Herbal Medicines. – 2002. – № 3. – P. 284-287.
7. Blesken R. *Crataegus* in cardiology // Fortschrittung medizin. – 1992. – P. 290-292.
8. European Pharmacopea, supplement 2001. Strasbourg: Council of Europe. – 2000. – P. 930-931.
9. Bohm B.A. Introduction to flavonoids // Harwood academic publishers. – 1998. – P. 194-204.
10. Who monographs on selected medicinal plants. – World Health Organization. – Geneva, 2002. – 2.

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПЛОДОВ И ЭКСТРАКТОВ ВИДОВ БОЯРЫШНИКА

Н.В. Сидора, А.М. Ковалева
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Определено количественное содержание микро- и макроэлементов плодов и экстрактов пяти видов боярышника: *Crataegus canadensis* Sarg., *C. arnoldiana* Sarg., *C. submollis*, *C. mollis* Sarg. и *C. pseudokyrstostyla* Klok. В исследуемых образцах идентифицировано 6 макро- и 10 микроэлементов. Установлено, что в плодах и экстрактах наиболее накапливаются (мг/100 г) K, Ca, Mg, P, Cu, Mn, Al и Si.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: боярышник, плоды, экстракты, макро- и микроэлементы.

INVESTIGATION OF ELEMENT COMPOSITION OF FRUIT AND EXTRACTS OF HAWTHORN SPECIES

N.V. Sydora, A.M. Kovalyova
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

It was studied quantitative content of micro- and macroelements in fruit and extracts of five species of hawthorn: *Crataegus canadensis* Sarg., *C. arnoldiana* Sarg., *C. submollis*, *C. mollis* Sarg. and *C. pseudokyrstostyla* Klok. It was established, that in fruit and extracts are mainly accumulated (mg/100 g) K, Ca, Mg, P, Cu, Mn, Al and Si.

KEY WORDS: hawthorn, fruit, extracts, micro- and macroelements.

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

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

ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СТАТУСУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРУЄННЯ НА ФОНІ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

І.Р. Бекус, І.М. Кліщ, І.Я. Криницька

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджено вплив роздільного і поєданого введення етанолу та солей кадмію і свинцю на ліпідний статус печінки щурів. Визначали рівень малонового діальдегіду за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, вміст загальних ліпідів – за набором "Лахема", фосфоліпідів – за утворенням гідрофобного комплексу з феротіоціанатом амонію у плазмі крові й гомогенаті печінки. Встановлено, що вплив токсинів призводить до активації процесів ліпопероксидації у крові й печінці та порушення співвідношення різних форм ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, етанол, важкі метали.

ВСТУП. У зв'язку з техногенним забрудненням довкілля, широким використанням хімічних сполук у сільському господарстві, промисловості, ураження печінки на сьогодні є однією з поширених патологій. До ксенобіотиків, з якими найчастіше доводиться контактувати людині, належать свинець та кадмій [12].

Так, свинець привертає увагу дослідників як пріоритетний забруднювач навколишнього середовища. В Україні щорічно в ґрунт разом із пестицидами і мінеральними добривами вноситься 1800 т свинцю, а в міських стічних водах за останні роки у 10,8 раза зросла його кількість [6].

Отруєння кадмієм, як і свинцем, в основному пов'язані з промисловими забрудненнями; накопичення кадмієвмісних предметів (батареї, сплави, фарби) забруднюють воду й повітря. Дим цигарок – ще одне джерело отруєння кадмієм [9]. Для людей, які не мають виробничого контакту з кадмієм і свинцем, основним джерелом їх надходження в організм є харчові продукти і питна вода.

З усіх металів періодичної системи хімічних елементів кадмій визнано одним з найшкідливіших [7]. Механізм токсичної дії кадмію зумовлений його здатністю легко зв'язуватися з меркаптогрупами, фосфоліпідами, роз'єднанням тканинного дихання та окисного фосфорилування. Органами-мішенями для нього є нирки, печінка, статеві залози, трубчасті кістки,

© І.Р. Бекус, І. М. Кліщ, І.Я. Криницька, 2007.

селезінка, еритроцити, він проявляє канцерогенні властивості, має здатність акумулюватися у тканинах [7].

Не менш небезпечним, через негативний вплив на організм, є свинець. Проте організми у нього інші: нервова система, кровотворні органи [3].

Серед чинників, які найчастіше викликають гострі отруєння у людей, є етиловий спирт. Механізми токсичного впливу алкоголю на печінку різноманітні, однак серед основних патогенетичних ланок вирізняють вплив на ліпідний обмін, зокрема підвищення активності процесів перекисного окиснення ліпідів [8].

Несприятливі фактори хімічної природи суттєво впливають на різні ланки метаболізму. Під впливом ксенобіотиків активуються процеси вільнорадикального окиснення, які спряжені з пригніченням систем антиоксидантного та імунного захисту [5, 11].

У літературі є значна кількість досліджень, що стосуються механізмів токсичної дії солей кадмію, свинцю та етанолу. Однак робіт, в яких було б досліджено комбінований вплив цих трьох токсикантів на ліпідний статус організму ми не зустрічали, хоча такі комбінації іноді трапляються [3]. Зважаючи на наведені вище факти, ми поставили собі за мету дослідити зміни ліпідного статусу печінки за умов комбінованої дії солей кадмію, свинцю та етанолу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях

масою 170-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У роботі використовували солі важких металів – свинцю ацетат у дозі 11 мг/кг, кадмію хлорид у дозі 3,3 мг/кг маси тіла, що становить, відповідно, 0,05 LD₅₀ [2], які вводили внутрішньошлунково щоденно протягом 30 діб. Після останнього введення (на 31 день) тваринам одноразово внутрішньочеревно вводили етанол у дозі 12,5 мл/кг маси у вигляді 40 % розчину [13]. Піддослідних тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні, 2-га – уражені етанолом, 3-тя – уражені етанолом на фоні хронічної інтоксикації солями кадмію та свинцю. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом на 3-тю, 5-ту і 7-му доби після введення етанолу. Як контроль використовували інтактних статевозрілих тварин. Досліджували плазму крові й гомогенат печінки.

Рівень малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові й гомогенаті печінки визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [1], вміст загальних ліпідів – за допомогою набору "Лахема", фосфоліпідів – за утворенням гідрофобного комплексу з феротіоціанатом амонію [10], білка – біуретовим методом [4]. Вираховували також співвідношення ліпід/білок. Отримані цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати, наведені в таблиці 1, гостра інтоксикація етанолом спричинила достовірне підвищення концентрації загальних ліпідів у печінці. Так, на 3-тю добу цей показник зріс на 10,9 %, 5-ту – на 21,8 %, а до 7-ї доби вміст загальних ліпідів нормалізувався. Важливим показником, який характеризує вираження стеатозу, є співвідношення ліпід/білок. З наведених даних видно, що це співвідношення достовірно зростало у досліджувані нами терміни з максимумом на 5-ту добу. Поряд із збільшенням вмісту загальних ліпідів нами зафіксовано також підвищення рівня фосфоліпідів, яке, однак, не було вірогідним. Проте коефіцієнт співвідношення фосфоліпід/загальні ліпіди достовірно знижувався, що вказує на переважне зростання вмісту загальних ліпідів у нашому експерименті. 30-ти денна інтоксикація кадмію хлоридом і свинцю ацетатом призводила до суттєвого порушення досліджуваних форм ліпідів. Так, на 3-тю, 5-ту доби після введення отрут вміст загальних ліпідів у статевозрілих тварин достовірно зростав, а на 7-му добу відбувалось значне його зниження. На 5-ту добу експерименту підвищення вмісту загальних ліпідів і фосфоліпідів було ще більш вираженим у всіх тварин, на відміну від концентрації МДА. На 7-му добу спостерігалось зниження вмісту

Таблиця 1 – Вплив етанолу та солей важких металів на показники ліпідів у печінці щурів (M±m)

| Показник | Біологічна рідина | Групи тварин | | | | | | |
|--|-------------------|---------------|------------------|--------------|-------------|---|--------------|---------------|
| | | Інтактні, n=8 | Уражені етанолом | | | Уражені етанолом на фоні хронічної інтоксикації кадмію хлоридом і свинцю ацетатом | | |
| | | | 3 доба, n=6 | 5 доба, n=6 | 7 доба, n=6 | 3 доба, n=6 | 5 доба, n=6 | 7 доба, n=6 |
| Загальні ліпіди, мг/г тканини | гомогенат | 64,26±0,14 | 76,37±0,07* | 80,36±,06* | 74,33±0,05* | 78,45±0,17** | 85,13±0,44** | 65,42±0,31** |
| Білок, мг/г тканини | гомогенат | 155,9±7,6 | 120,0±12,0* | 117,1±10,3* | 134,8±6,2* | 111,3±6,1** | 103,5±5,3 | 118,4±7,6** |
| Співвідношення ліпід/білок | гомогенат | 0,47±0,04 | 0,63±0,05* | 0,68±0,05* | 0,55±0,06 | 0,70±0,06** | 0,82±0,07 | 0,55±0,04** |
| Фосфоліпіди, мг/г тканини | гомогенат | 47,82±0,75 | 52,27±0,06 | 53,30±0,04 | 49,38±0,04 | 51,58±0,25** | 55,13±0,91** | 35,98±0,94 |
| Співвідношення фосфоліпід/загальні ліпіди, % | гомогенат | 74,4±2,8 | 68,4±1,3* | 66,3±1,1* | 66,4±1,6* | 65,7±1,4** | 64,7±1,6** | 60,0±1,1** |
| МДА, нмоль/г тканини | гомогенат | 3,390±0,005 | 4,229±0,012* | 4,543±0,012* | 3,57±0,024* | 4,65±0,010** | 4,76±0,005** | 4,055±0,007** |

Примітка. * – різниця достовірна відносно інтактних тварин; ** – різниця достовірна відносно тварин, уражених етанолом.

загальних ліпідів і фосфоліпідів у статевозрілих тварин.

Введення етанолу на тлі хронічної інтоксикації кадмію хлоридом і свинцю ацетатом зумовило більш виражену активацію процесів ліпопероксидації у плазмі крові й печінці уражених тварин порівняно з їх роздільним введенням. При цьому максимальну інтенсивність вільнорадикальних реакцій зареєстровано на 3-тю і 5-ту доби після введення токсину. В ці періоди дослідження спостерігався найвищий рівень МДА в плазмі крові й печінці уражених тварин.

Отже, отруєння кадмію хлоридом, свинцю ацетатом і етанолом призводить до активації процесів ліпопероксидації в печінці й крові експериментальних тварин. Прояви токсичності ми спостерігаємо протягом усього експерименту. Очевидно, прооксидний ефект цих

важких металів зумовлений їх здатністю блокувати SH-групи білків, у тому числі ферментів-антиоксидантів, а також відновленого глутатіону та інших антиоксидантних сполук, що призводить до функціональної недостатності системи антиоксидантного захисту організму [1].

ВИСНОВКИ. 1. Хронічна інтоксикація свинцю ацетатом та кадмію хлоридом супроводжується порушенням ліпідного статусу організму, що проявляється значною активацією процесів ліпопероксидації в крові й печінці уражених тварин та порушенням співвідношення різних форм ліпідів.

2. Гостра інтоксикація етанолом на фоні 30-денного введення солей кадмію і свинцю спричиняє більш виражені зміни показників ліпідного обміну, ніж ізольоване введення цих токсикантів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М., 1972. – 252 с.

2. Герасименко Т.И., Домнин С.Г., Рослый О.Ф., Федорук А.А. Оценка комбинированного действия бинарных смесей свинец-медь и свинец-цинк // Медицина труда и промышленная экология. – 2000. – № 8. – С. 36-39.

3. Гонський Я.І., Головка Л.Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію та свинцю // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 1. – С. 10-13.

4. Гонський Я.І., Саюк Н.П., Рубіна Л.М. Біологічна хімія. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 33-34.

5. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.

6. Дейнека С.Є. Динаміка змін поведінкових реакцій у білих щурів при експериментальній свинцевій інтоксикації // Сучасні проблеми токсикології. – 1999. – № 2. – С. 32-34.

7. Егоров Ю.Л., Кирилов В.Ф. Экологическая значимость и гигиеническая регламентация свинца и кадмия в различных средах (обзор) // Медицина труда и промышленная экология. – 1996. – № 10. – С. 18-25.

8. Мальцев А.Н., Левэ О.И., Садовничий В.В. Антиоксидантные свойства простагландина Е при алкогольном стеатозе печени // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – 64, № 3. – С. 11-14.

9. Михалева Л.М. Патологическая анатомия экспериментальной интоксикации, вызванной хлоридом кадмия: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.0015. – М., 1990. – 31 с.

10. Пентюк А.А., Гуцол В.И., Яковлева О.А. и др. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с ферроцианидом аммония // Лаб. дело. – 1987. – № 6. – С. 457-459.

11. Руденко С.С., Боднар Б.М., Кухарчук О.Л. Вплив селену на функціональний стан нирок білих щурів при алюмінієво-кадмієвій інтоксикації // Укр. біохім. журн. – 1998. – 70, № 5. – С. 16-18.

12. Русакова Н.В., Мухабетова Л.Х., Пиртахия Н.В. Оценка опасности промышленных отходов, содержащих тяжелые металлы // Гиг. и сан. – 1998. – № 4. – С. 27-30.

13. Panchenko L.F., Pirozhkov S.V., Popova S.V., Antonenkov V.D. Effect of chronic ethanol treatment on peroxisomal acyl – CoA oxidase activity and lipid peroxidation in rat liver and heart // Experientia. – 1987. – 43, № 5. – P. 580-581.

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО СТАТУСА ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ И СВИНЦА

И.Р. Бекус, И.М. Клищ, И.Я. Криницкая
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследовано влияние отдельного и сочетанного введения этанола и солей кадмия и свинца на липидный статус печени крыс. Определяли уровень малонового диальдегида за реакцией с тиобарбитуровой кислотой, содержание общих липидов – за набором "Лаксма", фосфолипидов – за образованием гидрофобного комплекса с феротиоцианатом аммония в плазме крови и гомогенате печени. Установлено, что влияние токсинов приводит к активации процессов липопероксидации в крови и печени и нарушению соотношения разных форм липидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **липиды, этанол, тяжелые металлы.**

PECULIARITIES OF LIPID STATE OF THE LIVER UNDER CONDITIONS OF ACUTE ETHANOL POISONING AGAINST A BACKGROUND OF CHRONIC INTOXICATION BY CADMIUM AND LEAD SALTS

I.R. Bekus, I.M. Klishch, I.Ya. Krynytska
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The influence of separate and combined administration of ethanol and salts of heavy metals on the lipid state of the liver in rats has been studied. The level of malonic dialdehyde, content of total lipids and phospholipids has been determined in blood plasma and liver homogenate. It was determined, that influence of toxins activates peroxidation of the lipids in blood plasma and liver homogenate. The intensity of lipid peroxidation increases in rats with combined chronic poisoning by cadmium and lead salts.

KEY WORDS: **lipids, ethanol, heavy metals.**

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

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

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПАТОГЕНЕЗІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ ТА МОЖЛИВОСТІ ЙОГО КОРЕКЦІЇ ЛІПОФЛАВОНОМ

Г.В. Белік, Т.О. Куценко, Ю.В. Столетов, Н.І. Прокопішак
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Відомо, що в терапії атеросклерозу патогенетично обґрунтованим є застосування антиоксидантів, зокрема кверцетину. В даній статті наведено результати експериментального вивчення антисклеротичної дії нового кверцетинвмісного ліпосомального препарату – ліпофлавоноу. Досліджено його гіполіпідемічні, антицитолітичні, антиоксидантні властивості на моделі експериментальної гіперліпідемії у кролів. Встановлено, що ліпофлавонон чинить високу та різнобічну антисклеротичну дію завдяки наявності виражених гіполіпідемічних, антицитолітичних та антиоксидантних властивостей, що робить доцільним його застосування при лікуванні атеросклерозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, ліпофлавонон, атеросклероз, ліпопротеїни низької щільності.

ВСТУП. Думка про те, що вільнорадикальне окиснення ліпідів відіграє важливу роль у патогенезі атеросклерозу, вперше була висловлена у 1952 році J. Glavind та співавторами [17, 18], які продемонстрували, що вміст ліпопероксидів у аорті людини з атеросклеротичними ураженнями вищий, ніж у неушкодженій стінці судини. Результати, одержані в наступні роки, дозволили сформулювати концепцію, що обґрунтовує існування вільнорадикальної ланки у патогенезі атеросклерозу [2, 8]. Важливим чинником атерогенезу може бути збільшення швидкості генерування активних форм кисню в мембранах ендоплазматичного ретикула гепатоцитів при аліментарній гіперхолестеринемії, яке відбувається на тлі різкого зниження активності антиоксидантних ферментів у цитозолі цих клітин [19, 20]. Мембранні ліпоперекиси, що накопичуються внаслідок цього, пригнічують ключовий фермент катаболізму холестерину в печінці – мікросомальну 7α -гідроксилазу, що порушує ферментативну регуляцію катаболізму холестерину за механізмом негативного зворотного зв'язку та призводить до підтримки його стабільно високого рівня в плазмі крові. За цих умов гепатоцити можуть виділяти в кров ліпопротеїни дуже низької щільності, що містять окиснені ліпіди, які в крові за присутності супероксиданіон-радикала та гемового заліза підлягають окисній

деструкції з утворенням ТБК-реактивних. Це, у свою чергу, призводить до накопичення продуктів окиснення в ліпопротеїнах дуже низької щільності, які циркулюють у крові, що викликає окиснення поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) у стінці судин, сприяє порушенню її цілісності та еластичності й, наприкінці, деструкції. Одночасно накопичення окиснених ПНЖК у стінці судин при атерогенезі супроводжується інгібуванням простагліциклінінсинтези і, таким чином, підвищенням небезпеки виникнення тромбозів внаслідок зростання тромбоксан/простагліцинового співвідношення [2, 9]. Усе вищесказане є, на думку багатьох авторів, причиною атеросклеротичного перетворення судинної стінки і подальшого прогресування атеросклерозу. У зв'язку з цим, у комплексній терапії атеросклерозу застосовують препарати різних фармакологічних груп: гіполіпідемічні ангіопротекторні засоби, антикоагулянти, антиоксиданти [3, 9]. Експериментально та клінічно підтверджено ефективність застосування кверцетину в комплексній терапії атеросклерозу. За даними літератури, кверцетин впливає на процеси атерогенезу: попереджує перекисне окиснення ліпопротеїнів низької щільності, блокує набування ними атерогенних властивостей [12]. Однак при застосуванні пероральних лікарських форм кверцетину (гранули, порошок) необхідно враховувати, що вони володіють низькою біологічною доступністю [11]. Тому

© Г.В. Белік, Т.О. Куценко, Ю.В. Столетов, Н.І. Прокопішак, 2007.

для підвищення ефективності терапії кверцетином на сьогодні створюють нові лікарські форми, що забезпечують кращу біодоступність препарату. Зокрема, перспективним є використання ліпосомальних кверцетинвмісних лікарських форм [14, 15].

У зв'язку з цим, вченими Інституту фармакології та токсикології АМН України (м. Київ) була розроблена нова ін'єкційна ліпосомальна форма кверцетину – ліпофлавонон. До його складу входять кверцетин, лецитин (фосфатидилхолін), лактоза.

Усе вищевикладене стало підставою для вивчення антисклеротичної дії ліпосомальної форми кверцетину (ліпофлавонону) і метою нашої роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди з вивчення гіполіпідемічної активності ліпофлавонону проводили на моделі аліментарної гіперліпідемії, де було використано 15 безпородних кролів-самців масою 2,3-2,5 кг [4]. В експерименті використано саме самців, тому що на самицях експериментальну гіперліпідемію відтворити досить важко, через наявність естрогенів, які самі володіють антиоксидантною і гіполіпідемічною активністю.

Усіх тварин поділили на 3 групи (по 5 кролів у кожній): 1-ша група – інтактний контроль; 2-га – контрольна патологія; 3-тя – тварини, ліковані ліпофлавононом у дозі 94 мг/кг, який вводили щодня 1 раз на добу в лікувальному режимі внутрішньовенно в умовно-терапевтичній дозі за антиоксидантною, протизапальною, кардіопротекторною активністю.

Моделювання гіперліпідемії у кролів проводили шляхом тримісячного введення холестерину в дозі 0,3 г/кг у вигляді олійного розчину внутрішньошлунково через зонд. Реєстрували зміни метаболічних процесів на початку дослідження, через 1,5 місяця від початку застосування холестерину та наприкінці експерименту (через 3 місяці) [4, 5]. Кров для дослідження у кролів брали з крайової вени вуха через 18 год голодування.

Для оцінки стану ліпідного обміну в організмі кролів до початку експерименту та по його закінченні визначали в сироватці крові такі показники: вміст ЗХС (використовували набір ТОВ НВП "Філісіт-Діагностика", м. Дніпропетровськ), ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛПВЩ і ТГ (за допомогою наборів фірми "Lachema", Чехія).

Оскільки при атеросклерозі спостерігаються зміни в АОС клітин з наступною активацією процесів ПОЛ та цитолізу [2, 9], нами було вивчено вплив ліпофлавонону на показники, які характеризували інтенсивність процесів ПОЛ

за рівнем ТБК-реактивності у сироватці крові (за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою за методом І.Д. Стальної та Т.Г. Гаришвілі [13]), яку широко використовують в експериментальній та клінічній лабораторній практиці. Процеси цитолізу визначали за активністю ферменту АсАТ у сироватці крові уніфікованим динітрофенілгідразиним методом, запропонованим S. Reitman та S. Frankel, із застосуванням ферментативних наборів фірми АТ "Реагент" (м. Дніпропетровськ) [1, 6].

Результати експерименту статистично обробляли за критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз експериментальних результатів показав, що вже через 1,5 місяця після початку введення холестерину в групі тварин контрольної патології відмічалась зміна показників ліпідного обміну: збільшення рівня ТГ у 2,6 раза, ЗХС – в 1,6 раза, ЛПНЩ – в 2,7 раза, ЛПДНЩ – в 1,4 раза та зниження рівня ЛПВЩ (антиатерогенного фактора) в 1,5 раза в сироватці крові ($p \leq 0,05$) (табл. 1). Подальше введення тваринам холестерину призвело (через 3 місяці) до достовірного збільшення вмісту не тільки загального холестерину в 3 рази порівняно з інтактним контролем та в 2,5 раза порівняно з вихідним рівнем, але і тригліцеридів – у 1,6 раза порівняно з початковим рівнем. Крім того, спостерігалось підвищення вмісту ЛПНЩ порівняно як з вихідним рівнем, так і з показниками інтактних тварин – у 4,8 та 3,5 раза, а ЛПДНЩ – у середньому в 1,5 раза відповідно. Рівень антиатерогенних ЛПВЩ знизився в 1,4 раза порівняно з вихідним рівнем та відносно інтактного контролю.

На тлі розвитку експериментальної гіперліпідемії спостерігалось підвищення активності АсАТ в 1,2 раза (через 1,5 місяця) та 1,4 раза (через 3 місяці), що свідчило про активацію процесів цитолізу (табл. 2).

Також встановлено, що модельна гіперліпідемія супроводжувалася активацією процесів вільнорадикального окиснення: через 1,5 місяця від початку введення холестерину рівень ТБК-реактивності у сироватці крові, порівняно з таким самим показником в інтактних тварин, зріс в 1,8 раза та 1,5 раза порівняно з вихідним рівнем. Через 3 місяці даний показник у нелікованих тварин, порівняно з вихідним рівнем та інтактним контролем, підвищився в середньому в 2 рази (табл. 3).

При лікуванні ліпофлавононом протягом 1,5 місяця розвитку експериментальної гіперліпідемії відмічалось достовірне зменшення рівня ЗХС в 1,4 раза, а також ЛПНЩ, ЛПДНЩ у се-

Таблиця 1 – Вплив ліпофлаону на показники ліпідного обміну в сироватці крові при експериментальній гіперліпідемії

| Термін спостереження | Показники, ммоль/л | Групи тварин | | |
|----------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | Інтактний контроль (n=5) | Контрольна патологія (n=5) | Ліпофлаон, 94 мг/кг (n=5) |
| Вихідний рівень | ТГ | 0,93±0,01 | 0,93±0,03 | 0,92±0,02 |
| | ЗХС | 1,71±0,01 | 1,93±0,01* | 1,80±0,01** |
| | ХС-ЛПНЩ | 0,82±0,01 | 0,92±0,02* | 0,91±0,01 |
| | ХС-ЛПДНЩ | 0,51±0,01 | 0,50±0,02 | 0,50±0,01 |
| 1,5 місяця | ХС-ЛПВЩ | 0,70±0,02 | 0,61±0,02* | 0,63±0,03 |
| | ТГ | 1,01±0,02 | 1,20±0,04* | 1,03±0,01 |
| | ЗХС | 1,88±0,10 | 2,94±0,11* | 2,10±0,06** |
| | ХС-ЛПНЩ | 0,84±0,11 | 2,26±0,10* | 1,44±0,11** |
| 3 місяці | ХС-ЛПДНЩ | 0,55±0,06 | 0,79±0,06* | 0,56±0,01** |
| | ХС-ЛПВЩ | 0,79±0,04 | 0,54±0,05* | 0,74±0,02** |
| | ТГ | 1,04±0,08 | 1,46±0,11* | 1,08±0,11** |
| | ЗХС | 1,56±0,10 | 4,76±0,10* | 3,16±0,10** |
| | ХС-ЛПНЩ | 0,66±0,09 | 3,20±0,08* | 2,41±0,12** |
| | ХС-ЛПДНЩ | 0,54±0,03 | 0,81±0,10* | 0,71±0,03** |
| | ХС-ЛПВЩ | 0,63±0,02 | 0,46±0,03* | 0,58±0,01** |

Примітки. Тут і в наступній таблиці:

- * – достовірно відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$).
- ** – достовірно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$).
- n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2 – Вплив ліпофлаону на інтенсивність процесів цитолізу (за активністю АсАТ, ммоль/г-л) при експериментальній гіперліпідемії

| Термін спостереження | Групи тварин | | |
|----------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Інтактний контроль (n=5) | Контрольна патологія (n=5) | Ліпофлаон, 94 мг/кг (n=5) |
| Вихідний рівень | 0,96±0,02 | 0,99±0,01 | 0,95±0,01 |
| 1,5 місяця | 0,96±0,06 | 1,21±0,08* | 1,12±0,02 |
| 3 місяці | 0,99±0,04 | 1,42±0,10* | 1,01±0,01** |

Таблиця 3 – Вплив ліпофлаону на інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення (за рівнем ТБК-реактивів, мкмоль/л) при експериментальній гіперліпідемії

| Термін спостереження | Групи тварин | | |
|----------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Інтактний контроль (n=5) | Контрольна патологія (n=5) | Ліпофлаон, 94 мг/кг (n=5) |
| Вихідний рівень | 0,36±0,21 | 0,38±0,11 | 0,39±0,17 |
| 1,5 місяця | 0,31±0,01 | 0,57±0,02* | 0,38±0,07** |
| 3 місяці | 0,34±0,03 | 0,75±0,01* | 0,46±0,02** |

редньому в 1,6 раза порівняно з нелікованими тваринами, і підвищення рівня ЛПВЩ в 1,4 раза ($p \leq 0,05$) на фоні тенденції до зниження рівня ТГ у сироватці крові.

Через 3 місяці досліду застосування ліпофлаону призвело до зниження рівня ЗХС в 1,5 раза; ТГ – в 1,4 раза; ЛПНЩ та ЛПДНЩ – в 1,3 раза і підвищення рівня ЛПВЩ в 1,3 раза в сироватці крові ($p \leq 0,05$). Проводячи аналіз гіполіпідемічної активності ліпофлаону, слід відзначити, що препарат чинив виражену гіполіпідемічну дію, що підтверджувалось достовірними змінами всіх показників ліпідного обміну в сироватці крові на 3-й місяць експериментальної гіперліпідемії (див. табл. 1).

Можна припустити, що високий терапевтичний ефект ліпофлаону реалізується за-

вдяки тому, що лецитин забезпечує цілеспрямоване потрапляння та вивільнення кверцетину в ушкоджений орган [14]. Також, поряд із кверцетином, самі ліпосоми чинять антиоксидантну, гіполіпідемічну, мембранопротекторну, репаративну дію, що необхідно враховувати при лікуванні атеросклерозу [15].

Також слід відмітити, що на тлі розвитку експериментальної гіперліпідемії при застосуванні ліпофлаону спостерігалось достовірне зниження активності АсАТ у середньому в 1,5 раза через 1,5 і 3 місяці досліду, що свідчило про зменшення активності цитолітичних процесів та антицитолітичну активність ліпосомальної форми кверцетину (див. табл. 2).

Крім цього, застосування ліпофлаону призвело до зменшення інтенсивності процесів

вільнорадикального окиснення. Так, на тлі використання ліпосомальної форми кверцетину рівень ТБК-реактивів у сироватці крові тварин з експериментальною гіперліпідемією достовірно зменшився в 1,5 раза через 1,5 місяця та в 1,4 раза через 3 місяці експерименту ($p \leq 0,05$).

ВИСНОВКИ. Проведені дослідження показали, що ліпофлавіон володіє вираженою гіполіпідемічною активністю, що підтверджувалося достовірним зниженням на 3-й місяць експе-

рименту рівня атерогенних і підвищенням рівня антиатерогенних ліпопротеїнів у сироватці крові. Встановлено, що ліпофлавіон за умов експериментальної гіперліпідемії також проявляє виражені антицитолітичну і антиоксидантну дії, про що свідчило достовірне зниження активності АсАТ та рівня ТБК-реактивів у сироватці крові.

Аналіз отриманих експериментальних даних свідчить про досить високу та різнобічну антисклеротичну дію ліпофлавіону, доцільність застосування його в терапії атеросклерозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Методические рекомендации. – С.Пб: ИКФ "Фолиант", 2000. – 104 с.
2. Барсель В.А. Состояние системы перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 1998. – № 5. – С. 18-20.
3. Деримедведь Л.В. Антиоксидантные препараты в профилактике и лечении гиперлипидемий // Провизор. – 1998. – № 3. – С. 41-42.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 2. – 463 с.
7. Кисель М.А. Фосфатидилэтанол – компонент мембран человека и животных при алкоголизации: получение, свойства и пути практического использования // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы междунар. науч. конф., посвящ. 30-летию Ин-та биохимии НАН Беларуси и 75-летию со дня рождения акад. Ю.М. Островского, г. Гродно, 28-29 сент., 2000. – Гродно, 2000. – С. 224-227.
8. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Каминная В.И. Интенсификация in vivo свободнорадикального окисления липопротеидов низкой плотности в плазме крови больных ИБС при терапии ингибитором HMG-CoA-редуктазы правастатином и подавление липопероксидации убихиномом Q10 // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. – № 2. – С. 176-179.
9. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Коновалова Г.Г. Свободнорадикальное окисление в патогенезе атеросклероза // Актуальные вопросы сердечно-сосудистой патологии: Материалы науч. конф., посвящ. 80-летию А.М. Вихерта. – М., 1998. – С. 12-13.
10. Логачева И.В., Лещинский Л.А., Колодкин Д.Е. Влияние антигиперлипидемической терапии (отдаленные результаты) на перекисное окисление липидов и стабильность эритроцитарных мембран у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 1998. – № 9. – С. 7-10.
11. Мойбенко О.О., Максютин Н.П., Мохорт М.А. Фармакологічні, токсикологічні і фармацевтичні дослідження нової лікарської форми кардіопротектора – розчинного кверцетину // Укр. кардіол. журн. – 1996. – № 3 (додаток). – С. 175.
12. Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Липосомальные лекарственные формы в клинической онкологии // Успехи соврем. биологии. – 2001. – **121**, № 5. – С. 464-474.
13. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
14. Хромов О.С., Стефанов О.В. Корекція за допомогою лецитинових ліпосом (ліпіну) порушень центральної гемодинаміки у щурів під час геморагічного шоку // Ліки. – 1995. – № 4. – С. 54-60.
15. Юхимець В.О. Перспективи застосування препарату ліпіну в пульмонології // Ліки. – 1995. – № 4. – С. 19-28.
16. CP-346086: an MTP inhibitor that lowers plasma cholesterol and triglycerides in experimental animals and in humans / C.E. Chandler, D.E. Wilder, J.L. Pettini et al. // J. Lipid Res. – 2003. – **44**, № 10. – P. 1887-1901.
17. Glavind J., Hartmann S., Clemmesen J. Studies on the role of lipoperoxides in human pathology. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerotic aorta // Acta Pathol. Microbiol. Scand. – **30** (1). – P. 1-6.
18. Glavind J., Hartmann S. The occurrence of peroxidized lipids in atheromatous human aortas // Experientia. – 1951. – **7** (12). – P. 464.

19. Oxidants and antioxidants in atherogenesis. An appraisal / S. Parthasarathy, N. Santanam, S. Ramachandran, O. Meilhac // J. Lipid Res. – 1999. – **40**, № 12. – P. 2143-2157.

20. Temperature and pressure dependence of

quercetin-3-O-palmitate interaction with a model phospholipid membrane: film balance and scanning probe microscopy study / L. Sardone, B. Pignataro, F. Castelli et al. // J. Colloid. and Interface Sci. – 2004. – **271**, № 2. – P. 329-335.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ ЛИПОФЛАВОНОМ

Г.В. Белик, Т.А. Куценко, Ю.В. Столетов, Н.И. Прокопишак
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Известно, что в терапии атеросклероза патогенетически обоснованным является применение антиоксидантов, в частности кверцетина. В данной статье приведены результаты экспериментального изучения антисклеротического действия нового кверцетинсодержащего липосомального препарата – липофлавона. Исследованы его гиполипидемические, антицитолитические, антиоксидантные свойства на модели экспериментальной гиперлипидемии у кролей. Установлено, что липофлавон проявляет высокий и разносторонний антисклеротический эффект благодаря наличию выраженных гиполипидемических, антицитолитических, антиоксидантных свойств, что делает целесообразным его применение при лечении атеросклероза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, липофлавон, атеросклероз, липопротеины низкой плотности.

LIPID PEROXIDATION IN PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS AND POSSIBILITY OF ITS TREATMENT BY LIPOFLAVON

H.V. Belik, T.O. Kutsenko, Y.V. Stoletov, N.I. Prokopishak
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

It is known, that the usage of antioxidants, especially quercetin, in atherosclerosis treatment is pathogenetically substantiated. This article gives information about results of experimental investigation of antisclerotic effects of new quercetin-containing liposomal drug lipoflavon. Its hypolipidemic, anticytolytic and antioxidant properties were studied in the model of experimental hyperlipidemia in rabbits. It was proved, that lipoflavon has marked antisclerotic effect, which includes high hypolipidemic, anticytolytic and antioxidant properties. That is why the usage of lipoflavon for atherosclerosis treatment is expedient.

KEY WORDS: lipid peroxidation, lipoflavon, atherosclerosis, lipoproteins of low density.

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

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО НЕОПІЇДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПІРОДАЗОЛУ НА АДРЕНЕРГІЧНУ ТА ХОЛІНЕРГІЧНУ СИСТЕМИ

О.Є. Ядловський, Ф.П. Трінус, Т.А. Бухтіарова,
З.П. Омеляненко, В.С. Хоменко, Т.В. Шатиркіна
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Виявлено властивість піродазолу знижувати систолічний тиск у щурів лінії Вістар при внутрішньо-шлунковому (до 12%), внутрішньом'язовому (до 28%), внутрішньоочеревинному (до 27%) шляхах введення тривалістю більше ніж 3 год. Методом фармакологічного аналізу вивчено вплив модуляторів адренергічної і холінергічної систем на антигіпертензивну активність піродазолу. Встановлено ймовірний антагонізм піродазолу з α_2 -адреноміметиком йохімбіном і пропроналолом. На моделях ноцицептивної стимуляції "гаряча пластина" і Tail-Flick отримано дані про антагонізм піродазолу з α_2 -адреноміметиком йохімбіном. Зроблено припущення про спільні механізми антигіпертензивної та антиноцицептивної дій піродазолу і клонідину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піродазол, адренергічна і холінергічна системи.

ВСТУП. Біль – один з найбільш розповсюджених симптомів різних захворювань, тому ненаркотичні анальгетики є тими лікарськими засобами, які найширше застосовують у сучасному світі для фармакотерапії больових синдромів [13]. Одне з центральних місць у фармакотерапії займають неопіїдні анальгетики (анальгетики – антипіретики, нестероїдні протизапальні засоби, транквілізатори, нейролептики, трициклічні антидепресанти, міорелаксанти, спазмолітики і т. ін.). Неопіїдні анальгетики широко застосовують для фармакотерапії больових синдромів. Так, з липня 1999 по червень 2000 року в США було продано більше ніж 100 млн упаковок інгібіторів ЦОГ-2 [12]. Широко відомо про вплив неопіїдних анальгетиків на серцево-судинну систему. Основним механізмом дії анальгетиків-антипіретиків та НПЗЗ (нестероїдних протизапальних засобів) є інгібування ними ферменту циклооксигенази (ЦОГ), внаслідок чого пригнічується синтез простагландинів, які виконують важливі функції серцево-судинної системи. Одним з небезпечних побічних ефектів нестероїдних протизапальних засобів (як селективних, так і неселективних інгібіторів ЦОГ-2) є ускладнення зі сторони серцево-судинної системи, які пов'язують з інгібуванням ЦОГ [1]. Нейролептикам (аміназину та іншим)

© О.Є. Ядловський, Ф.П. Трінус, Т.А. Бухтіарова, З.П. Омеляненко, В.С. Хоменко, Т.В. Шатиркіна, 2007.

притаманна антигіпертензивна дія, яка пояснюється їх здатністю блокувати центральні дофамінергічні та адренергічні рецептори. Трициклічні антидепресанти (імізін, амітриптілін) можуть викликати тахікардію, порушення серцевого ритму (інколи гіпотонію), які пов'язані з інгібуванням зворотного захоплення моноамінів, блокуванням α_1 - та м-холінорецепторів [9, 14]. Зниження артеріального тиску при використанні міорелаксантів (тубокураринхлорид, диплацин) спричиняє їх гангліоблокуюча дія [8]. Тахікардію при застосуванні спазмолітиків (атропіну та інших) викликає їх м-холіноблокуюча дія. В Інституті фармакології та токсикології АМН України проводять комплексні дослідження нового неопіїдного анальгетика піродазолу, похідної пірролоімідазолу, який за антиноцицептивною дією в експерименті не поступається кеторолаку. Метою нашого дослідження було вивчення впливу піродазолу на серцево-судинну систему організму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на 228 щурах-самицях лінії Вістар масою (250 ± 40) г та 24 білих нелінійних мишах масою (20 ± 2) г, розведених у віварії Інституту фармакології та токсикології АМН України. У дослідженнях використовували піродазол із розрахунку 1 мг/кг внутрішньом'язово і внутрішньоочеревинно та 15 мг/кг внутрішньо-

шлунково. Вплив пірдазолу на показники функціонування серцево-судинної системи (частоту серцевих скорочень – ЧСС та систолічний тиск – СД) вивчали на Sphygmomanometer S-2 (Німеччина). Застосовували метод фармакологічного аналізу, при цьому пірдазол вводили на фоні модуляторів холінергічної та адренергічної систем [6]. Кількість тварин у кожній групі дорівнювала 6. Як модулятори холінергічної системи було використано скополамін (2,7 мг/кг), атропін (100 мг/кг), армін (0,02 мг/кг) підшкірно, ареколін (0,25 мг/кг), платифілін (1 мг/кг) внутрішньом'язово, прозерин (0,05 мг/кг), пірензепін (30 мг/кг) внутрішньошлунково з розрахунку на 1 кг маси тіла. Як модулятори адренергічної системи – мезатон (1 мг/кг) внутрішньом'язово, пропроналол (50 мг/кг), йохімбін (5 мг/кг), клонідин (0,01 мг/кг) внутрішньошлунково з розрахунку на 1 кг маси тіла. Аналізатори вводили підшкірно та внутрішньоочеревинно за 15 хв до введення і через 15 хв після введення пірдазолу та внутрішньошлунково за 45 хв до введення і через 45 хв після його введення. Вплив на антиноцицептивну дію пірдазолу вивчали на термічних моделях ноцицептивної стимуляції "гаряча пластина" [7], Tail-Flick [11]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерію Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Пірдазол викликав зниження тиску в щурів при внутрішньом'язовому введенні тривалістю до 6 год (табл. 1). Зниження систолічного тиску (СТ) супроводжувалося вірогідним зменшенням частоти серцевих скорочень (ЧСС) від 11,2 до 19,1 %. При внутрішньоочеревинному шляху введення також спостерігалось достовірне зниження СТ тривалістю до 5 год. При внутрішньошлунковому введенні пірдазолу мало

місце зниження СТ на рівні 12,7-9,9 % тривалістю до 3 год, яке супроводжувалося зростанням ЧСС до 11,3-13,5 % (див. табл. 1). Оскільки пірдазол не пригнічує простагландини (відсутні протизапальна, антипірогенна, ульцерогенна дії), не впливає на систему згортання крові, ми припустили його вплив на холінергічну та/чи адренергічну системи. При вивченні впливу пірдазолу на холінергічну систему було показано, що м-холіноміметик ареколін суттєво не впливає на показники СТ та ЧСС (табл. 2). На фоні незворотного інгібітора холінестерази арміну (комбінація "армін+пірдазол") невірогідно зростали СТ і ЧСС, що можна пояснити стимуляцією арміном холінорецепторів симпатичних гангліїв та мозкової речовини надниркових залоз. При вивченні впливу на фармакологічну дію пірдазолу іншого інгібітора холінестерази – прозерину (див. табл. 2), який не проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, спостерігалися значні, але невірогідні зниження значень ЧСС до 9,1 та 13,5 % і зростання СТ до 14,5-26,5 %, що також можна пояснити впливом препарату на симпатичні ганглії [5].

На фоні введення м-холіноблокаторів атропину та скополаміну мало місце зростання ЧСС до 49,1 та 44,6 % відповідно, при цьому СТ практично не змінювався, що можна пояснити м- та, деякою мірою, н-холіноблокуючими ефектами використаних аналізаторів [5]. На фоні платифіліну, який більшою мірою впливав на н-холінорецептори, ніж атропін, та діє на судиноруховий центр, у комбінації "пірдазол+платифілін" спостерігалось зростання СТ на 15,8 %. При введенні пірдазолу на фоні м-, холіноблокатора пірензепіну майже відсутні зміни порівнянно з нормою.

Дані літератури свідчать про те, що похідні імідазолу проявляють широкий спектр фар-

Таблиця 1 – Вплив пірдазолу на систолічний тиск (СТ) та частоту серцевих скорочень (ЧСС) у щурів

| Шлях введення/ доза | Вихідний рівень | | 1 год | | 2 год | | 3 год | | 5 год | | 6 год | |
|---------------------------------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | СТ | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ | ЧСС |
| Внутрішньо- м'язове (1 мг/кг) | 159 ±1,0 | 380 ±10,8 | 124,7 ±5,3 | 308,5 ±13,4 | 113,5 ±7,8 | 316,2 ±11,1 | 128,7 ±6,5 | 337,5 ±8,5 | 163,7 ±2,3 | 338,7 ±3,1 | 123,7 ±4,7 | 315,7 ±7,05 |
| % | - | - | -21,5** | -18,9** | -28,9*** | -16,8** | -19,1** | -11,3* | +2,5 | -11,2** | -22,2** | -17,1** |
| Інтрапери- тонеальне (1 мг/кг) | 173,5 ±8,9 | 335 ±5 | 133,7 ±16,7 | 328,7 5±4,2 | 172,5 ±10,1 | 377,2 ±36,1 | 126,2 ±8,5 | 318,7 ±7,7 | 135 ±15,9 | 324,2 ±12,2 | 166,2 ±4,7 | 360 ±12,2 |
| % | - | - | -23,2* | -2,02 | -0,5 | +25,3 | -27,1** | -5,07 | -21,9* | -3,2 | -4,04 | +7,5 |
| Внутрішньо- шлункове (15 мг/кг) | 150,2 ±4,3 | 317,6 ±4,8 | 131,2 ±3,1 | 353,6 ±8,9 | 135,4 ±6,1 | 360,0 ±8,0 | 147,2 ±8,1 | 337,8 ±5,9 | | | | |
| % | - | - | +11,3* | -12,7** | +13,5* | -9,7 | +6,4 | -2,0 | - | - | - | - |

макологічної дії, в тому числі вплив на серцево-судинну систему (клонідин – α_2 -адреноміметик, нафтизин – α -адреноміметик, фентоламін – блокатор α_1 -постсинаптичних та α_2 -пресинаптичних рецепторів), тому нами було вивчено вплив модуляторів адренергічної системи на антигіпертензивний ефект піродазолу. Так, α_1 -адреноміметик мезатон знімав антигіпертензивний ефект піродазолу, але вже через 2 год виявлялося вірогідне зниження СТ на 9,1 та 20,9 %, що можна пояснити короткою дією мезатону, відсутністю впливу на дію піродазолу. Піродазол у комбінації з β -адреноблокатором пропроналолом потенціював зниження СТ, при цьому не спостерігалось зростання ЧСС. При комбінації піродазолу з

α_2 -адреноблокатором йохімбіном виявлявся їх антагонізм, що не виключало впливу піродазолу на α_2 -адренорецептори. Ймовірний антагонізм мав місце при застосуванні піродазолу в комбінації з α_2 -адреноміметиком клонідином, оскільки при комбінації "піродазол+клонідин" спостерігалось вірогідне зростання ЧСС (табл. 3).

Отримані результати показали, що піродазол при парентеральному введенні знижує артеріальний тиск та частоту серцевих скорочень тривалістю до 6 год. При вивченні дії піродазолу на холінергічну та адренергічну системи можна припустити, що зниження артеріального тиску відбувається за рахунок дії на α_2 -адренорецептори, перешкоджаючи їх зв'яз-

Таблиця 2 – Вплив холінолітиків та холіноміметиків на систолічний тиск (СТ) та частоту серцевих скорочень (ЧСС) у щурів при введенні піродазолу

| Препарат | 1 год | | 2 год | |
|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ |
| Піродазол, n=6 | +11,3 %* | -12,7 %* | +13,5 %* | -10,6 % |
| Ареколін+піродазол, n=6 | +8,9 % | -11,7 % | +11,8 %* | -7,7 % |
| Піродазол+ареколін, n=6 | +1,9 % | -4 % | +1,2 % | +8 % |
| Ареколін, n=6 | -9,8 % | -7,6 % | -7,2 % | -4,0 % |
| Армін+піродазол, n=6 | +4,5 % | +8,6 % | +0,2 % | +11,5 % |
| Піродазол+армін, n=6 | -4,2 % | -5,4 % | +4,8 % | -0,3 % |
| Армін, n=6 | -8,7 % | -2,3 % | -10,1 %* | +3,2 % |
| Прозерин+піродазол, n=6 | -13,5 % | +14,5 % | -11,6 % | +18,7 % |
| Піродазол+прозерин, n=6 | +4,3 % | +18,9 %* | -9,1 % | +26,5 % |
| Прозерин, n=6 | -6,7 % | -5,2 % | -7,8 % | -9,2 % |
| Атропін+піродазол, n=6 | +46,6 %* | +6,6 % | +49,1 %* | +6 % |
| Піродазол+атропін, n=6 | +15,4 %* | +6,1 % | +21,1 %* | +3,3 % |
| Атропін, n=6 | +29,8 % | 1,1 % | +26,3 % | +4,4 % |
| Скополамін+піродазол, n=6 | +46,8 %* | -6,9 % | +44,6 %* | +2,5 % |
| Піродазол+скополамін, n=6 | +33,2 %* | +18,2 %* | +18,2 %* | +16,9 %* |
| Скополамін, n=6 | +18,6 % | -2,3 % | +24,4 % | -3,8 % |
| Платифілін+піродазол, n=6 | +14,5 %* | -0,6 % | -1,9 % | -1,1 % |
| Піродазол+платифілін, n=6 | +5,1 % | +15,8 %* | -2,1 % | +15,8 %* |
| Платифілін, n=6 | -6,7 % | -11,1 % | -5,4 % | -8,8 % |
| Пірензепін+піродазол, n=6 | -0,2 % | +5,1 % | -3,4 % | +16 % |
| Піродазол+пірензепін, n=6 | +1,6 % | +0,5 % | -1,3 % | +2,1 % |
| Пірензепін, n=6 | +1,9 % | -2,6 % | -3,5 % | +2,8 % |

Примітка. Тут і далі: * – дані, що вірогідно відрізняються від вихідних значень ($p \leq 0,05$).

Таблиця 3 – Вплив адреноблокаторів та адреноміметиків на систолічний тиск (СТ) та частоту серцевих скорочень (ЧСС) у щурів при введенні піродазолу

| Препарат | 1 год | | 2 год | |
|----------------------------|---------|----------|----------|----------|
| | ЧСС | СТ | ЧСС | СТ |
| Піродазол, n=6 | +6,01 % | -20,1 %* | +10,4 %* | -12,3 %* |
| Мезатон+піродазол, n=6 | 0 % | +2,9 % | +8,8 %* | -9,4 %* |
| Піродазол+мезатон, n=6 | +2,5 % | -5,4 % | +3,4 % | -20,9 %* |
| Мезатон, n=6 | -5,5 % | +8,5* | 0 | -1,04 % |
| Пропроналол+піродазол, n=6 | -8,1 %* | -11,9 %* | -1,1 % | -15,9 %* |
| Піродазол+пропроналол, n=6 | -5,4 % | -20,1 %* | -12,7 %* | -24,7 %* |
| Пропроналол, n=6 | -7,5 %* | -12,8* | -4,5 % | -6,6 % |
| Йохімбін+піродазол, n=6 | +8,4 %* | +12,4 %* | +3,2 % | +19,1 %* |
| Піродазол+йохімбін, n=6 | +5,1 % | -19,2 %* | +5,0 % | -18,2 %* |
| Йохімбін, n=6 | +16,3* | +16,2* | +15,4* | 13,5* |
| Клонідин, n=6 | 0 | -23,4* | +5,5 | -22,9* |
| Піродазол+клонідин, n=6 | +7,0* | -21,2* | +7,5* | -24,1* |
| Клонідин+піродазол, n=6 | -1,7 | -23,1* | -4,3 | -15,5* |

ку з катехоламінами. Можливо, піродазол впливає не тільки на α -, але й на β -адренорецептори і його можна віднести до гібридних адреноблокаторів. Відомо, що механізм антигіпертензивної та анальгетичної дій похідної імідазолу клонідину пов'язаний з міметичним впливом на α_2 -адренорецептори [10]. Оскільки анальгетична дія клонідину знімається α_2 -

адреноблокаторами, нами було вивчено вплив йохімбіну на анальгетичну дію піродазолу на моделях термічної ноцицептивної стимуляції "гаряча пластина" та Tail-flick [6].

Як свідчать дані, наведені в таблиці 4, на спінальному (Tail-flick) і супраспінальному рівнях ("гаряча пластина") спостерігався антагонізм піродазолу з йохімбіном.

Таблиця 4 – Вплив йохімбіну на антиноцицептивну активність піродазолу на моделях термічної ноцицептивної стимуляції

| Препарат | | Вихідне значення | 30 хв | 60 хв | 90 хв |
|-------------------------|---------------------|------------------|-----------|-----------|----------|
| Гаряча пластина | | | | | |
| Піродазол, n=10 | Латентний період, с | 17,27±0,71 | 31,9±4,6 | 34,2±2,9 | 33,9±4,2 |
| | % | - | +84,7** | +97,7** | +95,9** |
| Піродазол+йохімбін, n=7 | Латентний період, с | 10,2±1,0 | 20,7±5,1 | 17,7±4,5 | 21,4±5,9 |
| | % | - | +102,5** | +73,5** | +109,8** |
| Йохімбін+піродазол, n=7 | Латентний період, с | 10,2±0,7 | 11,5±1,7 | 8,9±2,0 | 9,4±1,4 |
| | % | - | +12,1 | -12,7 | -7,8 |
| Tail-flick | | | | | |
| Піродазол, n=6 | Латентний період, с | 6,41±0,65 | 8,34±0,38 | 8,19±0,36 | - |
| | % | - | +29,6* | +27,9* | - |
| Піродазол+йохімбін, n=6 | Латентний період, с | 9,1±1,8 | 11,8±1,3 | 8,6±0,6 | - |
| | % | - | +29,2* | -5,5 | - |
| Йохімбін+піродазол, n=6 | Латентний період, с | 4,6±1,14 | 4,5±0,6 | 4,8±0,7 | - |
| | % | - | -2,1 | +4,3 | - |

За результатами багатьох досліджень, взаємодія з α -адренорецепторами в нейронах спинного мозку є важливим компонентом анальгетичної дії неопіоїдних анальгетиків. Було показано, що отриманий в експерименті інгібуючий ефект такої похідної імідазолу, як клонідин, не опосередкований тільки взаємодією з α -адренорецепторами, а є результатом прямого впливу на потенціалзалежні Na^+ -канали сенсорних нейронів – одну із складових анальгетичного ефекту [2]. В дослідженнях, проведених раніше, було показано, що піродазол спричиняє як тонічну, так і фазову дію на натрієві струми. Під впливом піродазолу в нейронах ноцицептивної системи фазове блокування забезпечувало пригнічення більше ніж половини струмів, котрі не залишались незаблокованими

після тонічного блокування, тоді як у нейронах, що, ймовірно, належали до інших аферентних систем, внесок фазового блокування був у 2,5 раза меншим [4]. Наведені вище дані дозволяють припустити спільні механізми антигіпертензивної та антиноцицептивної дій піродазолу і клонідину.

ВИСНОВКИ. 1. Виявлено антагонізм піродазолу з йохімбіном при його антигіпертензивній активності.

2. Показано антагонізм піродазолу з йохімбіном на моделях термічної ноцицептивної стимуляції.

3. Висловлено припущення про спільність механізмів антигіпертензивної та антиноцицептивної дій піродазолу і клонідину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Влияние НПВП и парацетамола на сердечно-сосудистую систему // Клини. фармакол. и терапия. – 2002. – 11. – С. 78-81.
2. Катина И.Е., Крылов Б.В., Хрусталева Р.С. и др. Влияние клонидина на потенциалзависимые натриевые токи сенсорных нейронов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – 139, № 1. – С. 44-48.
3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статис-

- тика в науке и бизнесе. – К.: Морион, 2002. – 640 с.
4. Пархоменко М.Т., Яценко Л.М., Куксенко О.М., Бухтіарова Т.А. Вплив нового неопіоїдного анальгетика піродазола на натрієві струми в аферентних нейронах гангліїв щурів // Нейрофізіологія. – 1999. – 31, № 3. – С. 236-238.
5. Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В. Неантихолинестеразные механизмы действия антихолинестеразных средств. – Л.: Медицина, 1976. – 160 с.

6. Стефанов А.В. Доклиническое исследование лекарственных веществ. – К.: Авицена, 2001. – 526 с.

7. D'Amoue F.E., Smalh D.L. A method for determining lose of pain sensation // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1941. – **72**. – P. 74.

8. Decker M.W., Meyer M.D. The therapeutic potential of neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists as novel analgesics // Biochem. Pharmacol. – 1999. – **58**, № 6. – P. 917-923.

9. Fidecka S., Pizogowicz E. Lack of interaction between the behavioral effects ketamin and benzodiazepines in mice // Pol. J. Pharmacol. – 2002. – **54**, № 5. – P. 917-923.

10. Hunter J.C., Fontana D.J., Hedley L.R., Jasper J.R. Assessment of the role of α_2 -adrenoreceptor

subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice // Brit. J. Pharmacol. – 1997. – **122**, № 7. – P. 1339-1344.

11. Komlos E., Porsresr J., Knole J. Morphine-prostigmin synergismus // Az. Acta. Physiologica. Acad. Scient. Hungaricae. – 1950. – № 1. – P. 77-83.

12. CDC. Prevalence of disabilities and associated health conditions among adults – United States, 1999// MMWR. – 2001. – № 50. – P. 120-125.

13. Silberstein S.D., Lipton R.B., Goadsby P.J. Headache in Clinical Practice. 2nd ed. Oxford, England: Martin Dunitz, 2002. – 457 p.

14. Skolnich P. Antidepressants for the new millennium // Eur. J. Pharmacol. – 1999. – **375**, № 1-3. – P. 31-40.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО НЕОПИОИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА ПИРОДАЗОЛА НА АДРЕНЕРГИЧЕСКУЮ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМЫ

**О.Е. Ядловский, Ф.П. Тринус, Т.А. Бухтиарова,
З.П. Омеляненко, В.С. Хоменко, Т.В. Шатиркина**
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Выявлено свойство пиродазола снижать систолическое давление у крыс линии Вистар при внутрижелудочном (до 12 %), внутримышечном (до 28 %), внутрибрюшинном (до 27 %) путях введения длительностью более 3 ч. Методом фармакологического анализа изучено влияние модуляторов адренергической и холинергической систем на антигипертензивную активность пиродазола. Установлен вероятный антагонизм пиродазола с α_2 -адреномиметиком йохимбином и пропроналолом. На моделях ноцицептивной стимуляции "горячая пластина" и Tail-Flick получены данные об антагонизме пиродазола с α_2 -адреномиметиком йохимбином. Высказано предположение об общих механизмах антигипертензивного и антиноцицептивного действий пиродазола и клонидина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пиродазол, адренергическая и холинергическая системы.

THE EXPERIMENTAL STUDY OF EFFECT OF NEW NONOPIOID ANALGESIC PIRODAZOL ON CHOLINERGIC AND ADRENERGIC SYSTEMS

**O.Ye. Yadlovsky, F.P. Trinus, T.A. Bukhtiarova,
Z.P. Omelianenko, V.S. Khomenko, T.V. Shatyrykina**
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

It was revealed the property of pirodazol to reduce systolic pressure at rats of Wistar line at intragastric (up to 12 %), intramuscular (up to 28 %), intraperitoneal (up to 27 %) administration during more than 3 h. The method of pharmacological analysis investigated influence of modulators of adrenergic and cholinergic systems on the antihypertensive activity of pirodazol. The probable antagonism of pirodazol and α_2 -adrenomimetics johimbin and propranolol was revealed. On the models of nociceptive stimulations "hot plate" and Tail-Flick are received the data on antagonism of pirodazol and α_2 -adrenomimetics johimbin. The assumption on the general mechanisms of antihypertensive and antinociceptive actions of pirodazol and clonidin was stated.

KEY WORDS: pirodazol, adrenergic and cholinergic systems.

Адреса для листування: О.Є. Ядловський, Інститут фармакології та токсикології АМН України, Відділ фармакології протизапальних та анальгезуючих засобів, вул. Е. Потьє, 14, Київ, 03057, Україна.

ВПЛИВ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЇ З ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ НА ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

С.К. Шебеко, І.А. Зупанець
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Пошук нових ефективних лікарських засобів, що можуть знайти застосування у лікуванні хронічної ниркової недостатності, займає одне з центральних місць у сучасній нефрології. Усе більше уваги в процесі терапії даної патології вчені приділяють стану базальної мембрани нефронів. До речовин, потенційно придатних для її відновлення, можна віднести аміноцукор глюкозамін та деякі його похідні, що, входячи до складу захисного шару глікозаміногліканів базальної мембрани, зумовлюють його фізіологічні нефропротекторні функції. У зв'язку з цим, було проведено вивчення фармакологічного впливу глюкозаміну гідрохлориду та його комбінації з диклофенаком натрію на перебіг хронічної ниркової недостатності у лабораторних щурів, викликаній підшкірним введенням сулеми. У ході роботи визначено вплив даних препаратів на функціональні показники нирок та деякі біохімічні показники крові тварин з нефропатією. Результати експерименту свідчать про те, що за умов розвитку у щурів хронічної ниркової недостатності досліджувані засоби знижують прояви нефротичного і набрякового синдромів, покращують функціональний стан нирок та чинять позитивний вплив на перебіг захворювання, що більше було виражено при застосуванні глюкозаміну гідрохлориду. Таким чином, даний гексозамін є перспективним для подальшого поглибленого вивчення нефропротекторної та гіпоазотемічної активності з метою використання в терапії хворих нефрологічного профілю на тлі ниркової недостатності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аміноцукри, глюкозаміну гідрохлорид, диклофенак натрію, хронічна ниркова недостатність, сулемова нефропатія.

ВСТУП. Пошук нових ефективних лікарських засобів, що можуть знайти застосування у лікуванні хронічної ниркової недостатності (ХНН), що є актуальною медико-соціальною проблемою, займає одне з центральних місць у сучасній нефрології [9]. Основними причинами такої ситуації є відсутність у клінічній практиці ефективних засобів патогенетичної терапії ХНН, велика вартість деяких замісних методів лікування (гемодіалізу, перитонеального діалізу, трансплантації нирок), високий ризик інвалідизації хворих [2, 18]. Також слід відзначити, що, незважаючи на своєчасне та відповідне лікування, розвиток ХНН у 18-25 % випадків призводить до неминучої загибелі пацієнта [8].

Усе більше уваги в процесі терапії ниркової недостатності вчені приділяють стану базальної мембрани нефронів. Важливим її компонентом є захисний шар з глікозаміногліканів, що зумовлює зарядоселективність ниркового фільтра, сприяє нормалізації мікроциркуляції

© С.К. Шебеко, І.А. Зупанець, 2007.

у нефроні, приховує антигенні зони базальної мембрани і, таким чином, перешкоджає розвитку аутоімунних реакцій, що лежать у патогенезі більшості імунозапальних захворювань нирок та можуть призводити до розвитку ХНН [13, 15, 16]. У зв'язку з цим, застосування засобів, що діють як захисні агенти стосовно базальної мембрани нефронів та ліквідують дефіцит кислих гексозамінів, повинно займати одне з центральних місць у терапії ХНН. Це безпосередньо підтверджується позитивними клінічними результатами застосування препаратів з групи високосульфатованих глікозаміногліканів (сулодексид) у лікуванні хворих із хронічною нирковою недостатністю [5, 12, 14].

До речовин, потенційно придатних для цього, можна віднести аміноцукор глюкозамін (ГА) та деякі його похідні, що проявляють значну мембрано-протекторну, антиоксидантну дію, повільну протизапальну активність та є практично безпечними для організму людини [3, 11, 19]. Входячи до складу глікозаміногліканів базальної мембрани, глюкозамін зумовлює їх

фізіологічні нефропротекторні функції [17, 20] і може позитивно впливати на перебіг запально-деструктивних захворювань нирок. Це підтверджується даними попередніх досліджень, у ході яких встановлено, що при застосуванні глюкозаміну гідрохлориду та його комбінації з диклофенаком натрію (ДН) для лікування лабораторних щурів з мембранозною нефропатією ці засоби чинять виражену нефропротекторну дію, а також нормалізують показники азотистого обміну [4, 10].

У зв'язку з цим, великий науковий інтерес викликає вивчення фармакологічного впливу глюкозаміну гідрохлориду та його комбінації з диклофенаком натрію на перебіг хронічної ниркової недостатності у лабораторних тварин, що і є метою даної роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У ході експериментальних досліджень використовували 5 груп щурів: 8 тварин у 1-й групі та по 16 в інших. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію при вільному доступі до питної води, постійній вологості та температурному режимі. Хронічну ниркову недостатність відтворювали шляхом підшкірного введення 0,1 % розчину сулеми в дозі 4 мг/кг протягом трьох днів [1]. При такій схемі введення ниркова недостатність розвивається повільно і на 2-3 тиждень набуває хронічного характеру з усіма притаманними їй проявами.

Щури 1-ї та 2-ї груп були використані як інтактний контроль і контрольна патологія відповідно. Інші тварини на тлі ниркової недостатності отримували: ГА гідрохлорид в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг, фармацевтичну композицію ГА гідрохлориду з ДН (8:1) у загальній дозі 36 мг/кг (ED_{50} за протизапальною активністю) [4], а також референт-препарат леспенефрил у дозі 1,2 мл/кг (середня терапевтична доза для людини, перерахована за методом Ю.С. Риболовлева). Препарати розчиняли у воді до об'єму 1 мл. Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин у тій самій кількості. У всіх групах досліджували засоби вводили перорально щодня протягом чотирьох тижнів, починаючи за тиждень до відтворення патології.

Для оцінки функціонального стану нирок на 2-й та 3-й тиждень експерименту у тварин визначали спонтанний добовий діурез за допомогою індивідуальних метаболічних клітин, добову кількість випитої рідини, а також розраховували відносний діурез, після чого їх негайно виводили з досліді по 8 щурів з кожної групи (з дотриманням міжнародних біоетичних вимог у роботі з тваринами) з метою отримання сиро-

ватки крові для біохімічних досліджень. У зібраній сечі визначали вміст білка (нефелометричним методом за реакцією з сульфосалициловою кислотою), вивчали сечовий осад [6]. Також за допомогою біохімічних наборів "Lachema" (Чехія) визначали вміст сечовини і креатиніну в крові та сечі, розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом ендogenous креатиніну та канальцеву реабсорбцію загальноприйнятими методами [6].

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента за допомогою комп'ютерних програм [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Протягом експерименту проводили аналіз спостережень за поведінкою та загальним станом тварин. Перші ознаки захворювання відмічено через тиждень після останнього введення сулеми. Тварини були кволими, малорухливими, з проявами асцити та набряків на мордочках, не з'їдали денну норму їжі. Відмічався значний рівень летальності, що на 14 добу експерименту склав у контрольній групі 50 %, у групах, де щури отримували дослідну композицію та леспенефрил, – 13 %, жодної тварини не загинуло при використанні ГА гідрохлориду.

Вірогідної динаміки у масі тварин не спостерігалось у всіх групах, незважаючи на таке явище, як затримка рідини в організмі щурів під впливом розвитку ниркової недостатності, що може пояснюватись відносно незначною тривалістю експерименту.

Дані щодо динаміки деяких показників функціонального стану нирок щурів з хронічною нирковою недостатністю та під впливом експериментального лікування наведено в таблиці 1. Так, у групі щурів з контрольною патологією відмічено стійке зниження діурезу порівняно з інтактними тваринами протягом усього експерименту (на 21 добу більше ніж у 2 рази). Разом із тим, при використанні ГА гідрохлориду та його комбінації з ДН показник діурезу був вірогідно більшим, ніж у тварин з контрольною патологією. Також звертає на себе увагу те, що в контрольній групі показник відносного діурезу вірогідно менший, ніж в інтактних тварин, що вказує на затримку рідини в організмі щурів. В інших експериментальних групах він перевищував показники тварин з контрольною патологією. Окремо слід відзначити щурів, яких лікували леспенефрилом, оскільки показники діурезу та відносного діурезу в цій групі були на рівні інтактних тварин і на 21 добу навіть його вірогідно перевищували. Ця тенденція вказує на те, що леспенефрил володіє вираже-

ною діуретичною активністю, яка аміноцукрам та нестероїдним протизапальним засобам зовсім не притаманна.

Незважаючи на те, що при розвитку сулемової нефропатії переважно відбувається пошкодження канальцевої частини нефрона, яке зазвичай не супроводжується появою великої кількості білка у сечі, спостерігались значні зміни у такому показнику, як рівень протеїнурії. Так, у групі щурів з контрольною патологією була відмічена значна протеїнурія, що перевищувала на 21 добу досліду рівень інтактних тварин більше ніж у 5 разів. Також високий рівень за цим показником спостерігався в групі, де використовували референт-препарат леспенефрил. На відміну від цього, при лікуванні щурів дослідними засобами протеїнурія була вірогідно меншою, ніж у тварин з контрольною нирковою недостатністю, що особливо було виражено в групі, де щури отримували композицію ГА гідрохлориду з ДН.

Особливої уваги заслуговує вплив досліджуваних препаратів на ШКФ як показник, що безпосередньо відображає фільтраційні можливості нирок. Так, у щурів з контрольною патологією показник ШКФ був вірогідно меншим, ніж у інтактних тварин протягом усього експерименту, причому на 21 добу досліду він знижувався більше ніж у 6,5 раза. Разом із тим, у щурів, які отримували ГА гідрохлорид, показник ШКФ був достовірно вищим, ніж у тварин з контрольною патологією, а також трохи більшим, ніж при використанні дослідної композиції. Але найбільших значень він досягав під впливом леспенефриту, який за цим показником вірогідно перевищував усі досліджувані препарати, що вказувало на значне підсилення фільтраційних процесів.

Оскільки під впливом сулеми у нирках переважно пошкоджується канальцевий епітелій нефрона, то можливим є виникнення порушень реабсорбційної функції нирок, яка характеризується таким показником, як канальцева реабсорбція, тому в цій ситуації він потребує особливої уваги. При розвитку ниркової недостатності у контрольних щурів спостерігалось вірогідне зниження показника канальцевої реабсорбції порівняно з інтактними тваринами. Таке ж саме зниження було відмічено при використанні у щурів леспенефриту. В інших експериментальних групах, де застосовували досліджувані препарати, цей показник був вірогідно вищим за рівень щурів з контрольною патологією протягом усього дослідження, а також перевищував рівень тварин, які отримували референт-препарат леспенефрил.

При розвитку ниркової недостатності в організмі щурів відбувалось накопичення продуктів азотистого обміну, що також частково характеризує функціональний стан нирок. Так, у тварин з контрольною патологією спостерігалось значне збільшення вмісту сечовини крові, яке на 21 добу дослідження перевищувало рівень інтактних тварин більше ніж у 5 разів. В інших дослідних групах рівень сечовини крові був вірогідно меншим, ніж у контрольних тварин, що особливо виражено під впливом леспенефриту. Але слід відзначити, що у щурів, яких лікували ГА гідрохлоридом, на 21 добу експерименту рівень сечовини крові був не тільки вірогідно меншим, ніж у тварин з контрольною патологією, а також тих, що отримували композицію ГА гідрохлориду з ДН, але й не мав вірогідних відмінностей від того рівня, що спостерігався у щурів під впливом референт-препарату леспенефриту. Це свідчить про

Таблиця 1 – Динаміка деяких показників функціонального стану нирок щурів з хронічною нирковою недостатністю під впливом експериментальної терапії (n=72)

| Умови досліду | Термін досліду, доба | Діурез, мл/доба | Відносний діурез, % | Протеїнурія, мг/доба | ШКФ, мл/доба | Канальцева реабсорбція, % | Сечовина крові, ммоль/л |
|------------------------------|----------------------|-----------------|---------------------|----------------------|--------------|---------------------------|-------------------------|
| Інтактний контроль | вихідні дані | 6,64±0,27 | 50,63±0,88 | 5,33±1,04 | 398,4±4,9 | 98,33±0,08 | 4,19±0,23 |
| Контрольна патологія | 14 | 3,75±0,10* | 41,71±1,41* | 21,70±2,20* | 99,1±3,8* | 96,21±0,10* | 16,47±1,14* |
| | 21 | 2,48±0,13* | 38,11±0,31* | 29,26±3,82* | 60,9±4,4* | 95,90±0,22* | 22,47±1,42* |
| ГА гідрохлорид 50 мг/кг | 14 | 4,54±0,22** | 47,61±0,75** | 18,20±2,13**/ | 190,2±8,0** | 97,60±0,10**/ | 13,59±0,91 |
| | 21 | 5,41±0,17** | 47,04±0,78** | 17,05±2,24**/ | 264,8±13,1** | 97,94±0,06**/ | 9,25±0,72** |
| Дослідна композиція 36 мг/кг | 14 | 4,07±0,18** | 45,21±1,21* | 13,29±1,58**/ | 153,0±5,3** | 97,34±0,10**/ | 14,24±0,93 |
| | 21 | 5,10±0,15** | 46,54±1,01** | 12,74±1,93**/ | 208,3±4,1** | 97,54±0,10**/ | 14,17±1,20**/ |
| Леспенефрил 1,2 мг/кг | 14 | 8,74±0,24 | 51,26±1,01 | 25,42±1,70 | 232,2±4,6** | 96,23±0,07 | 10,72±0,81** |
| | 21 | 14,97±0,38* | 54,33±1,12* | 27,11±2,23 | 321,3±6,6** | 95,33±0,13 | 7,21±0,58** |

Примітка. * – p≤0,05 відносно інтакту; ** – p≤0,05 відносно контрольної групи; • – p≤ 0,05 відносно референт-препарату леспенефриту.

високий рівень гіпоазотемічної активності ГА гідрохлориду, який при тривалому застосуванні проявляється на рівні такого ефективного гіпоазотемічного діуретика, як леспенефрил.

Заслугує на увагу те, що, незважаючи на відсутність діуретичної активності та менше посилення клубочкової фільтрації під впливом ГА гідрохлориду, порівняно з леспенефрилом він має деякі переваги, основними з яких є виражена антипротеїнурична активність та позитивний вплив на канальцеві структури нефрону. Крім того, леспенефрил має у своєму складі певну кількість алкоголю, що зумовлює наявність деяких побічних ефектів та значно обмежує застосування препарату.

Таким чином, розглянуті експериментальні дані демонструють, що за умов розвитку в щурів сулемової нефропатії досліджені препарати покращують показники функціональ-

ного стану нирок і позитивно впливають на перебіг ниркової недостатності, що більше було виражено при застосуванні ГА гідрохлориду.

ВИСНОВКИ. 1. Глюкозаміну гідрохлорид та його комбінація з диклофенаком натрію при використанні у лабораторних тварин з хронічною нирковою недостатністю знижують прояви нефротичного і набрякового синдромів, покращують функціональний стан нирок та чинять позитивний вплив на перебіг захворювання.

2. Даний комплекс фармакологічної активності більшою мірою виражений у глюкозаміну гідрохлориду, у зв'язку з чим цей аміноцукор є перспективним для подальшого поглибленого вивчення нефропротекторної та гіпоазотемічної активності з метою використання в терапії хворих нефрологічного профілю на тлі ниркової недостатності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Васильченко Е.А. *Desmodium canadense* (L.) DC – растение с гипоазотемическим действием // Растительные ресурсы. – 1968. – **4**. – С. 83-87.
2. Дудар І., Величко М. Ренопротекція: реальні можливості сьогодні // Ліки України. – 2004. – № 7-8. – С. 18-24.
3. Зупанец І.А. Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дис. в форме научного доклада ... д-ра мед. наук. – Купавна, 1993. – 90 с.
4. Зупанец І.А., Шебеко С.К. Вивчення фармакологічних властивостей аміноцукрів та їх комбінацій з диклофенаком натрію в умовах моделювання мембранозної нефропатії у лабораторних тварин // Фармац. журн. – 2006. – № 1. – С. 96-99.
5. Казакова И.А. Клиническая оценка эффективности применения гликоза-миногликана Вессел Дуэ Ф у больных хронической почечной недостаточностью // Нефрология. – 2002. – **6**, № 1. – С. 54-58.
6. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2 т. – 2-е изд. – Мн.: Интерпрессервис, 2003. – Т. 1. – 495 с.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
8. Мухин И.В., Николенко В.Ю. Морфологические изменения почек при подагрическом гломерулонефрите // Нефрология. – 2004. – **8**, № 2. – С. 73-77.
9. Смирнов А.В., Каюков И.Г., Есаян А.М. и др. Превентивный подход в современной нефрологии // Нефрология. – 2004. – **8**, № 3. – С. 7-14.
10. Шебеко С.К., Зупанец І.А. Вплив аміноцукрів та їх комбінацій з диклофенаком натрію на біохімічні показники лабораторних тварин на тлі мембранозної нефропатії // Клін. фармація. – 2005. – **9**, № 2. – С. 34-38.
11. Aminosugars: The chemistry and biology of compounds, containing aminosugars // Ed. T.A. Balazs, R.W. Jeanloz. – New York; London: Acad. Press, 1965. – 592 p.
12. Dedov I., Shestakova M., Vorontzov A., Palazzini E. A randomized, controlled study of sulodexide therapy for the treatment of diabetic nephropathy // Nephrol. Dial. Transplant. – 1997. – **12**. – P. 2295-2300.
13. Deen W.M., Lazzara M.J., Myers B.D. Structural determinants of glomerular permeability // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2001. – **281**. – P. F579-F596.
14. Gambaro G., Van Der Woude F. Glycosaminoglycans: use in treatment of diabetic nephropathy // J. Am. Soc. Nephrol. – 2000. – **11**. – P. 359-368.
15. Mundel P., Shankland S. Podocyte biology and response to injury // J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. – **13**. – P. 3005-3015.
16. Pavenstadt H., Kriz W., Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte // Physiol. Rev. – 2003. – **83**. – P. 253-307.
17. Raats I.C.J., Van Den Born J., Berden J.H.M. Glomerular heparan sulfate alterations: mechanisms and relevance for proteinuria // Kidney Int. – 2000. – **57**. – P. 385-400.
18. Schieppfti A., Perico N., Remuzzi G. Preventing end-stage renal disease: the potential impact of screening and intervention in developing countries // Nephrol. Dial. Transplant. – 2003. – **18**, № 5. – P. 858-859.
19. Setnikar I. Pharmacokinetics of glucosamine in the dog and in man // Arzneimittel. Forschung. – 1986. – **36**, № 4. – P. 729-735.
20. Westling C., Lindahl U. Location of N-unsubstituted glucosamine residues in heparan sulfate // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**, № 51. – P. 49247-49255.

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА И ЕГО КОМБИНАЦИИ С ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРИЯ НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.К. Шебеко, И.А. Зупанец
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Поиск новых эффективных лекарственных средств, которые могут найти применение в лечении хронической почечной недостаточности занимает одно из центральных мест в современной нефрологии. Все больше внимания в процессе терапии данной патологии ученые уделяют состоянию базальной мембраны нефронов. К числу веществ, потенциально пригодных для ее восстановления, можно отнести аминсахар глюкозамин и некоторые его производные, которые, входя в состав защитного слоя гликозаминогликанов базальной мембраны, обуславливают его физиологические нефропротекторные функции. В связи с этим, было проведено изучение фармакологического влияния глюкозамина гидрохлорида и его комбинации с диклофенаком натрия на течение хронической почечной недостаточности у лабораторных крыс, вызванной подкожным введением сулемы. В ходе работы определено влияние данных препаратов на функциональные показатели почек и некоторые биохимические показатели крови животных с нефропатией. Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что в условиях развития у крыс хронической почечной недостаточности исследуемые средства снижают проявления нефротического и отеочного синдромов, улучшают функциональное состояние почек и оказывают положительное влияние на течение заболевания, что более было выражено при применении глюкозамина гидрохлорида. Таким образом, данный гексозамин является перспективным для дальнейшего углубленного изучения нефропротекторной и гипоазотемической активности с целью использования в терапии больных нефрологического профиля на фоне почечной недостаточности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аминсахара, глюкозамина гидрохлорид, диклофенак натрия, хроническая почечная недостаточность, сулемовая нефропатия.

THE INFLUENCE OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE AND THEIR COMBINATION WITH SODIUM DICLOFENAC ON THE COURSE OF CHRONIC RENAL FAILURE IN EXPERIMENT

S.K. Shebeko, I.A. Zupanets
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The search of new effective drugs which can find application in treatment of chronic renal failure, takes one of the central places in modern nephrology. More and more attention during therapy of this pathology scientists pay to the state of a kidney basal membrane. To substances, potentially suitable for its restoration, it is possible to relate the aminosugar glucosamine and some its derivatives which, being a part of basal membrane of glycosaminoglycan protective layer, cause its physiological nephroprotective functions. In this connection, studying of pharmacological influence of glucosamine hydrochloride and its combination with sodium diclofenac on the rat's chronic renal insufficiency, caused by subcutaneous introduction of mercuric chloride, has been carried out. During the present work the influence of this medications on functional kidney parameters and some biochemical blood indices of animals with nephropathy have been determined. The results of investigation demonstrate that in conditions of chronic renal failure development in rats researched drugs reduce nephrotic and hydropic syndrome signs, improve a functional state of kidneys and render positive influence on the course of the disease, that most of all was expressed under the glucosamine hydrochloride application. Thus, this hexosamine is perspective for further profound studying of nephroprotective and hypoazotemic activity, with the purpose of application in the therapy of nephrological patients with renal failure.

KEY WORDS: aminosugars, glucosamine hydrochloride, sodium diclofenac, chronic renal insufficiency, mercuric chloride nephropathy.

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

ОЦІНКА ЛІПІДНИХ ПОКАЗНИКІВ ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

О.М. Гиріна, О.О. Карлова, Т.С. Брюзгіна

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів еритроцитів хворих з метаболічним синдромом. Отримані дані можуть бути використані в клінічній практиці з метою підвищення ефективності діагностики захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром, ліпіди, жирні кислоти, еритроцити.

ВСТУП. Метаболічний синдром – захворювання, яке характеризується наявністю хронічної компенсаторної гіперінсулінемії, являє собою гетерогенний стан, компоненти якого постають факторами ризику коронарної хвороби серця. Їх поєднання означає високий ризик захворюваності, зумовлений атеросклерозом, який є основною причиною смертності в Україні.

Гіперінсулінемія, гіперглікемія, підвищений гідростатичний тиск, дисліпідемія викликають ураження органів, зокрема тканин, на мембранно-клітинному рівні. Патологічні процеси в мембранах органів і тканин уже на ранніх етапах їх розвитку впливають на стан еритроцитарної мембрани, яка є інформативним об'єктом для діагностики патології [8, 10, 11]. Відсутність органел робить еритроцит зручною моделлю для вивчення впливів шкідливих факторів безпосередньо на клітинні мембрани [10]. Еритроцитарні мембрани проявляють високу чутливість до активації перекисного окиснення ліпідів, яка швидко та різко змінює їх властивості [3, 6, 7]. Накопичення гідрофільних угруповань у гідрофобному шарі мембрани сприяє утворенню у мембрані своєрідних пор і порушує мембранний транспорт, у тому числі селективний. Пошкодження мембранозв'язаних ферментів з інгібуванням їх активності та зміна властивостей мембранних білків-переносників – додатковий механізм патологічного ефекту перекисного окиснення ліпідів. Зміни якісного та кількісного складу жирнокислотного спектра ліпідів мембран еритроцитів за умов наростання процесу пероксидації у хворих з метаболічним синдромом

© О.М. Гиріна, О.О. Карлова, Т.С. Брюзгіна, 2007.

на фоні стану антиоксидантної системи, що не компенсує цей процес, зниження метаболічної активності еритроцитів призводять до змін їх морфофункціональних властивостей. Зменшення міцності еритроцитів і збільшення гемолізу клітин є однією з ланок включення еритроцита в "ланцюжок" змін при метаболічному синдромі, який має велике значення у розвитку тромбоутворення [4, 5, 10].

Втрата еритроцитами здатності до деформації внаслідок біохімічної трансформації її мембрани робить мікроциркуляцію значно чутливішою до впливу порушень гемодинаміки. Наростання синдрому підвищення в'язкості крові при порушеннях реологічних властивостей еритроцитів призводить до сповільнення кровотоку, підвищення периферичного опору судин і збільшення навантаження на серце, що клінічно проявляється частішим розвитком ускладнень, пов'язаних з підвищенням тромбоутворенням: ГІМ, НМК у хворих з метаболічним синдромом [9].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення змін жирнокислотного складу ліпідів еритроцитів периферичної крові у хворих з метаболічним синдромом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено методом газорідинної хроматографії. Обстежено 40 хворих з метаболічним синдромом (МС) віком від 30 до 65 років, середній вік – 53,2±4,0. Як контроль використовували 20 практично здорових осіб тієї ж вікової групи. Діагноз встановлювали на підставі анамнестичних даних, клінічного, лабораторного та інструментального методів досліджень.

Об'єктом дослідження стали еритроцити крові хворих з метаболічним синдромом. Підготовку біологічного матеріалу, який отримували в умовах клініки, для видалення еритроцитів крові та газохроматографічний аналіз проводили за методикою, запропонованою С.Г. Гичкою та іншими [2]. У спектрі ліпідів еритроцитів крові ідентифіковано 7 найінформативніших жирних кислот (ЖК), таких, як: міристинова ($C_{14:0}$), пальмітинова ($C_{16:0}$), стеаринова ($C_{18:0}$) – насичені; олеїнова ($C_{18:1}$), лінолева ($C_{18:2}$), ейкозатрієнова ($C_{20:3}$), арахідонова ($C_{20:4}$) – ненасичені.

Піки жирних кислот ідентифікували шляхом порівнювання з часом утримання піків стандартних жирних кислот. Кількісну оцінку жирних кислот ліпідів еритроцитів крові проводили, нормуючи площини та визначаючи частку кислот у відсотках. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра ліпідів еритроцитів крові в обстежених хворих з метаболічним синдромом та контролю наведено в таблиці 1.

Результати дослідження ліпідного спектра еритроцитів периферичної крові обстежених хворих з метаболічним синдромом свідчать про наявність порушень ліпідного обміну. Згідно з даними таблиці 1, у хворих з метаболічним синдромом мали місце достовірно підвищення вмісту міристинової ЖК ($C_{14:0}$), яка характеризувала порушення в ендокринній системі хворих наведеної групи, вірогідне зменшення вмісту стеаринової ЖК ($C_{18:0}$). Такі зміни співвідношення вмісту міристинової та стеаринової ЖК сприяли розвитку вірогідного зниження

рівня насиченості ліпідного комплексу еритроцитів.

Вміст ненасиченої олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) достовірно зменшений, що може бути зумовлено здатністю цієї кислоти відігравати роль вторинного посередника у звільненні Ca^{2+} , необхідного для активації фосфоліпази A_2 , яка є ключовим ферментом в ініціації синтезу ейкозаноїдів.

Зниження вмісту олеїнової ЖК можна також пояснити підвищенням використанням її для синтезу ейкозатрієнової ЖК, оскільки остання синтезується з олеїнової ЖК.

Вміст ейкозатрієнової ЖК у хворих з метаболічним синдромом вірогідно підвищений. Ейкозатрієнова ЖК у групі здорових осіб відсутня. Згідно з теорією В.Н. Тітова [12], вона є майже єдиною ПНЖК, яка може синтезуватися ендогенно з олеїнової ЖК. Синтез ейкозатрієнової ЖК – компенсаторна реакція на нестачу в організмі есенціальних жирних кислот. Проте ейкозаноїди, що синтезуються з ейкозатрієнової ЖК, мають ряд негативних впливів на мікроциркуляторне русло [1].

Такі зміни співвідношення вмісту олеїнової ЖК та ейкозатрієнової, арахідонової ЖК не вплинули на рівень ненасичених жирних кислот, але сприяли розвитку тенденції до його підвищення, що є прогностично несприятливим фактором розвитку ускладнень у даній категорії хворих. Зростання рівня ненасичених жирних кислот було маркером розвитку ускладнень, пов'язаних з атеросклерозом.

Рівень ПНЖК у хворих з метаболічним синдромом підвищувався за рахунок арахідонової ЖК. Це свідчило про порушення синтезу ейкозаноїдів на етапі утворення арахідонової ЖК [1].

Тенденція до збільшення рівня ненасичених жирних кислот мембран еритроцитів на

Таблиця 1 – **Зміни жирнокислотного спектра ліпідів еритроцитів у хворих з метаболічним синдромом**

| Назва ЖК | МС | Контроль |
|---------------------------|-----------|----------|
| | n=40 | n=20 |
| $C_{14:0}$ міристинова | 6,2±1,1* | – |
| $C_{16:0}$ пальмітинова | 30,9±0,4 | 33,6±0,8 |
| $C_{17:0}$ маргарінова | 2,1±0,1 | – |
| $C_{18:0}$ стеаринова | 7,2±0,2* | 17,6±0,6 |
| $C_{18:1}$ олеїнова | 13,2±0,3* | 20,5±0,9 |
| $C_{18:2}$ лінолева | 14,6±0,3 | 14,5±1,1 |
| $C_{20:3}$ ейкозатрієнова | 0,8±0,2* | – |
| $C_{20:4}$ арахідонова | 22,9±2,0* | 13,9±0,7 |
| Сума насичених ЖК | 46,4±1,8* | 51,2±1,4 |
| Сума ненасичених ЖК | 51,4±1,8 | 48,8±1,4 |
| Сума ПНЖК | 38,8±2,1* | 28,4±1,0 |

Примітка. * – вірогідні відмінності показників у хворих та груп контролю ($p < 0,05$).

фоні зростання рівня ПНЖК та зменшення вмісту насичених жирних кислот змінювала фізико-хімічні властивості плазматичної мембрани еритроцитів периферичної крові. Зміна структури та складу клітинних мембран сприяла підвищенню її мікрров'язкості, зниженню рухомості й змінам конформації інтегральних білків, рецепторів до інсуліну, інтерлейкінів, медіаторів [1].

Таким чином, у хворих з метаболічним синдромом відзначено вірогідне зниження рівня насичених жирних кислот, що може бути пов'язано з блокадою активного транспортування насичених жирних кислот до клітин за умов гіперінсулінемії та переключення на активацію пасивного транспортування жирних кислот [12].

Зростання рівня міристинової ЖК вказувало на порушення в ендокринній системі.

Зниження вмісту олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) зумовлено підвищенням її використанням для ініціації Ca^{2+} , необхідного для активації фосфоліпази A_2 – ключового ферменту в ініціації синтезу ейкозаноїдів.

Арахідонова ЖК, рівень якої значно збільшений у хворих з метаболічним синдромом, є попередником ейкозаноїдів (простагландини, простацикліни, тромбосани) та виділяється під впливом фосфоліпази A_2 .

Підвищений вміст арахідонової кислоти – сигнал для активації циклокси- та ліпоксигеназних ферментних каскадів. Метаболізм арахідонової ЖК за участю ліпоксигеназ сприяв продукції гідроксильного радикала, який проявляв сильну пошкоджувальну дію на біологічні мембрани. Активація циклоксигенази у

зоні ішемії пов'язана з продукцією вільних радикалів, які контролюють її роботу за механізмом зворотного зв'язку. Продукти оксигеназного метаболізму арахідонової ЖК – простагландини і лейкотрієни – проявляли імуномодельючу та вазоактивну дію, брали участь в альтерації кардіоміоцитів, що супроводжувалось генерацією вільних радикалів та розвитком запальної реакції, це мало важливе значення у розвитку метаболічного синдрому та його ускладнень. Таким чином, отримані дані вказують на активацію перекисного окиснення ліпідів, зміни жирнокислотного спектра ліпідів еритроцитів, підвищення гемостатичного потенціалу еритроцитів у розвитку метаболічного синдрому.

Зміни вмісту арахідонової та ейкозатрієнової ЖК еритроцитів свідчили про порушення синтезу ейкозаноїдів на етапі утворення арахідонової ЖК.

Таким чином, виявлені зміни жирнокислотного спектра ліпідів еритроцитів крові у пацієнтів з метаболічним синдромом можуть бути додатковими критеріями оцінки порушень ліпідного метаболізму.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих з метаболічним синдромом у жирнокислотному складі ліпідів еритроцитів спостерігаються зміни насиченості та ненасиченості ліпідного комплексу.

2. Виявлено характерні зміни ліпідного комплексу в еритроцитах крові хворих з метаболічним синдромом, які можуть бути діагностичним критерієм оцінки порушень ліпідного метаболізму, що потрібно враховувати при діагностуванні та розробці тактики комплексної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы, иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Брюзгина Т.С., Кравченко Э.Я., Дониш А.В. Газохроматографическое определение жирнокислотного состава фосфолипидов и уровня свободного холестерина из одной биологической пробы // Лаб. дело. – 1991. – № 9. – С. 18-19.
3. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестн. РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.
4. Гиріна О.М., Пилипчак О.М., Брюзгіна Т.С. Варіабельність жирнокислотних спектрів ліпопротеїдів як аварійна адаптація у хворих з постінфарктним кардіосклерозом (ПІК) // Доп. НАНУ. – 2002. – № 3. – С. 21-24.
5. Гиріна О.М., Пилипчак О.М., Брюзгіна Т.С. Варіабельність жирнокислотних спектрів у хворих з постінфарктним кардіосклерозом (ПІК) // Мед. хімія. – 2001. – № 5. – С. 15-18.
6. Гиріна О.М., Пилипчак О.М., Брюзгіна Т.С. Особливості співвідношень насичених і ненасичених жирних кислот у хворих з постінфарктним кардіосклерозом // Матеріали I Українського з'їзду сімейних лікарів. – Львів, 2001. – С. 154-156.
7. Гиріна О.Н., Пилипчак Е.М., Брюзгіна Т.С. Постинфарктный кардиосклероз и проблема старения // Материалы II Укр. науч.-практ. конф. с

международным участием "Ускоренное старение и пути его профилактики". – Одесса, 2001. – С. 191-193.

8. Колмаков В.Н., Парнов Б.С., Фомкин А.Я., Белозерова Л.Н. Показатель проницаемости эритроцитарных мембран в оценке функционального состояния эритроцитов // Теория и практика физ. культуры. – 1980. – №4. – С. 15.

9. Мітченко О.І. Патогенетичні основи метаболічного синдрому // Нова медицина. – 2004. – № 3. – С. 20-24.

10. Поберезкина Н.Б., Антоненко Л.И., Осинская Л.Ф. Показатели структуры и функции эритроцитарных мембран в ранней диагностике.

11. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. – М.: Медицина, 1987. – 192 с.

12. Титов В.Н. Резистентность к инсулину как блокада рецепторного поглощения миоцитами насыщенных жирных кислот в форме триглицеридов // Клинич. лаб. диагностика. – 2003. – № 11. – С. 3-9.

ОЦЕНКА ЛИПИДНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

О.Н. Гирина, О.О. Карлова, Т.С. Брюзгина

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов эритроцитов больных с метаболическим синдромом. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике для повышения эффективности диагностики заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метаболический синдром, липиды, жирные кислоты, эритроциты.

EVALUATION OF LIPID PARAMETERS OF ERYTHROCYTES AT PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

O.M. Hyrina, O.O. Karlova, T.S. Bryuzgina

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETZ

Summary

The results of gas chromatographic analysis of fatty-acid composition of erythrocyte lipids at patients with metabolic syndrome are adduced. The data obtained can be used in clinical practice with the purpose of increasing the efficacy of disease diagnostics.

KEY WORDS: metabolic syndrome, lipids, fatty acids, erythrocytes.

Адреса для листування: О.М. Гіріна, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, б-р. Т. Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна.

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ПРОТИВИРАЗКОВОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПОСОМАЛЬНОГО КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ГОСТРІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Л.М. Шеремета

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У досліджах на білих щурах вивчали ефективність ліпосомального кверцетину (ЛК) при гострій етанол-преднізолоновій виразці шлунка і порівнювали з еталонними антиоксидантами токоферолу – ацетатом і кверцетином. Отримані результати свідчать про здатність ЛК спричиняти профілактичну противиразкову дію за рахунок антиоксидантного та мембранопротективного впливу, що підтверджується даними біохімічних та морфогістологічних досліджень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: етанол-преднізолонова виразка, ліпосомальний кверцетин, противиразкова активність, антиоксидантна дія.

ВСТУП. Виразкова хвороба (ВХ) шлунка та дванадцятипалої кишки є одним з найбільш поширених захворювань травної системи. Згідно з даними світової статистики, від виразки шлунка і дванадцятипалої кишки страждає 6-10 % дорослого населення, а приблизно у половини з них протягом 5 років виникає загострення. У багатьох країнах до 40 % пацієнтів гастроентерологічного профілю страждають від ВХ [1] і щорічно кількість хворих з цією патологією збільшується [2]. Із сучасних позицій ВХ розглядають як поліетіологічне, генетично і патогенетично неоднорідне захворювання. Серед етіологічних факторів, що призводять до розвитку ВХ, важлива роль належить спадковості. На даний час провідну роль у реалізації спадкової схильності відводять інфекції *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) і нестероїдним протизапальним засобам.

У патогенезі виразкової хвороби велике значення мають процеси вільнорадикального окиснення (ВРО) та стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Результати досліджень свідчать про первинне виникнення гістоморфологічних порушень у СО гастродуоденальної ділянки, які призводять до посиленої генерації вільних радикалів. Ці зміни відбуваються на фоні зниження активності ферментів системи АОЗ, таких, як глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, церулоплазмину (ЦП), каталази, супероксиддисмутази [6]. Тривале надлишкове

© Л.М. Шеремета, 2007.

накопичення продуктів ПОЛ викликає ішемічне пошкодження СО гастродуоденальної зони [12]. При ішемії руйнується слизовий бар'єр, що призводить до ретроцифузії іонів H^+ , які безпосередньо пошкоджують епітелій [6]. Зворотна дифузія водневих іонів, стимулюючи розвиток внутрішньоклітинного ацидозу, сприяє утворенню тромбів у мікросудинах поверхневого шару СОШ. Ішемія супроводжується також значним зростанням активності ксантиноксидази – ферменту, що генерує кисневі радикали. Багато експериментальних та клінічних досліджень підтверджують активацію процесів ВРО при виразковій хворобі, що проявляється достовірним підвищенням рівня МДА, ДК, дієнокетонів, а також накопиченням кінцевих продуктів ПОЛ – основ Шиффа [9-11, 15]. Разом із тим, ряд вчених відмічають зниження активності ендогенної АОС, яке проявляється зменшенням як вмісту її неферментативних компонентів, так і активності ферментативної ланки [6, 8, 10]. Виразкові ураження шлунка можуть мати гострий або хронічний характер, але основні напрямки фармакотерапії при обох варіантах спрямовані на зменшення агресивності шлункового соку за рахунок зниження секреції ферментів, нейтралізації соляної кислоти та підвищення стійкості й захисту слизової оболонки шлунка і прискорення регенерації [1, 9, 11, 14, 15]. У зв'язку із цим, до схем комплексної терапії виразок включено препарати з антиоксидантною активністю [4, 5].

Враховуючи ліпооксигеназний механізм протизапальної дії кверцетину та антиоксидантні й протизапальні властивості ліпосом, ми визнали за доцільне дослідити ефективність ЛК при експериментальних виразкових ураженнях шлунка [4].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на білих рандобредних статевозрілих щурах обох статей масою 180-220 г. Як модель гострої виразки шлунка використали варіант виразкового пошкодження, викликаний комбінованим введенням спирту етилового та преднізолону [3]. Дана модель відтворюється у 100 % тварин, але є короткотривалою і дозволяє вивчити тільки профілактичну дію препаратів. Для оцінки антиульцерогенного ефекту ЛК (1 мг/кг маси тіла за кверцетином) його порівнювали з антиоксидантами, які застосовують у комплексному лікуванні ВХ, – кверцетином у гранулах, котрий вводили у шлунок в кількості 5 мг/кг, та токоферолу ацетатом, який вводили внутрішньом'язово в дозі 18 мг/кг. Для оцінки противиразкового впливу було розраховано інтегральні показники, що характеризують частоту утворення виразок у тварин і ступінь дистрофічних уражень СОШ та їх динаміку при застосуванні лікарських засобів, – виразковий індекс та противиразкову активність [3]. Досліджували вміст ДК і ТБК-АП сироватки крові за [13], гістоструктуру тканин шлунка за [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З 2 доби експерименту спостерігали погіршення загального стану тварин, який характеризувався адинамією, відсутністю апетиту, зменшенням реакцій на зовнішні подразники. Вживаність у групі нелікованих щурів становила 55 %. При розтині у всіх тварин цієї групи, що вижили, спостерігали глибокі й обширні ураження слизової шлунка з виразками різного діаметра, кількість виразок від 1 до 4, виражений набряк, гіперемію, порушення складчастості, ділянки некрозу, масивні крововиливи у СОШ.

Застосування ЛК призвело до зниження активності виразкового процесу, що прояви-

лось покращанням загального стану тварин та зменшенням глибини й обсягів пошкодження СОШ. У серії із застосуванням ЛК тільки 22 % щурів мали ерозивні ураження в ділянці малої кривизни шлунка, у 44 % спостерігали набряк слизової та поодинокі дрібні крововиливи, а у решти тварин видимих змін на слизовій не було відмічено, всі щури вижили (табл. 1).

У групі тварин, лікованих кверцетином у гранулах, звиразкування розвинулось у 66 %, кількість виразок становила від 1 до 3, а їх розміри були незначно меншими, ніж у нелікованих щурів; у 22 % слизова шлунка була набрякла та гіперемійована з нечисленними обширними крововиливами; в 11 % щурів слизова була без видимих змін. Усі тварини дожили до закінчення експерименту (див. табл. 1).

Вживаність тварин, лікованих токоферолом, теж складала 100 %. Звиразкування СОШ спостерігали у 55 % щурів, набряк слизової та поодинокі невеликі крововиливи відмічали у 22 %, у решти тварин змін на слизовій шлунка не було виявлено (див. табл. 1).

Виразковий індекс у тварин дослідних груп із гострими етанол-преднізолоновими виразками, що отримували лікування, достовірно відрізнявся від такого в нелікованих і був у 3,5 раза нижчим у щурів, що одержували ЛК, у 2 рази меншим у тварин, лікованих кверцетином у гранулах та токоферолом (рис. 1).

Статистично достовірною була також різниця у величині виразкового індексу між групою, що одержувала ЛК, та іншими лікованими групами тварин ($p < 0,05$; див. табл. 1, рис. 1). Противиразкову активність ЛК та препаратів порівняння розраховували за формулою [3] (рис. 2).

Усі препарати, використані в експерименті, сприяли покращанню стану СОШ та зменшенню деструкції. Але противиразкова активність ЛК була найвищою і становила 71 % ($p < 0,05$; див. рис. 2).

Дослідження активності процесів ПОЛ теж виявило відмінності у різних групах (табл. 2, рис. 3).

Так, у сироватці крові тварин контрольної групи, що не отримували лікування, кількість

Таблиця 1 – Показники макроскопічного вивчення дії ЛК та препаратів порівняння у тварин з етанол-преднізолоновою виразкою

| Групи тварин | Вживаність, % | Кількість тварин з виразками, % | Виразковий індекс |
|-------------------------------|------------------|---------------------------------|--------------------|
| Контрольна патологія | 55 | 100 | 2,1 |
| ЛК, 1 мг/кг | 100 ¹ | 22 ¹ | 0,6 ¹ |
| Токоферолу ацетат, 18 мг/кг | 100 ¹ | 55 ^{1,2} | 1,1 ^{1,2} |
| Кверцетин у гранулах, 5 мг/кг | 100 ¹ | 66 ^{1,2} | 1,3 ^{1,2} |

Примітка. 1 – $p < 0,05$ порівняно з контролем; 2 – $p < 0,05$ порівняно з лікованими ЛК.

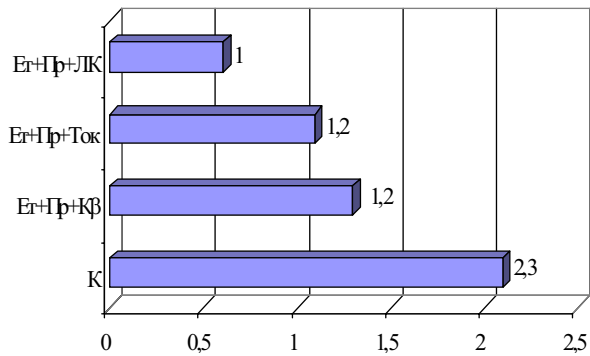


Рис. 1. Виражовий індекс у тварин із гострими етанол-преднізолонними виразками та при застосуванні ЛК і референс-препаратів.

Примітка. Et+Pr – етанол-преднізолон; К – контроль; ЛК – ліпосомальний кверцетин; Ток – токоферол; Кβ – кверцетин у гранулах; 1 – $p < 0,05$ порівняно з контролем; 2 – $p < 0,05$ порівняно з лікованими ЛК; 3 – $p < 0,05$ порівняно з іншими лікованими групами.

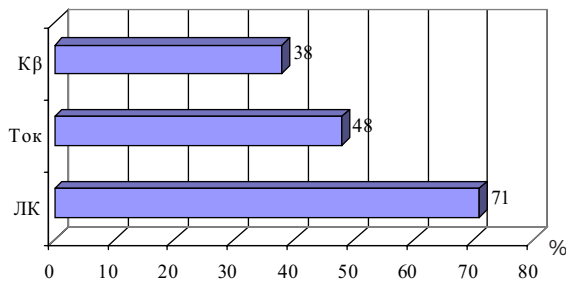


Рис. 2. Противиразкова активність ЛК та препаратів порівняння при гострій етанол-преднізолонній виразці шлунка.

ТБК-АП зросла на 10 % ($p < 0,05$), рівень ДК – на 28 % ($p < 0,05$).

У щурів з етанол-преднізолонною виразкою, лікованих ЛК, вміст первинних і кінцевих продуктів ПОЛ достовірно зменшувався порівняно з контрольними, а відносно показників інтактних тварин їх кількість зросла, відповідно, на 2 (ТБК-АП) та 7 % (ДК). Ці показники були також вірогідно нижчими, ніж у групах щурів, лікованих токоферолом і кверцетином у гранулах ($p < 0,05$; див. табл. 2, рис. 3). Вплив етанолних антиоксидантів токоферолу та кверцетину проявився зменшенням активності ліпідної пероксидації. Так, у сироватці крові

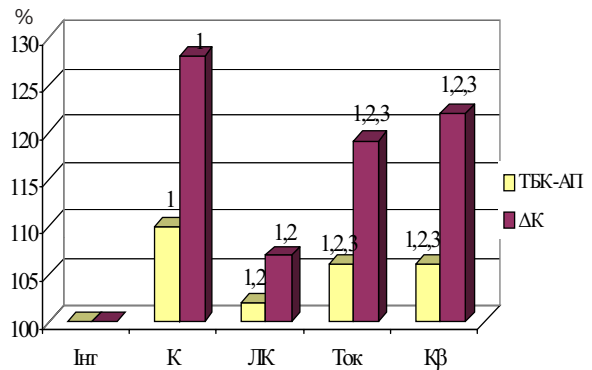


Рис. 3. Вплив ЛК та препаратів порівняння на вміст продуктів ПОЛ у сироватці крові тварин з етанол-преднізолонною виразкою.

Примітка. 1 – $p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами; 2 – $p < 0,05$ порівняно з контролем; 3 – $p < 0,05$ порівняно з лікованими ЛК. Int – інтактні тварини; К – контроль; ЛК – ліпосомальний кверцетин; Ток – токоферол; Кβ – кверцетин у гранулах.

тварин, що отримували токоферол, вміст ТБК-АП знизився на 4 % порівняно з контролем ($p < 0,05$), а ДК, відповідно, на 9 % ($p < 0,05$).

При лікуванні щурів з модельованою патологією кверцетином теж відмічали зменшення активності процесів ПОЛ, яке достовірно відрізнялось від показників як інтактних, контрольних, так і лікованих ЛК тварин ($p < 0,05$; див. рис. 2).

Таким чином, змінюючи активність пероксидації ліпідів введенням антиоксидантів ззовні, можна впливати на клітинну проліферацію і, тим самим, на інтенсивність загоєння виразкового дефекту.

Вивчення гістологічної структури шлунків тварин підтвердило дані, отримані при макроскопічних дослідженнях, і корелювало з показниками, наведеними вище. При мікроскопічному дослідженні шлунків щурів з етанол-преднізолонною виразкою відмічали нерівномірну товщину СОШ – від 0,5 до 0,9 мм, дифузну інфільтрацію переважно сегментоядерними та еозинофільними лейкоцитами, яка була найбільш виражена над власною м'язовою пластинкою СОШ. У м'язовій оболонці також відзначали багато розширених

Таблиця 2 – Окремі показники активності процесів ПОЛ у тварин з етанол-преднізолонною виразкою та при застосуванні лікарських засобів

| Показники | Групи тварин | | | | |
|-----------------|--------------|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Інтактні | Контроль (етанол + преднізолон) | Етанол+ преднізолон+ЛК | Етанол+ преднізолон+ токоферол | Етанол+ преднізолон+ кверцетин |
| ТБК-АП, нмоль/л | 0,52±0,007 | 0,57±0,01 ¹ | 0,528±0,004 ^{1,2} | 0,555±0,01 ^{1,2,3} | 0,56±0,008 ^{1,2,3} |
| ДК, ммоль/л | 0,361±0,01 | 0,46±0,006 ¹ | 0,393±0,02 ^{1,2} | 0,43±0,01 ^{1,2,3} | 0,438±0,01 ^{1,2,3} |

Примітка. 1 – достовірно порівняно з інтактними; 2 – достовірно порівняно з контролем; 3 – достовірно порівняно з лікованими ЛК.

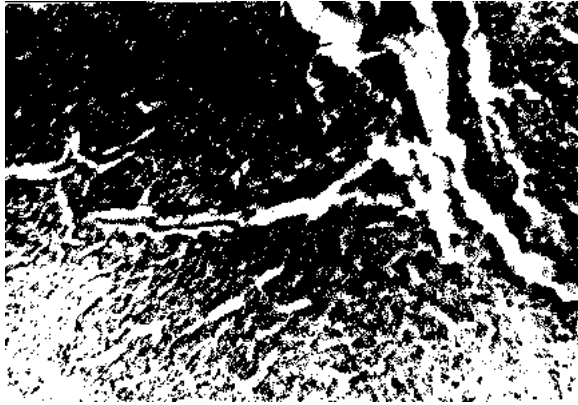


Рис. 4. Шлунок щура з етанол-преднізолоновою виразкою. Зафарбовування гематоксиліном та еозином. Зб.: ок. 20 x об. 8.

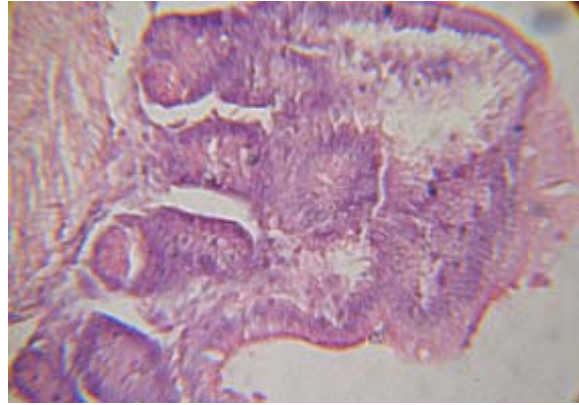


Рис. 5. Шлунок щура з етанол-преднізолоновою виразкою при лікуванні ЛК. Зафарбовування гематоксиліном та еозином. Зб.: ок. 40 x об. 10.

повнокровних судин. У всіх тварин даної групи спостерігали ерозії, а подекуди глибокі виразки, що поширювалися до м'язової оболонки (рис. 4). Дно ерозій та виразок утворене шаром фібриноідного некрозу.

Аналіз гістологічних зрізів СОШ тварин, які отримували лікування ЛК, показав, що товщина слизової оболонки рівномірною і дорівнювала 0,75 мм. У стінці шлунка відмічали епітелізацію дефектів слизової оболонки за рахунок проліферації залоз з явищами гіперплазії і деформації. У підслизовій основі СОШ – вогнищевий фіброз (рис. 5).

ВИСНОВКИ. 1. ЛК у дозі 1 мг/кг за кверцетином проявляє виражену профілактичну противиразкову дію на моделі етанол-преднізолонової виразки і сприяє значному зменшенню летальності тварин.

2. Противиразкова активність ЛК на даній моделі патології становила 71 % і була найвищою порівняно з використаними в експерименті референс-препаратами.

3. ЛК завдяки антиоксидантній дії пригнічує активність процесів ліпопероксидації, сприяє відновленню (збереженню) структури мембран епітеліальних клітин шлунка, чим зменшує об'єм уражень СОШ.

4. Противиразкова ефективність ЛК достовірно вища за активність еталонних антиоксидантів, взятих за препарати порівняння, що дозволяє розширити показання до його застосування і використовувати у складі комплексної терапії ВХ.

Перспективи подальших досліджень – планується розробити рекомендації для клінічного дослідження ЛК за новими показаннями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я., Фадеєнко Г.Д. Фармакотерапія пептичних язв желудка и двенадцатиперстной кишки. – Харьков: Основа, 1997. – 240 с.
2. Василюшин Р.И. Статистический анализ распространенности язвенной болезни желудка по данным анкетирования // Вісник проблем біол. і мед. – 1999. – Вип. 2. – С. 42-44.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001 – С. 321-333.
4. Дроговоз С.М., Сайфеддін М.С., Куценко Т.О., Щокіна К.Г. Експериментальне обґрунтування раціонального вибору антиоксидантів для лікування гострого виразкового ураження шлунка // Вісник фармації. – 2004. – № 2 (38). – С. 55-57.
5. Звартау Э.Э., Рысс Е.С. Фармакотерапія

- гастроудоденальных язв. – С.Пб.: Наука, 1992. – 174 с.
6. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., Дахер Джордж М. Патогенетические механизмы липопероксидации и антирадикальной защиты в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – № 1 (7). – С. 49-51.
7. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Ленинград: Медицина, 1969. – 422 с.
8. Мягкова Л.П., Склянская О.А., Лапина Т.Л. и др. Характер репарации слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни // Клин. медицина. – № 5. – 1997. – С. 21-25.
9. Нейко Є.М., Бабенко О.І. Корекція розладів антиоксидантної системи при виразковій хворобі два-

надцятипалої кишки за допомогою біоспорину // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – № 2 (8). – С. 98.

10. Опарін А.Г., Опарін О.А., Благовещенська О.В. та ін. Активність антиоксидантної системи у пацієнтів з виразкою дванадцятипалої кишки залежно від обмінення слизової оболонки *Helicobacter pylori* // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – № 2 (8). – С. 99.

11. Пасиешвили Л.М., Бобро Л.Н. Использование вермилата в комплексной терапии язвенной болезни // Клін. фармація. – 2000. – 4, № 4. – С. 68.

12. Петров Е.Е. Антиоксидантная обеспеченность организма и перекисное окисление липидов у больных язвенной болезнью желудка и двенад-

цятиперстной кишки // Лікарська справа. – 1996. – № 7-9. – С. 13-17.

13. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68, 63-64.

14. Шаробаро В.И. Клинические особенности заболевания, психологические изменения личности и активности антиоксидантной системы у больных язвенной болезнью // Клін. медицина. – 2001. – № 5. – С. 39-40.

15. Яковлева Л.В., Сахарова Т.С., Бунятян Н.Д., Чікіткіна В.В. Перекисне окислення ліпідів та антиоксиданти при виразковій хворобі шлунка // Клініч. фармація. – 1999. – 3, № 1. – С. 27-29.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ПРОТИВОЯЗВЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КВЕРЦЕТИНА ПРИ ОСТРОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Л.М. Шеремета

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В опытах на белых крысах изучали эффективность липосомального кверцетина (ЛК) при острой этанол-преднизолоновой язве желудка и сравнивали с эталонными антиоксидантами токоферола – ацетатом и кверцетином. Полученные результаты свидетельствуют о профилактическом противоязвенном действии ЛК за счет антиоксидантного и мембранопротективного влияния, которое подтверждается данными биохимических и морфогистологических исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: этанол-преднизолоновая язва, липосомальный кверцетин, противоязвенная активность, антиоксидантное действие.

RESEARCH OF PROPHYLACTIC ANTIULCEROUS ACTIVITY OF LIPOSOMAL QUERCETIN AT EXPERIMENTAL ACUTE GASTRIC ULCER

L.M. Sheremeta

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The trial was performed on white rats to study an efficacy of liposomal quercetin (LQ) at acute gastric ulcer induced by alcohol and prednisolone compared to the standard antioxidants of tocopherol – acetate and quercetin. The prophylactic antiulcerous activity of LQ due to the antioxidant and membrane protective influencing was shown which is confirmed by biochemical and hystological indexes.

KEY WORDS: alcohol-prednisolone induced ulcer, liposomal quercetin, antiulcerous activity, antioxidant action.

Адреса для листування: Л.М. Шеремета, Івано-Франківський державний медичний університет, вул. Галицька, 2, 76000, Україна.

ВИВЧЕННЯ УМОВ КОНДЕНСАЦІЇ КНЕВЕНАГЕЛЯ МАЛОНОДИНІТРИЛУ ТА ЦІАНООЦТОВОГО ЕФІРУ ЯК ПОПЕРЕДНЬОЇ СТАДІЇ СИНТЕЗУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Амжад абу Шарк, Г.І. Гашко, В.А. Георгіянц, Л.О. Перехода
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

У результаті взаємодії ароматичних альдегідів з малондинітрилом та етилціаноацетатом різними способами синтезовано іліденохідні етилціаноацетату та малондинітрилу. При дослідженні було використано класичні умови конденсації Кневенагеля (у середовищі бензолу з азеотропною відгонкою води). Крім того, запропоновано препаративну методику синтезу іліденохідних у водному середовищі. Порівняння виходів синтезованих речовин підтвердило перспективність даної методики. Крім цього, вона дозволяє уникнути використання токсичного розчинника та додаткового обладнання. Будову синтезованих сполук доведено методами УФ-, ІЧ-, ЯМР ¹H-спектроскопії та даними елементного аналізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез, малондинітрил, етилціаноацетат, конденсація Кневенагеля, ЯМР ¹H-спектроскопія.

ВСТУП. Іліденохідні метиленактивних сполук – важливі напівпродукти для отримання різноманітних речовин, що проявляють широкий спектр біологічної активності [1]. Аналіз вітчизняних та зарубіжних джерел літератури свідчить про те, що саме вони є субстратами для синтезу багатьох карбо- та гетероциклічних похідних, а саме: циклопентану та циклопропану [8, 12], гідропіридину [17], піридин-2-халькогенонів [4], піразолу, піразолопіридину, піразоло- та піранохіноліну [10, 15], бензопірану [7] та інших.

У ході попередніх досліджень, проведених на кафедрі фармацевтичної хімії НФаУ [1], було доведено, що іліденохідні бензиламіду ціанооцтової кислоти є перспективними не тільки як напівпродукти в подальшому синтезі, а також як самостійні біологічно активні речовини протисудомної дії. Імовірно, це зумовлено, поперше, участю метиленової групи у біохімічних реакціях, а по-друге – спорідненістю з організмом.

Висока реакційна здатність іліденохідних малондинітрилу та етилціаноацетату зумовлена наявністю в їх структурах декількох реакційних центрів. Для них характерні реакції за нітрильними групами, реакції приєднання, що проходять за ненасиченим подвійним зв'язком, а також реакції, які одночасно перебігають по

обох групах, у тому числі ті, що супроводжуються замиканням циклу. Все вищезазначене пояснює різнобічний інтерес вчених різних країн до цієї хімічної групи сполук.

Головним, майже універсальним способом отримання іліденохідних є конденсація Кневенагеля. За класичною методикою її проводять у середовищі бензолу з одночасною азеотропною відгонкою води та використанням слабких органічних основ як каталізаторів [2].

Згідно з даними літератури, умови здійснення конденсації Кневенагеля варіюють у широких межах. Традиційно для проведення цієї реакції використовують каталізатори, номенклатура яких за останні роки значно збільшилась. Застосовують слабкі органічні основи (піперидин, морфолін, триетиламін) [2], кислоти Льюїса [9], фториди цинку та цезію [5], суміші калію фториду та алюмінію оксиду [14], тетрабутиламонію гідроксид [6], AsONH₄ [13], Sm/I₂ [8]. Новими та перспективними умовами реалізації конденсації Кневенагеля є проведення її без розчинника під дією мікрохвильового випромінювання [16]. Однак кожен із варіантів проведення цієї реакції має ряд недоліків, а саме: складність виконання, необхідність використання спеціальної апаратури, робота з токсичними розчинниками, не досить високі виходи продуктів реакції та пряма залежність вибору умов проведення конденсації від властивостей і хімічної будови метилен-

© Амжад абу Шарк, Г.І. Гашко, В.А. Георгіянц, Л.О. Перехода, 2007.

активних сполук. Тому актуальним залишається вдосконалення умов проведення даної реакції. З цього приводу нас зацікавило повідомлення індійських вчених [11] про можливість здійснення конденсації Кневенагеля без використання органічних розчинників та каталізаторів.

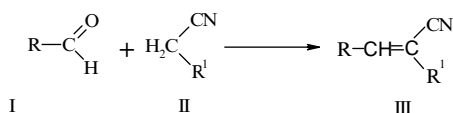
Нами, з метою поширення кола іліденопохідних та подальшого поглибленого вивчення залежності умов проведення та перебігу реакції від вихідних продуктів, проведено серію експериментів з удосконалення способів їх отримання.

Реакція Кневенагеля є різновидом реакцій конденсації – тобто приєднання карбаніону до карбонільної сполуки (або іншого нуклеофілу) з наступним відщепленням води [2]. Кислотність атома водню, що міститься в метиленовій групі сполуки II, дуже висока, тому припинити реакцію на цій стадії та виділити проміжний продукт неможливо. Відбувається відщеплення молекули води з утворенням продукту альдольного приєднання.

Відомо, що в ряді метиленактивних сполук – малондинітрил, етилціаноацетат, етилмалонат, маленова кислота – здатність утворювати карбаніон зменшується. Цікавим є той факт, що лише у разі використання як метиленової компоненти малондинітрилу додавати каталізатор немає необхідності. Ймовірно, молекула малондинітрилу легше депротонується, оскільки його метиленова група знаходиться між двома симетричними електроноакцепторними групами [2]. Утворений карбаніон стабілізується завдяки делокалізації негативного заряду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Цільові продукти нами отримані двома способами: у воді при кімнатній температурі (спосіб А) та в бензолі з азеотропною відгонкою води (спосіб Б).

Альдольне приєднання між ароматичними альдегідами (I) та малондинітрилом і етилціаноацетатом (II) проходить за схемою 1:



R=C₆H₅, C₆H₄-OCH₃(4), C₆H₄-OH(4), C₆H₅-CH=CH-, C₆H₄-Cl(4), фурил(2), C₆H₄-F(4), C₆H₄-CH₃(4), C₆H₄-N(CH₃)₂(4); R'=CN, COOC₂H₅

Схема 1.

Присутність органічної основи як каталізатора необхідна для створення додаткового центру основності, наявність якого значно полегшує утворення інтермедіату реакції – карбаніону.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Було досліджено і проаналізовано переваги та недоліки обох методів. Достатньо високі виходи кінцевих продуктів, які є досить чистими, що дозволяє використовувати їх у подальших реакціях без додаткового очищення, застосування нетоксичного та доступного розчинника, проведення реакції без нагрівання та використання спеціальної апаратури надають переваги методу А над усіма методами синтезу іліденопохідних, які традиційно застосовують, у тому числі й над методом Б. Як і слід було очікувати, необхідною умовою проведення конденсації Кневенагеля з ціанооцтовим ефіром є присутність каталізатора.

Синтезовані сполуки після перекристалізації з етанолу є безбарвними кристалічними речовинами з чіткими температурами плавлення (табл. 1).

Ідентичність отриманих сполук даній структурі дозволила довести хід синтезу та спектральні характеристики. Змішана проба речовин, одержаних різними способами, не дає депресії температури плавлення.

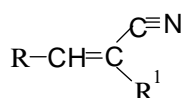
З метою доведення будови отриманих сполук III (а-л) використовували методи УФ-, ІЧ- та ЯМР ¹H-спектроскопії [3], чистоту довели методом тонкошарової хроматографії.

Характер УФ-спектрів іліденопохідних етилціаноацетату та малондинітрилу зумовлений спряженням двох сильних хромофорів – бензольного кільця ароматичного альдегіду та ненасиченого зв'язку і характеризується наявністю одного максимуму високої інтенсивності в ділянці λ=240-325 нм (табл. 1).

Аналіз ІЧ-спектрів показав наявність в усіх отриманих сполуках III (а-л) нітрильної групи, про що свідчить низькоінтенсивна смуга поглинання при 2100-2200 см⁻¹. Смуги валентних коливань при 3000-3100 см⁻¹ дозволяють розпізнати ароматичний цикл. Смуга валентних коливань близько 1600 см⁻¹ характеризує наявність у молекулі C=C зв'язку.

Як видно з таблиці 2, в спектрах ЯМР ¹H-сполук (III а-л) присутні всі необхідні сигнали атомів гідрогену. Протони метинової групи при подвійному зв'язку проявляються на спектрах у вигляді синглету в ділянці 8,10-8,30 м.ч., сигналам ароматичних протонів відповідають мультиплети в ділянці 7,40-8,15 м.ч. Сигнали протонів замісників у бензиліденових залишках сполук III (а-л) легко інтерпретуються відповідно до їх хімічних зсувів та мультиплетності. Спектри гетериліденопохідних (III е, й) відрізняються від спектрів ариліденопохідних (III а-д, е-ї, к-л) тільки у ділянці резонансу ароматичних протонів.

Таблиця 1 – Виходи, температури плавлення, дані елементного аналізу, R_f та УФ-спектри синтезованих іліденохідних малонодінітрилу й етилціаноацетату загальної формули



| Сполука | R | R ¹ | Вихід, % | | Т. пл., °С | Кількість азоту, % | | Брутто-формула | R_f | λ_{\max} , нм |
|---------|--|----------------|----------|----------|------------|--------------------|----------|---|-------|-----------------------|
| | | | Спосіб А | Спосіб Б | | вираховано | знайдено | | | |
| IIIa | C ₆ H ₅ | CN | 95 | 85 | 80-82 | 18,15 | 18,17 | C ₁₀ H ₆ N ₂ | 0,58 | 310 |
| IIIб | C ₆ H ₄ -OCH ₃ (4) | CN | 94 | 83 | 96-98 | 15,19 | 15,21 | C ₁₁ H ₈ N ₂ O | 0,59 | 300 |
| IIIв | C ₆ H ₄ -OH (4) | CN | 93 | 82 | 186-188 | 16,49 | 16,50 | C ₁₀ H ₈ N ₂ O | 0,56 | 310 |
| IIIг | C ₆ H ₅ -CH=CH- | CN | 87 | 75 | 126-128 | 15,53 | 15,55 | C ₁₂ H ₈ N ₂ | 0,55 | 340 |
| IIIд | C ₆ H ₄ -Cl (4) | CN | 94 | 84 | 160-162 | 18,16 | 18,18 | C ₁₀ H ₅ N ₂ Cl | 0,56 | 315 |
| IIIе | Фурил (2) | CN | 87 | 74 | 70-72 | 19,42 | 19,44 | C ₈ H ₄ N ₂ O | 0,57 | 330 |
| IIIє | C ₆ H ₅ | COOEt | 94 | 83 | 62-64 | 6,95 | 6,97 | C ₁₂ H ₁₁ NO ₂ | 0,55 | 310 |
| IIIж | C ₆ H ₄ -OCH ₃ (4) | COOEt | 94 | 82 | 82-84 | 6,05 | 6,08 | C ₁₃ H ₁₃ NO ₃ | 0,58 | 305 |
| IIIз | C ₆ H ₄ -OH (4) | COOEt | 89 | 79 | 136-138 | 6,44 | 6,46 | C ₁₂ H ₁₁ NO ₃ | 0,56 | 315 |
| IIIи | C ₆ H ₅ -CH=CH- | COOEt | 87 | 78 | 74-76 | 6,15 | 6,17 | C ₁₄ H ₁₃ NO ₂ | 0,56 | 345 |
| IIIі | C ₆ H ₄ -Cl (4) | COOEt | 92 | 81 | 96-98 | 5,93 | 5,95 | C ₁₂ H ₁₀ NO ₂ Cl | 0,58 | 310 |
| IIIї | C ₆ H ₄ -F (4) | COOEt | 94 | 83 | 92-94 | 6,38 | 6,40 | C ₁₂ H ₁₀ NO ₂ F | 0,59 | 310 |
| IIIй | Фурил (2) | COOEt | 85 | 74 | 94-96 | 7,32 | 7,34 | C ₁₀ H ₆ NO ₃ | 0,57 | 340 |
| IIIк | CH ₃ (4) | COOEt | 92 | 81 | 98-100 | 6,15 | 6,17 | C ₁₃ H ₁₃ NO ₂ | 0,56 | 310 |
| IIIл | C ₆ H ₅ N(CH ₃) ₂ (4) | COOEt | 93 | 82 | 108-110 | 11,46 | 11,48 | C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂ | 0,56 | 320 |

Примітка. Значення R_f наведено в системі "бутанол – концентрована оцтова кислота – вода" (40:10:1).

Таблиця 2 – Спектри ЯМР ¹H-синтезованих іліденохідних малонодінітрилу та етилціаноацетату

| Сполука | Ar-H | CH=C, с 1H | CH ₂ CH ₃ | CH ₂ CH ₃ | Сигнали протонів інших функціональних груп |
|---------|---|------------|---------------------------------|---------------------------------|--|
| IIIa | 7,60-7,90, м, 5H | 8,50 | - | - | - |
| IIIб | 7,95-8,15, м, 4H | 8,13 | - | - | 3,75-3,80, с, 3H (OCH ₃) |
| IIIв | 7,80-8,10, м, 4H | 8,10 | - | - | 10,6, с, 1H (OH) |
| IIIг | 7,2-8,15, м, 7H (C ₆ H ₅ -CH=CH-) | 8,10 | - | - | - |
| IIIд | 7,95-8,05, м, 4H | 8,09 | - | - | - |
| IIIе | - | 8,30 | - | - | 6,0-7,40, м, 3H (фурил) |
| IIIє | 7,6-8,0, м, 5H | 8,40 | 4,3-4,4, м, 2H | 1,2-1,3, м, 3H | - |
| IIIж | 7,2-8,1, м, 4H | 8,30 | 4,2-4,4, м, 2H | 1,2-1,3, м, 3H | 3,75-3,80, с, 3H (OCH ₃) |
| IIIз | 7,4-8,2, м, 4H | 8,10 | 4,1-4,3, м, 2H | 1,3-1,4, м, 3H | 10,9, с, 1H (OH) |
| IIIи | 7,2-8,15, м, 7H (C ₆ H ₅ -CH=CH-) | 8,20 | 4,0-4,3, м, 2H | 1,2-1,4, м, 3H | - |
| IIIі | 7,1-8,0, м, 4H | 8,15 | 4,2-4,4, м, 2H | 1,3-1,5, м, 3H | - |
| IIIї | 7,2-8,2, м, 4H | 8,20 | 4,1-4,3, м, 2H | 1,2-1,4, м, 3H | - |
| IIIй | - | 8,10 | 4,2-4,4, м, 2H | 1,2-1,4, м, 3H | 6,9-7,5, м, 3H (фурил) |
| IIIк | 7,4-7,9, м, 4H | 8,40 | 4,2-4,4, м, 2H | 1,2-1,4, м, 3H | 2,25-2,35, с, 3H (CH ₃) |
| IIIл | 7,0-7,8, м, 4H | 8,20 | 4,15-4,30, м, 3H | 1,2-1,4, м, 3H | 3,05-3,15, с, 6H (N(CH ₃) ₂) |

УФ-спектри синтезованих сполук знято на приладі "Specord-M-40" в етанолі в межах концентрацій від $1 \cdot 10^{-5}$ до $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. ІЧ-спектри одержаних сполук записано на приладі "Specord-M-80" в таблетках KBr, концентрація

речовини – 1 %. Спектри ЯМР ¹H-синтезованих речовин знято на пристрої Bruker DRX500", розчинник – ДМСО – d₆, внутрішній стандарт – тетраметилсилан (ТМС). Хімічні зсуви наведено у шкалі δ (м.ч.).

R_f визначали на платівках "Silufol UV-254" в системі "бутанол – концентрована оцтова кислота – вода" (40:10:1), проявник – пари йоду. Речовини наносили на платівки для хроматографування у вигляді 0,1 % розчину в етанолі в кількості 0,01 мл (10 мкг).

Отримання бензиліденмалонодинітрилу III а (спосіб А). 1,25 г (0,02 моль) малонодинітрилу розчиняють у 50 мл води та додають 2 мл (0,02 моль) бензальдегіду. Змішують протягом 1 год за допомогою магнітної мішалки та залишають реакційну суміш на 12 год. Осад, який утворився, відфільтровують, промивають водою, висушують. Кристалізують з етанолу. Вихід – 2,82 г (95 %). Т. пл. – 80-82 °С.

Сполуки III (б-е) отримано аналогічно.

Отримання бензиліденмалонодинітрилу III а (спосіб Б). До 35 мл бензолу додають 1,25 г (0,02 моль) малонодинітрилу, 2 мл (0,02 моль) бензальдегіду та 2 краплі піперидину. Кип'ятять впродовж 3 год зі зворотним холодильником. Потім холодильник знімають та кип'ятять до повного випаровування води та часткового випаровування розчинника. Потім додають 100 мл води. Осад, який утворився, відфільтровують, промивають водою, висушують. Кристалізують з етанолу. Вихід – 2,55 г (85 %). Т. пл. – 62-64 °С.

Сполуки III (а-р) отримано аналогічно.

Змішана проба речовин, одержаних різними способами, не дає депресії температури плавлення.

Отримання 4-метоксибензиліденетилціаноацетату III ж (спосіб А). До 50 мл води додають 2 мл (0,02 моль) етилціаноацетату, 2,4 мл (0,02 моль) 4-метоксибензальдегіду та 2 краплі піперидину. Змішують протягом 2 год за допомогою магнітної мішалки та залишають реакційну суміш на добу. Осад, який утворився, відфільтровують, промивають водою, висушують. Кристалізують з етанолу. Вихід – 4,30 г (94 %). Т. пл. – 82-84 °С.

Сполуки III (є-л) отримано аналогічно.

Спосіб Б – аналогічно синтезу III а.

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено проведення конденсації Кневенагеля малонодинітрилу та етилціаноацетату з ароматичними альдегідами за різних умов.

2. Встановлено, що конденсація Кневенагеля з високим виходом перебігає у водному середовищі без каталізатора при використанні малонодинітрилу та з додаванням піперидину для похідних ціанооцтового ефіру. Порівняння виходів синтезованих сполук дозволяє рекомендувати дану методику як препаративну.

3. Будову синтезованих сполук доведено методами УФ-, ІЧ-, ЯМР ¹H-спектроскопії, даними елементного аналізу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абу Шарк А., Перехода Л.А., Гашко Г.А. Синтез іліденпохідних бензиламідів ціанооцтової кислоти як аналогів біологічно активних сполук // Вісн. фарм. – 2005. – № 1 (41). – С. 15-18.
2. Агрономов А.Е. Избранные главы органической химии: Учебное пособие для вузов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Химия, 1990. – 560 с.
3. Браун Д., Флойд А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – 300 с.
4. Кривоколисцо С.Т., Дяченко В.Д. Синтез 4-изобутил-5-оксо-3-циано-1,4,5,6,7,8-гексагидрохинолин-2-тиола и его алкилирование // ХГС. – 1999. – № 2. – С. 230.
5. Слета Л.А. Химия: Справочник. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1997. – 450 с.
6. Balalaie S., Bararjanian M. Tetra-n-butylammonium Hydroxide-Catalyzed Knoevenagel Condensation // Synth. Commun. – 2006. – **36**, № 4. – P. 533-539.
7. Celtique S.A., Konkoy Christopher S., Fick David B. Substituted 5-oxo-5, 6, 7, 8-tetrahydro-4H-1-benzopyrans // РЖХім. – 2005. – № 18. – P. 19-21.
8. Chen Jue, Zhang Yong-min. Reductive cyclo-

dimerization of arylmethylidenemalononitriles promoted by samarium and catalytic amount of iodine // J. Zhejiang Univ. Sci.: An international journal. – 2004. – № 2. – P. 218-221.

9. Degussa A., Bongon M. FeCl₃-katalysierte Kondensation von maloneesterderivaten mit aromatischen aldehyden // РЖХім. – 2003. – № 8. – P. 19-20.

10. Metwally N., Fathy Abdelrazek M. Reaction of anthranilonitrile with some active methylene reagents: synthesis of some new quinoline and quinazoline derivatives // Synth. Commun. – 2005. – **35**, № 18. – P. 2481-2487.

11. Mohit L., Deb and Pulak J. Bhuyan. Uncatalysed Knoevenagel condensation in aqueous medium at room temperature // Tetrahedron Lett. – 2005. – **46**. – P. 6453-6456.

12. Shestopalov A., Rodinovskaya L., Zlotin S. A convenient one-pot synthesis of substituted 1,1-dicyanocyclopropanes from sulfonium salts, malononitrile, and carbonyl compounds // Synlett. – 2003. – № 15. – P. 2309-2312.

13. Tu Shu-Jian, Rong Lian-Ce, GaoYuan. Твердофазний синтез арилметиленималононитрила і арилметилениціаноацетамида // Chin. J. Org.

Chem. – 2002. – **22**, № 5. – P. 364-366.

14. Wang Xian-Shan, Shi Da-Qung, Yu Hui-Zhen. Synthesis of 2-amonochromene derivatives // Synth. Commun. – 2004. – **34**, № 3. – P. 509-514.

15. Wang Xian-Shan, Zeng Zhao-Sen., Shi Da-Qing. Изучение реакции арилметилденмалонитрилов с 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-онов // Chin. J. Org. Chem. – 2004. – № 12. – P. 1515-1597.

16. Yadan S., Reddy Bassi V., Basak Ashok K.

Phosphane-catalyzed koevenagel condensation: a facile synthesis of α -cyanoacrylates and α -cyanoacrylonitriles // Eur. J. Org. Chem. – 2004. – № 3. – P. 546-551.

17. Zang Z., Gao J., Xia J.J. Solvent-free mechanochemical and one-pot reductive benzylizations of malononitrile and 4-methylaniline using Hantzsch 1,4-dihydropyridine as the reductant // Org. Biomol. Chem. – 2005. – **3**, № 9. – P. 1617-1619.

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ КОНДЕНСАЦИИ КНЕВЕНАГЕЛЯ МАЛНОДИНИТРИЛА И ЦИАНОУКСУСНОГО ЭФИРА КАК ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ СТАДИИ СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Амжад абу Шарк, А.И. Гашко, В.А. Георгиянц, Л.А. Перехода
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

В результатах взаимодействия ароматических альдегидов с малонодинитрилом и этилцианоацетатом разными способами синтезированы илиденпроизводные этилцианоацетата и малонодинитрила. При исследовании были использованы классические условия конденсации Кневенагеля (в среде бензола с азеотропной отгонкой воды). Кроме того, предложена препаративная методика синтеза илиденпроизводных в водной среде. Сравнение выходов синтезированных веществ подтвердило перспективность данной методики. Кроме этого, она позволяет избежать использования токсического растворителя и дополнительного оборудования. Строение синтезированных соединений доказано методами УФ-, ИК-, ЯМР ^1H -спектроскопии и данными элементного анализа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез, малонодинитрил, этилцианоацетат, конденсация Кневенагеля, ЯМР ^1H -спектроскопия.

STUDY OF KNOEVENAGEL CONDENSATION CONDITIONS FOR MALONODINITRILE AND CYANOACETIC ETHER AS PRELIMINARY STAGE OF SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Amjad Abu Shark, H.I.Hashko, V.A. Georgiyants, L.O. Perekhoda
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Yliden derivatives of ethyl cyanoacetate and malonodinitril by interaction of aromatic aldehydes with malonodinitrile and ethyl cyanoacetate in different conditions have been synthesized. For research were used the classic terms of Knoevenagel condensation (in the medium of benzol with azeotrop delete water). In addition, the preparative method of synthesis of yliden derivatives in water environment has been offered. The comparison of outputs of synthesized matters confirmed the perspectiveness of this method. Besides, it allows to avoid the use of toxic solvent and additional equipment. The structure of the substances synthesized has been proved by the UV-, IR-, NMR-spectroscopy methods and data of element analysis.

KEY WORDS: synthesis, malonodinitrile, ethyl cyanoacetate, Knoevenagel condensation, NMR ^1H -spectroscopy.

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

ВПЛИВ ТРИПТОФАНУ НА ВМІСТ НЕЙРОМЕДІАТОРІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ РІЗНИМ РІВНЕМ СУДОМНОЇ ГОТОВНОСТІ

Л.Д. Попова

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Досліджено вплив перорально введеного триптофану на вміст глутамату, аспартату, ГАМК та гліцину в головному мозку щурів із різним рівнем судомної готовності. Встановлено, що ефекти триптофану на вміст ГАМК залежали від вихідного рівня судомної готовності, на вміст аспартату, глутамату та гліцину – практично збігались. Виявлено усунення різниці між групами за всіма досліджуваними параметрами, за винятком глутамату та гліцину в мозочку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: триптофан, глутамат, аспартат, гліцин, ГАМК, судомна готовність.

ВСТУП. Згідно з даними літератури [7, 8], використання L-триптофану при лікуванні епілепсії дає позитивний терапевтичний ефект. Дози, що використовувались, коливались у межах від 0,1-0,125 г 3 рази на добу протягом 20 днів [7] до 1 г 3 рази на добу протягом тижня [8], тобто від 5,4 до 43-50 мг/кг маси на добу. Як вважають Е.М. Gal, Р.В. Young, А.Д. Sherman [16], оптимальна доза триптофану для підвищення рівня серотоніну в мозку – 25 мг на 1 кг маси тіла. Можливо, терапевтичний ефект триптофану реалізується не за рахунок підвищення рівня серотоніну в головному мозку, а через кінуреніновий шлях метаболізму триптофану. Це припущення підтверджується отриманими нами результатами, які свідчать про залежність ефектів метаболітів кінуренінового шляху триптофану на різні медіаторні системи від рівня вихідної судомної готовності головного мозку [4, 6].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу триптофану (Трп) на вміст збуджувальних і гальмівних медіаторів у головному мозку щурів із різним рівнем судомної готовності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Роботу виконано на 48 щурах лінії Вістар, тестованих за чутливістю до аудіогенного подразника [2]. Використовували звуковий подразник (дзвінок) силою 96 дБ. Тривалість дії звуку – 120 с. Із загальної популяції щурів було відібрано 2 групи: із низькою (група Н) та високою (група В) судомною

© Л.Д. Попова, 2007.

готовністю. Тварин використовували в експерименті через 2 тижні після тестування.

У тварин із високою збудливістю спостерігалось генетично детерміноване посилення кінуренінового шляху обміну триптофану, що проявлялося зростанням активності ключового ферменту кінуренінового шляху в мозку – індоламін-2,3-діоксигенази та накопиченням хінолінової кислоти [5].

Частину тварин із різним рівнем судомної готовності протягом 20 днів утримували на раціоні, що містив 50 мг триптофану на 1 кг маси тіла на добу. Вибрана доза триптофану узгоджувалась з терапевтично ефективною дозою L-триптофану при лікуванні епілепсії [8], з дозою цієї амінокислоти в експериментах на щурах на стадії доклінічних досліджень [7] і відповідала дозі, що була ефективною в стимуляції кінуренінового шляху обміну триптофану [16].

Досліджували такі структури головного мозку, як: темпоральна кора, гіпоталамус, мозочок та стовбур мозку. Вміст глутамату (Глу), аспартату (Асп), гліцину (Глі), ГАМК досліджували методом тонкошарової хроматографії на силуфолових пластинах [1]. Екстракцію амінокислот проводили 96 % спиртом при кип'ятінні. Екстракти випарювали при температурі 60-65 °С. Сухий осад розчиняли у воді у співвідношенні 1 мг вихідної тканини на 1 мкл води. Для розділення амінокислот використовували суміш "бутанол – льодяна оцтова кислота – вода" у співвідношенні 80:20:20. Для виявлення плям амінокислот застосовували 0,5 % розчин нінгідрину в 95 % ацетоні, що містив 1 % оцтову

кислоту. Елюцію амінокислот проводили 60 % спиртом із 0,005 % CuSO_4 . Оптичну густина вимірювали при довжині хвилі 540 нм. Активність глутаматдекарбоксилази (ГДК) визначали за методом [3]. Інкубаційна суміш для визначення ГДК містила 0,15 М фосфатний буфер (рН=6,4); 25 мМ L-глутамат; 0,5 мМ піридоксальфосфат; 0,1 % тритон X-100. Кількість утвореної ГАМК визначали за методом [1].

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У щурів із високою судомною готовністю спостерігались зменшення вмісту Глу в гіпоталамусі й збільшення його у мозочку порівняно з групою Н (табл. 1). Вміст ГАМК у щурів групи В був підвищений в усіх досліджених структурах (табл. 2).

Отримані дані відповідають результатам роботи [14], згідно з якими у щурів зі спонтанною епілепсією рівень ГАМК у корі, гіпокампі та мозочку був значно вищим порівняно з резистентними до судом тваринами, і узгоджуються з роботою [22], де також показано зростання вмісту ГАМК та кількості ГАМК-ергічних нейронів у центральному ядрі inferior colliculus (структурі, що належить до стовбура мозку) в щурів, генетично схильних до судом.

Зростання вмісту ГАМК у щурів групи В пов'язане з підвищенням активності ГДК

(рис. 1), що, очевидно, зумовлено збільшенням розміру та кількості ГАМК-ергічних терміналей, зокрема у мозочку, гіпокампі та інших структурах, у період розвитку мозку за умов активації NMDA-рецепторів, про що свідчать дані літератури [12, 13].

Посилення ГАМК-ергічної трансмісії може як зменшувати, так і підвищувати збудливість головного мозку – залежно від того, в якій структурі це відбувається [15].

У щурів групи В спостерігалось зростання вмісту ГАМК у мозочку, а, згідно з даними літератури, саме в інтернейронах мозку, що розвивається, відбувається збільшення розміру та кількості ГАМК-ергічних синапсів, тобто

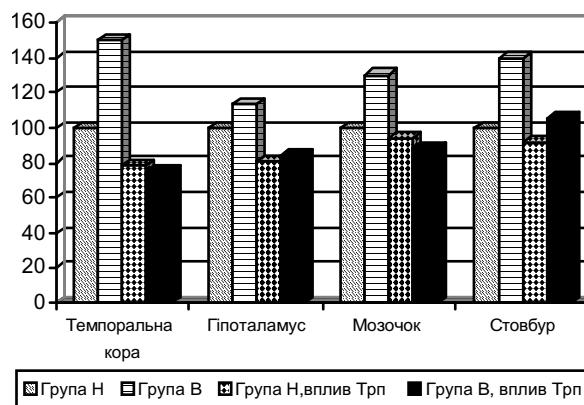


Рис. 1. Вплив триптофану (Трп) на активність ГДК у головному мозку щурів із різним рівнем судомної готовності (у % до групи Н).

Таблиця 1 – Вплив перорально введеного триптофану на вміст глутамінової кислоти в різних структурах головного мозку щурів із низькою (група Н) та високою (група В) судомною готовністю (мкмоль/г тканини, $M \pm m$, $n=6$)

| Структури мозку | Контрольна група | | Дослідна група | |
|------------------|------------------|-------------|----------------|-------------|
| | Група Н | Група В | Група Н | Група В |
| Темпоральна кора | 5,53±,60 | 4,60±0,38 | 5,20±0,68 | 4,80±0,70 |
| Гіпоталамус | 3,76±0,20 | 2,88±0,30* | 4,08±0,52 | 3,36±0,48 |
| Мозочок | 1,06±0,10 | 4,88±0,90** | 1,36±0,16 | *2,40±0,38* |
| Стовбур | 4,02±0,20 | 3,55±0,40 | 3,84±0,36 | 3,60±0,40 |

Примітка. Достовірність різниці: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – між групами Н та В; х – $p < 0,05$ – між контрольною та дослідною групами.

Таблиця 2 – Вплив перорально введеного триптофану на вміст ГАМК у різних структурах головного мозку щурів із низькою (група Н) та високою (група В) судомною готовністю (мкмоль/г тканини, $M \pm m$, $n=6$)

| Структури мозку | Контрольна група | | Дослідна група | |
|------------------|------------------|-------------|----------------|------------|
| | Група Н | Група В | Група Н | Група В |
| Темпоральна кора | 1,83±0,49 | 7,87±1,80** | 0,73±0,23* | 0,68±0,23* |
| Гіпоталамус | 2,27±0,47 | 4,70±0,80** | 1,49±0,08 | 1,54±0,26* |
| Мозочок | 0,78±0,10 | 2,80±0,50** | 1,05±0,20 | 0,54±0,10* |
| Стовбур | 1,04±0,18 | 1,90±0,30* | 1,34±0,07 | 1,10±0,20* |

Примітка. Достовірність різниці: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – між групами Н та В; х – $p < 0,05$ – між контрольною та дослідною групами.

гальмування призводить, врешті-решт, до розгальмування [17, 19]. Можна вважати, що у щурів групи В посилена ГАМК-ергічна трансмісія в гальмівних інтернейронах, а внаслідок цього і в клітинах Пуркін'є, що може бути однією з причин підвищеної судомної готовності.

Показано, що гальмування ГАМК-ергічних нейронів у substantia nigra призводить до стримування судом на різних моделях епілепсії [10], тобто активація цих нейронів сприяє їх розвитку. Зростання рівня ГАМК і ГАМК-ергічної трансмісії у стовбурі головного мозку має важливе значення для формування підвищеної судомної готовності головного мозку. Збільшення вмісту ГАМК у корі та гіпоталамусі, очевидно, є компенсаторним механізмом.

При дослідженні вмісту Глі у щурів групи В виявлено зменшення його концентрації у стовбурі та тенденцію до зниження у мозочку (табл. 3). Різниця у вмісті Асп між щурами груп Н та В не спостерігалася (табл. 4).

У щурів групи Н триптофан не впливав на вміст глутамату в усіх досліджених структурах (див. табл. 1). Вміст ГАМК у цих тварин за умов впливу триптофану залишався без змін в усіх досліджених структурах, за винятком кори, де концентрація ГАМК статистично вірогідно зменшувалась (див. табл. 2). У щурів групи В концентрація глутамату при впливі триптофану залишалась без змін в усіх досліджених структурах, крім мозочка (див. табл. 1). Концентрація ГАМК в усіх структурах знижувалась (див.

табл. 2). Різниця між групами у вмісті ГАМК повністю усувалася, за абсолютними значеннями наближаючись до вихідного рівня ГАМК у щурів із низьким рівнем судомної готовності.

Згідно з даними літератури, хінолінова кислота є слабким інгібітором ГДК [20]. При цьому вона призводить до зникнення mRNA для ГДК65 та значно зменшує mRNA для ГДК67 [21]. Відсутність ГДК65 не впливає на вміст ГАМК та загальну активність ГДК, проте підвищує схильність щурів до судом [9]. За даними літератури, метаболіти триптофану, такі, як піколінова, ксантуренова та хінолінова кислоти, триптамін, серотонін [23], а також багато біогенних амінів [11] гальмують піридоксалькіназу, проте піридоксальфосфат є простетичною групою не тільки ферментів обміну ГАМК, але й інших біогенних амінів, ферментів метаболізму триптофану, зокрема кінуренінамінотрансферази (ферменту синтезу КК). Слід зазначити, що форма ГДК65 більш чутлива до недостатності піридоксальфосфату, ніж ГДК67 [18]. Різниця у впливі перорально введеного триптофану на вміст ГАМК між щурами груп Н та В, можливо, зумовлена різницею у вмісті кінуренінів і біогенних амінів та різним співвідношенням ГДК65 та ГДК67.

Дослідження впливу триптофану на вміст гліцину виявило зростання рівня цієї нейроактивної амінокислоти у щурів із високою судомною готовністю в усіх досліджених структурах, у щурів із низькою судомною готовністю – в усіх структурах, за винятком мозочка,

Таблиця 3 – Вплив перорально введеного триптофану на вміст гліцину в різних структурах головного мозку щурів із низькою (група Н) та високою (група В) судомною готовністю (мкмоль/г тканини, $M \pm m$, $n=6$)

| Структури мозку | Контрольна група | | Дослідна група | |
|------------------|------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Група Н | Група В | Група Н | Група В |
| Темпоральна кора | 2,02±0,28 | 2,07±0,25 | 3,82±0,52 ^x | 3,40±0,38 ^x |
| Гіпоталамус | 1,19±0,22 | 1,13±0,16 | 2,62±0,30 ^{xx} | 2,44±0,28 ^{xx} |
| Мозочок | 2,40±0,37 | 1,61±0,18 | 1,78±0,25 | *2,84±0,34 ^{xx} |
| Стовбур | 0,82±0,09 | 0,45±0,07 ^{**} | 4,90±0,56 ^{xxx} | 5,10±0,64 ^{xxx} |

Примітка. Достовірність різниці: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – між групами Н та В; ^x – $p < 0,05$; ^{xx} – $p < 0,01$; ^{xxx} – $p < 0,001$ – між контрольною та дослідною групами.

Таблиця 4 – Вплив перорально введеного триптофану на вміст аспартату в різних структурах головного мозку щурів із низькою (група Н) та високою (група В) судомною готовністю (мкмоль/г тканини, $M \pm m$, $n=6$)

| Структури мозку | Контрольна група | | Дослідна група | |
|------------------|------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|
| | Група Н | Група В | Група Н | Група В |
| Темпоральна кора | 7,96±0,85 | 5,81±0,77 | 6,90±0,74 | 5,62±0,068 |
| Гіпоталамус | 3,98±0,54 | 3,81±0,50 | 3,70±0,48 | 4,12±0,54 |
| Мозочок | 4,81±0,61 | 4,66±0,73 | 1,62±0,22 ^{xxx} | 1,86±0,24 ^{xxx} |
| Стовбур | 1,43±0,28 | 0,99±0,14 | 3,70±0,44 ^{xx} | 3,28±0,46 ^{xx} |

Примітка. Достовірність різниці: ^x – $p < 0,05$; ^{xx} – $p < 0,01$; ^{xxx} – $p < 0,001$ – між контрольною та дослідною групами.

де вміст гліцину не змінювався (див. табл. 3). Зростання вмісту гліцину, можливо, є компенсаторним механізмом. Вміст аспартату за умов впливу триптофану збільшувався у стовбурі й зменшувався у мозочку щурів як із низькою, так і з високою судомною готовністю. Вміст аспартату в темпоральній корі та гіпоталамусі залишався без змін (див. табл. 4).

ВИСНОВКИ. Ефекти перорально введеного триптофану на вміст ГАМК залежали від вихідного рівня судомної готовності головного мозку, на вміст гліцину, аспартату, глутамату – практично збігались. Різниця між групами за досліджуваними показниками повністю усувалася, за винятком глутамату та гліцину в мозочку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зайцева Г.Н., Тюленева Н.Н. Метод хроматографического разделения аминокислот // Лаб. дело. – 1958. – № 3. – С. 24-30.
2. Захария Б.А. Предрасположенность организма к эпилептическим припадкам. – К.: Здоров'я, 1974. – 200 с.
3. Нилова Н.С. Влияние ацетилхолина на активность аминотрансфераз и дегидрогеназ в митохондриальной фракции головного мозга // Укр. биохим. журн. – 1973. – **45**, № 6. – С. 688-692.
4. Попова Л.Д. Вплив кінуренової кислоти на вміст катехоламінів у головному мозку щурів з різним рівнем судомної готовності // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 6. – С. 41-44.
5. Попова Л.Д. Интенсивність перебігу кінуренового шляху обміну триптофану в щурів з різним рівнем судомної готовності // Мед. хімія. – 2005. – **7**, № 2. – С. 10-14.
6. Попова Л.Д. Модулювальні ефекти кінуренінів на рецепцію збуджувальних амінокислот у щурів з різним рівнем судомної готовності // Укр. біохім. журн. (спец. випуск, мат. VIII Укр. біохім. з'їзду, 1-3 жовтня 2002 р., м. Чернівці). – 2002. – **74**, № 4а (додаток 1). – С. 172.
7. Сергиенко Н.Г., Грищенко В.И., Логинова Г.А. Биогенные моноамины и возбудимость головного мозга. – К.: Наукова думка, 1992. – 148 с.
8. Сисин Б.А. Об изменении содержания серотонина у больных эпилепсией и его значение для терапии заболевания // Труды Ленинградского НИИ психиатрии. – 1977. – **83**. – С. 42-46.
9. Asada H., Kawamura Y., Maroyama K. et al. Mice lacking the 65 kDa isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD65) maintain normal levels of GAD67 and GABA in their brains but are susceptible to seizures // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1996. – **229**, № 3. – P. 891-895.
10. Deransart C., Vercueil L., Marescaux C., Depaulis A. The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizure // *Epilepsy Res.* – 1998. – **32**, № 1-2. – P. 213-229.
11. Ebadi M., Grovitrapong P. Biogenic amine-mediated alteration of pyridoxal phosphate formation in rat brain // *J. Neurochem.* – 1979. – **32**. – P. 845-853.
12. Farias P.A., Low S.Q., Peterson G.M., Ribak C.E. Morphological evidence for altered synaptic organization and structure in the hippocampal formation of seizure-sensitive gerbils // *Hippocampus.* – 1992. – **2**, № 3. – P. 229-245.
13. Fiszman M.L., Barberis A., Lu C. et al. NMDA receptors increase the size of GABA-ergic terminals and enhance GABA release // *J. Neurosci.* – 2005. – **25**, № 8. – P. 2024-2031.
14. Fukoo K., Momijama T., Ishihara K. et al. Inhibition by gamma-aminobutyric acid system activation of epileptic seizures in spontaneously epileptic rats // *Jpn. J. Pharmacol.* – 1998. – **76**, № 4. – P. 387-396.
15. Gale K. GABA and epilepsy: basic concepts from preclinical research // *Epilepsy.* – 1992. – **33**, Suppl. 2. – P. 3-12.
16. Gal E.M., Young R.B., Sherman A.D. Tryptophan loading consequent effects on the synthesis of kynurenine and 5-hydroxyindoles in rat brain // *J. Neurochem.* – 1978. – **31**, № 1. – P. 237-244.
17. Glitsch M.D., Jack J.J. Evidence that glutamate acting on presynaptic type-II metabotropic glutamate receptors alone does not fully account for the phenomenon of depolarisation-induced suppression of inhibition in cerebellar Purkinje cells // *Pflugers Arch.* – 2001. – **442**, № 3. – P. 404-408.
18. Greif K.F., Tillakaratne N.J., Erlander M.G. Transient increase in expression of a glutamate decarboxylase (GAD) mRNA during the postnatal development of the rat striatum // *Dev. Biol.* – 1992. – **153**, № 1. – P. 158-164.
19. Hajos N., Freund T.F. Distinct cannabinoid sensitive receptors regulate hippocampal excitation and inhibition // *Chem. Phys. Lipids.* – 2002. – **121**, № 1-2. – P. 73-82.
20. Johanson S.O., Li Y., Balcar V.J. Glutamate decarboxylase solubilized the rat cerebral cortex by two different concentrations of Triton X-100: effects of glutamate analogues and analysis by SDS-PAGE/Western blotting using GAD6 and K2 antibodies // *J. Neurochem. Int.* – 1995. – **26**, № 2. – P. 179-185.
21. Qin Y., Soghomonian J.J., Chesselet M.F. Effects of quinolinic acid on messenger RNAs encoding somatostatin and glutamic acid decarboxylases in the

striatum of adult rats // Exp. Neurol. – 1992. – **115**, № 2. – P. 200-211.

22. Ribak C.E., Morin C.L. The role of the inferior colliculus in a genetic model of audiogenic seizures // Anat. Embryol. Berl. – 1995. – **19**, № 4. – P. 279-295.

23. Takeuchi F., Tsubouchi R., Shibata Y. Effect of tryptophan metabolites on the activities of rat liver pyridoxal kinase and pyridoxamine 5-phosphate oxidases in vitro // Biochem. J. – 1985. – **227**, № 2. – P. 537-544.

ВЛИЯНИЕ ТРИПТОФАНА НА СОДЕРЖАНИЕ МЕДИАТОРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С РАЗНЫМ УРОВНЕМ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ

Л.Д. Попова

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Исследовано влияние перорально введенного триптофана на содержание глутамата, аспартата, ГАМК и глицина в головном мозге крыс с разным уровнем судорожной готовности. Установлено, что эффекты триптофана на содержание ГАМК зависели от исходного уровня судорожной готовности, на содержание аспартата, глутамата и глицина – практически совпадали. Обнаружено устранение разницы между группами по всем исследуемым параметрам, за исключением глутамата и глицина в мозжечке.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: триптофан, глутамат, аспартат, глицин, ГАМК, судорожная готовность.

THE INFLUENCE OF TRYPTOPHAN ON THE MEDIATOR LEVELS IN BRAIN OF RATS WITH DIFFERENT SEIZURE SUSCEPTIBILITY

L.D. Popova

KHARKIV STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The influence of per os administered tryptophan on the glutamate, aspartate, GABA and glycine levels in brain of rats with different seizure susceptibility was studied. The influence of tryptophan on GABA levels depended on the initial level of seizure susceptibility. The effects of tryptophan on the glutamate, aspartate and glycine levels were practically identical. The difference in investigated parameters between groups was eliminated excepting cerebellar glutamate and glycine.

KEY WORDS: tryptophan, glutamate, aspartate, glycine, GABA, seizure susceptibility.

Адреса для листування: Л.Д. Попова, Харківський державний медичний університет, пр. Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.

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

СИНТЕЗ 2-[(3-ЗАМІЩЕНИХ-4-ОКСО-3,4-ДИГІДРО[1]БЕНЗОФУРО[3,2-D]ПІРИМІДИН-2-ІЛ)СУЛЬФАНІЛ]-N-АЛКІЛ(АРИЛ)АЦЕТАМІДІВ ТА ЇХ ПРОТИМІКРОБНА ДІЯ

О.В. Ільченко, О.В. Заремба, А.А. Шеряков, С.М. Коваленко, В.П. Черних
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
РЕСПУБЛІКАНСЬКЕ УНІТАРНЕ ПІДПРИЄМСТВО "ЦЕНТР ЕКСПЕРТИЗ І ДОСЛІДЖЕНЬ
В ОХОРОНІ ЗДОРОВ'Я", МІНСЬК

Розроблено метод синтезу нових гетероциклічних систем – 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-N-алкіл(арил)ацетамідів. За результатами мікробіологічних досліджень знайдено речовини, які проявляють антимікробну та фунгіцидну активність.

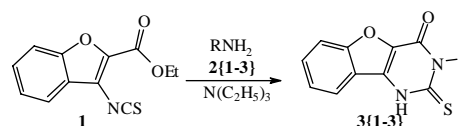
КЛЮЧОВІ СЛОВА: 2-[(3-заміщені-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-N-алкіл(арил)ацетаміди, 2-тіоксопіримідин-4(1H)-они, мікробіологічний скринінг.

ВСТУП. Гетероциклічні системи, які містять у своїй структурі фрагмент 2-тіоксохіназолін-4-она, та його структурні аналоги активно досліджують останнім часом [2-8]. Серед структур даного ряду виявлено речовини з анціолітичною [9, 10], антигіпертензивною [11], протигрибковою [12], антидепресивною [13] діями. Інтерес до них викликаний не лише широким спектром фармакологічної активності, а й різноманітним синтетичним потенціалом 2-тіоксохіназолін-4-онів. У літературі наведена тільки одна робота про синтез 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-4(1H)-онів [14], а продукти їх алкілування залишаються невивченими сполуками. Враховуючи це, похідні 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-4(1H)-онів є цікавими об'єктами для побудови комбінаторних бібліотек з метою пошуку нових біологічно активних сполук.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами було проведено синтез 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-N-алкіл(арил)ацетамідів методом рідкофазного паралельного синтезу. В результаті взаємодії етил 3-ізотіоціанато-1-бензофуран-2-карбоксилату (1) з різноманітними ароматичними й аліфатичними амінами 2{1-3} в присутності еквімолярної кількості триетиламіну було отримано 3-N-заміщені-2-тіоксо-

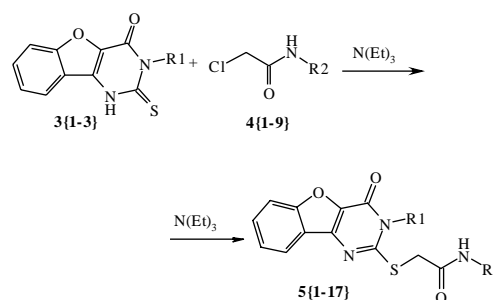
© О.В. Ільченко, О.В. Заремба, А.А. Шеряков, С.М. Коваленко, В.П. Черних, 2007.

2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-4(1H)-они 3{1-3} (схема 1):



2{1}: R=Ph, 2{2}: R=p-F-Ph, 2{3}: R=p-F-Bz

У результаті взаємодії 3-заміщених 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-4(1H)-онів 3{1-3} з рядом амідів хлороцтової кислоти 4{1-9} в присутності триетиламіну в ДМФА було отримано відповідні 2-[(3-заміщені-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-N-алкіл(арил)ацетаміди 5{1-17} (схема 2):



R1=Ph, p-F-Ph, p-F-Bz
R2=H, Ph, o-Me-Ph, m-Me-Ph, p-Me-Ph, p-F-Ph, 3,4-диMe-Ph, o-OEt-Ph, o-Et-Ph

Алкілування 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-4(1H)-онів у безводному ДМФА при використанні як основи триетиламіну дозволило нам отримати високі виходи утво-

рення продуктів алкілювання (80-95 %) та синтезувати сполуки із задовільним ступенем чистоти (90-99 %). Продукти алкілювання виділяли при розведенні реакційної суміші водою та очищували перекристалізацією з пропанолу-2. Контроль за утворенням продуктів реакції здійснювали методом ТШХ. Константи, виходи та дані елементного аналізу синтезованих сполук 5{1-17} наведено в таблиці 1.

^1H ЯМР-спектри сполук 5{1-17} характеризуються наявністю сигналів ABCD-системи протонів бензофуранового кільця у вигляді двох дублетних сигналів протонів Н-6 (7,79-7,84 м.д.) і Н-9 (7,74-8,50 м.д.) та двох триплетних сигналів протонів Н-7 (7,64-7,68 м.д.) і Н-8 (7,31-7,62 м.д.) (табл. 2). Також у спектрах присутні сигнали відповідної мультиплетності замісників у третьому положенні гетероциклу в ділянці 6,83-7,76 м.д. у випадку ароматичного замісника і в ділянці 6,84-7,58 м.д. у випадку аліфатичного замісника. Спостерігаються характерний сигнал метиленової групи при 3,92-4,21 м.д. та сигнал протона амідної групи при 9,40-10,51 м.д. У сполуках 5{1} і 5{12} протони амідної групи проявляються у вигляді двох розширених сигналів при 7,22-7,76 м.д. Ми припускаємо, що це зумовлено утворенням водневого зв'язку одного із протонів амідної групи з атомом азоту першого положення.

Експериментальна частина

Спектри ^1H -ЯМР синтезованих речовин записано на приладі "Varian WXR-400" (робоча частота – 200 MHz) в DMSO-D₆, внутрішній стандарт – TMS. Температури плавлення синтезованих сполук отримано на приладі фірми "Buchii" (Швейцарія), модель В-520. Хід реакції контролювали методом LC на силікагелі на

алюмінієвих пластинках Silufol UV₂₅₄ (5x15 см) (Kavalier, Czech Republic), елюент – система розчинників "етилацетат – толуол" (1:2).

Методика отримання етил 3-ізотіоціанато-1-бензофуран-2-карбоксилату (1). До розчину етил 3-аміно-1-бензофуран-2-карбоксилату (0,1 моль) у 100 мл хлороформу додавали 50 мл води. До отриманої суміші при перемішуванні краплями додавали розчин тіофосгену (0,11 моль) у 50 мл хлороформу так, щоб температура реакційної суміші не перевищувала 25 °С. Перемішування продовжували 2-3 год. Потім додавали водний розчин K₂CO₃ до нейтрального середовища. Органічну фазу відділяли, промивали водою (3x100 мл), сушили над MgSO₄ та відганяли хлороформ при зниженому тиску. Отриманий продукт використовували у синтезі без додаткового очищення. Вихід – 89 %.

Методика отримання 3-заміщених 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофурано[3,2-d]піримідин-4(1H)-онів 3{1-3}. До 0,02 моль (4,95 г) етил 3-ізотіоціанато-1-бензофуран-2-карбоксилату (1) додавали мінімальну кількість пропанолу-2 (5-7 мл), 0,022 моль відповідного аміну (2{1-3}) і 0,022 моль триетиламіну. Реакційну суміш витримували при 60-70 °С, постійно перемішуючи 3 год. Отриманий розчин охолоджували та додавали оцтову кислоту до слабокислого середовища. Одержані осадки відфільтровували, промивали водою і кристалізували із придатного розчинника. Вихід продуктів – 70-91 %.

Методика отримання 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензо-фурано[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-3-N-алкіл(арил)ацетамідів (5{1-17}). До суміші 0,5 ммоль 3-заміщеного 2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофурано-

Таблиця 1 – Константи, виходи і дані елементного аналізу сполук 5{1-17}

| Сполука | R ₁ | R ₂ | Брутто-формула | М.м. | N, % Розр./ Експ. | S, % Розр./ Експ. | Т.пл., °С | Вихід, % |
|---------|----------------|----------------|--|--------|----------------------|----------------------|--------------|-------------|
| 5{1} | Ph | H | C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ S | 351,39 | 11,96/11,93 | 9,12/9,11 | 253-55 | 89 |
| 5{2} | Ph | Ph | C ₂₄ H ₁₇ N ₃ O ₃ S | 427,49 | 9,83/9,81 | 7,50/7,48 | 235-36 | 88 |
| 5{3} | Ph | o-Me-Ph | C ₂₅ H ₁₉ N ₃ O ₃ S | 441,51 | 9,52/9,51 | 7,56/7,55 | 228-29 | 87 |
| 5{4} | Ph | m-Me-Ph | C ₂₅ H ₁₉ N ₃ O ₃ S | 441,51 | 9,52/9,50 | 7,56/7,54 | 212-14 | 85 |
| 5{5} | Ph | p-F-Ph | C ₂₄ H ₁₆ FN ₃ O ₃ S | 445,48 | 9,43/9,40 | 7,20/7,21 | 243-45 | 85 |
| 5{6} | Ph | 3,4-диMe-Ph | C ₂₆ H ₂₁ N ₃ O ₃ S | 455,54 | 9,22/9,21 | 7,04/7,02 | 227-29 | 87 |
| 5{7} | p-F-Ph | o-Me-Ph | C ₂₅ H ₁₈ FN ₃ O ₃ S | 459,50 | 9,14/9,16 | 6,98/7,01 | 230-32 | 88 |
| 5{8} | p-F-Ph | p-F-Ph | C ₂₄ H ₁₅ F ₂ N ₃ O ₃ S | 463,47 | 9,07/9,10 | 6,92/6,89 | 228-29 | 87 |
| 5{9} | p-F-Ph | 3,4-диMe-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S | 473,53 | 8,87/8,85 | 6,67/6,68 | 229-30 | 89 |
| 5{10} | p-F-Ph | o-OEt-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₄ S | 489,53 | 8,58/8,61 | 6,55/6,52 | 213-15 | 82 |
| 5{11} | p-F-Ph | o-Et-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S | 473,53 | 8,87/8,89 | 6,77/6,75 | 218-19 | 76 |
| 5{12} | p-F-Bz | H | C ₁₉ H ₁₄ FN ₃ O ₃ S | 383,40 | 10,96/10,94 | 8,36/8,35 | 255-57 | 88 |
| 5{13} | p-F-Bz | Ph | C ₂₅ H ₁₈ FN ₃ O ₃ S | 459,50 | 9,14/9,15 | 6,98/7,00 | 243-45 | 87 |
| 5{14} | p-F-Bz | o-Me-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S | 473,53 | 8,87/8,90 | 6,77/6,79 | 255-57 | 72 |
| 5{15} | p-F-Bz | m-Me-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S | 473,53 | 8,87/8,89 | 6,77/6,76 | 238 | 84 |
| 5{16} | p-F-Bz | p-Me-Ph | C ₂₆ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S | 473,53 | 8,87/8,90 | 6,77/6,76 | 254-56 | 86 |
| 5{17} | p-F-Bz | p-F-Ph | C ₂₅ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃ S | 477,49 | 8,80/8,81 | 6,72/6,74 | 230-31 | 72 |

Таблиця 2 – ¹H ЯМР-спектри 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-3-N-алкіл(арил)ацетамідів 5{1-17}

| ¹ H ЯМР-спектри, δ, м.д. | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------|---|------------|------------|------------|------------|------------|--|--|
| Сполука | s, 2H, SCH ₂ | Ароматичні протони | d, 1H, H-6 | t, 1H, H-7 | t, 1H, H-8 | d, 1H, H-9 | s, 1H, NH | Інші протони | |
| 5{1} | 3,92 | 7,42-7,76(m, 5H) | 7,82 | 7,68 | 7,48 | 8,40 | 7,22, 7,72 | – | |
| 5{2} | 4,20 | 7,10 (t, 1H), 7,24 (t, 1H), 7,38-7,62 (m, 7H) | 7,81 | 7,68 | 7,46 | 7,95 | 10,40 | – | |
| 5{3} | 4,18 | 7,12 (t, 3H), 7,34 (d, 2H), 7,48-7,66 (m, 5H) | 7,82 | 7,64 | 7,43 | 8,20 | 9,65 | 2,15 (s, 3H, CH ₃) | |
| 5{4} | 4,10 | 6,84 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,42-7,64 (m, 7H) | 7,80 | 7,65 | 7,38 | 7,76 | 10,35 | 2,20 (s, 3H, CH ₃) | |
| 5{5} | 4,10 | 7,11 (t, 2H), 7,49-7,64 (m, 7H) | 7,79 | 7,68 | 7,42 | 7,92 | 10,45 | – | |
| 5{6} | 4,09 | 7,20 (d, 1H), 7,28-7,64 (m, 7H) | 7,80 | 7,66 | 7,41 | 7,98 | 10,20 | 2,11 (s, 6H, 2CH ₃) | |
| 5{7} | 4,15 | 7,05-7,62 (m, 8H) | 7,84 | 7,67 | 7,42 | 8,21 | 9,68 | 2,15 (s, 3H, CH ₃) | |
| 5{8} | 4,15 | 7,13 (t, 2H), 7,42-7,64 (m, 6H) | 7,81 | 7,68 | 7,40 | 7,74 | 10,50 | – | |
| 5{9} | 4,05 | 7,05 (d, 1H), 7,35-7,64 (m, 6H) | 7,80 | 7,67 | 7,31 | 7,97 | 10,21 | 2,10 (s, 6H, 2CH ₃) | |
| 5{10} | 4,20 | 6,83 (m, 1H), 7,05 (d, 2H), 7,44-7,63 (m, 5H) | 7,81 | 7,66 | 7,41 | 7,96 | 9,40 | 1,29 (s, 3H, CH ₃), 4,05 (q 2H, OCH ₂ CH ₃) | |
| 5{11} | 4,18 | 7,12 (m, 3H), 7,24 (t, 1H), 7,42-7,64 (m, 4H) | 7,83 | 7,68 | 7,41 | 8,50 | 9,60 | 1,00 (t, 3H, CH ₂ CH ₃), 2,50 (q, 2H, CH ₂ CH ₃) | |
| 5{12} | 4,01 | 7,11-7,42 (m, 4H) | 7,80 | 7,68 | 7,49 | 8,02 | 7,25, 7,76 | 5,42 (s, 2H, NCH ₂) | |
| 5{13} | 4,21 | 7,02 (t, 1H), 7,11-7,58 (m, 8H) | 7,78 | 7,66 | 7,58 | 7,89 | 10,51 | 5,38 (s, 2H, NCH ₂) | |
| 5{14} | 4,30 | 7,02-7,44 (m, 8H) | 7,83 | 7,67 | 7,47 | 7,98 | 9,75 | 2,13 (s, 3H, CH ₃), 5,40 (s, 2H, NCH ₂) | |
| 5{15} | 4,20 | 6,84 (d, 1H), 7,12-7,42 (m, 7H) | 7,80 | 7,64 | 7,45 | 7,90 | 10,40 | 2,21 (s, 3H, CH ₃), 5,40 (s, 2H, NCH ₂) | |
| 5{16} | 4,20 | 7,04-7,42 (m, 8H) | 7,80 | 7,64 | 7,47 | 7,92 | 10,40 | 2,20 (s, 3H, CH ₃), 5,40 (s, 2H, NCH ₂) | |
| 5{17} | 4,21 | 7,07-7,58 (m, 8H) | 7,80 | 7,66 | 7,62 | 7,88 | 10,51 | 5,39 (s, 2H, NCH ₂) | |

[3,2-d]піримідин-4(1H)-она (3{1-3}) і триетиламіну (1,5 ммоль) додавали відповідний амід хлороцтової кислоти (4{1-9}) (0,6 ммоль). Реакційні маси витримували при 60 °С та постійному перемішуванні протягом 1-2 год, а потім охолоджували до кімнатної температури. Розводили водою (30 мл) і отримані осади фільтрували та кристалізували із суміші "етанол-ДМФА" (1:1). Вихід – 80-95 %.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою вивчення біологічної активності синтезованих сполук на базі лабораторії протимікробних засобів Науково-дослідного інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова (м. Харків) проведено дослідження їх протимікробної та фунгіцидної активності. Протимікробну дію досліджували методом двократних серійних розведень у рідкому та твердому поживних середовищах відносно грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus anthracoides* ATCC 1312) і грамнегативних (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) мікроорганізмів [1]. Речовини розчиняли у ДМФА, для культивування мікроорганізмів використовували бульйон Хоттінгера (рН=7,2-

7,4). Мікробне навантаження на 1 мл поживного середовища становило 5·10⁵ мікробних одиниць. Для культивування грибів роду *Candida* застосовували середовище Сабуро з мікробним навантаженням 2·10⁵ мікробних одиниць.

Проведений скринінг показав, що похідні 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-3-N-алкіл(арил)ацетамідів проявили помірну протимікробну активність відносно грампозитивних та високу активність щодо грамнегативних мікроорганізмів. Сполуки 5{13}, 5{15}-5{17} у концентрації 7,8 мкг/мл проявили високу активність відносно *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Сполуки 5{3}, 5{14}, 5{17} у концентрації 15,6 мкг/мл проявили фунгіцидну активність відносно *Candida albicans* ATCC 885-653.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено метод синтезу нових 2-[(3-заміщених-4-оксо-3,4-дигідро[1]бензофуоро[3,2-d]піримідин-2-іл)сульфаніл]-3-N-алкіл(арил)ацетамідів.

2. Проведено мікробіологічний скринінг синтезованих сполук та знайдено речовини, які проявляють антимікробну та фунгіцидну активність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вєдьмина Е.А., Фурер Н.М. – М.: Медицина, 1964. – 4. – С. 602-605.
2. Tan P.-Z., Soares J., Seibyl J. et al. // J. Labelled Compd. Radiopharm. – 1999. – 42. – P. 66-68.
3. Seiji S., Seiichi U., Shunichi H. et al. // Jpn. Patent 62198670. – 1986.
4. Michinori T., Takashi O., Seiji S. et al. // Jpn. Patent 62258369. – 1986.
5. Sohda T., Makino H., Boba A. // Eur. Patent EP 0567107. – 2001.
6. Eto H., Koda T., Ogawa Y., Katori T. // Jpn. Patent 60075488. – 1983.
7. LeMahieu R.A., Carson M., Welton A.F. et al. // J. Med. Chem. – 1983. – 26. – P. 107-110.
8. Carson M., LeMahieu R.A., Tilley J.W. // Eur. Patent EP 142057. – 1984.
9. Chen C., Webb T.R., McCarthy J.R., Moran T.J. // U.S. Patent 6,255,310, 2001; Chem. Abstr. 1997, 127, 234327e.
10. Emling F., Starck D., Bach A. et al. // German Patent 19,734,444, 1999; Chem. Abstr. 1999, 130, 168389k.
11. Chakravarty P.K., Greenlee W.J., Kim D. et al. // U.S. Patent 5,223,501, 1993; Chem. Abstr. 1993, 118, 2131104d.
12. Bartroli J., Turmo E., Alguery M. et al. // J. Med. Chem. – 1998. – 41. – P. 1855-1868.
13. Darias V., Abdala S., Martin-Herrera D. et al. // Arzneim.-Forsch. Drug Res. – 1999. – 49. – P. 986-991.
14. Reddy B. Saida, Reddy A. Panduranga, Veeranagaiah V. // Indian J. of Chem., Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 27B(12). – 1988. – P. 1131-1133.

СИНТЕЗ 2-[(3-ЗАМЕЩЕННЫХ-4-ОКСО-3,4-ДИГИДРО[1]БЕНЗОФУРО[3,2-D]ПИРИМИДИН-2-ИЛ)СУЛЬФАНИЛ]-N-АЛКИЛ (АРИЛ)АЦЕТАМИДОВ И ИХ ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ

Е.В. Ильченко, О.В. Заремба, А.А. Шеряков, С.Н. Коваленко, В.П. Черных
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ
РЕСПУБЛИКАНСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ "ЦЕНТР ЭКСПЕРТИЗ И ИСПЫТАНИЙ
В ЗДРАВООХРАНЕНИИ", МИНСК

Резюме

Разработан метод синтеза новых гетероциклических систем – 2-[(3-замещенных-4-оксо-3,4-дигидро[1]бензофуоро[3,2-d]пиримидин-2-ил)сульфанил]-N-алкил(арил)ацетамидов. По результатам микробиологических исследований найдены вещества, которые проявляют антимикробную и фунгицидную активность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 2-[(3-замещенные-4-оксо-3,4-дигидро-[1]бензофуоро[3,2-d]пиримидин-2-ил)сулафанил]-N-алкил(арил)ацетамиды, 2-тиоксопиримидин-4(1H)-оны, микробиологический скрининг.

SYNTHESIS OF 2-[(3-SUBSTITUTED-4-OXO-3,4-DIHYDRO[1]BENZOFURO[3,2-D]PYRIMIDIN-2-YL)SULFANYL]-N-ALKYL(ARYL)ACETAMIDES AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTION

O.V. Ilchenko, O.V. Zaremba, A.A. Sheryakov, S.M. Kovalenko, V.P. Chernykh
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV
REPUBLICAN UNITARY ENTERPRISE "CENTER FOR EXAMINATION AND TESTS
IN HEALTH SERVICE", MINSK

Summary

The method of synthesis of new heterocyclic systems – 2-[(3-substituted-4-oxo-3,4-dihydro[1]benzofuro[3,2-d]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]-N-alkyl(aryl)acetamides has been elaborated. By the results of microbiological researches substances with antimicrobial and fungicidal activity have been determined.

KEY WORDS: 2-[(3-substituted-4-oxo-3,4-dihydro[1]benzofuro[3,2-d]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]-N-alkyl(aryl)acetamides, 2-thioxopyrimidin-4(1H)-ones, microbiological screening.

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

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ТА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ В МЕМБРАНАХ ЕРИТРОЦИТІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТУ “РИТМОКОР” ПРИ ІНТЕНСИВНОМУ ФІЗИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ

Л.М. Гуніна, С.А. Олійник, С.В. Іванов
НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ФІЗИЧНОГО ВИХОВАННЯ І СПОРТУ УКРАЇНИ, КИЇВ,
ВІЙСЬКОВА ЧАСТИНА А 0515

У статті наведено нові дані відносно впливу лікарського препарату “Ритмокор” на параметри гематологічного гомеостазу спортсменів під час інтенсивних фізичних навантажень. Встановлено позитивний вплив препарату на характеристики еритроцитів – їх об’єм, ступінь анізоцитозу, вміст внутрішньоклітинного гемоглобіну тощо, поліпшення прооксидантно-антиоксидантного балансу в мембранах червоних клітин, а також значне збільшення кількості лейкоцитів після курсового приймання ритмокору військовими багатоборцями.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: інтенсивне фізичне навантаження, ритмокор, гемоглобін, еритроцити, прооксидантно-антиоксидантний баланс мембран, лейкоцити.

ВСТУП. Пошук нових медикаментозних недопінгових засобів корекції гомеостазу організму спортсменів є важливим завданням спортивної медицини та постійно продовжується. Саме як ергогенні чинники для підвищення адаптаційних можливостей атлетів часто використовують лікарські препарати із заданою дією; більш того, іноді виявляються зовсім несподівані їх ефекти, які можуть підтримувати основні гомеостатичні параметри організму під час інтенсивних фізичних навантажень.

Оригінальний комбінований препарат “Ритмокор”, діючою речовиною якого є пентагід-роксикапронова (глюконова) кислота у вигляді магнієвої та калієвої солей, має позитивний антиоксидантний, мембраностабілізуючий та кардіопротекторний вплив [10]. Активність препарату зумовлена активацією пентозного шунта окиснення глюкози, який постачає енергетичні еквіваленти як для гліколізу, так і для аеробного окиснення. До останнього часу ритмокор використовували при лікуванні серцево-судинної та неврологічної патологій [2, 10, 11]. Передумовою приймання спортсменами препарату стала саме наявність у нього мембранотропної та антиоксидантної дій, оскільки на цих ланках – первинних у ланцюгу подальших метаболічних порушень – здебільшого базуються методи корекції гомеостазу організму.

© Л.М. Гуніна, С.А. Олійник, С.В. Іванов, 2007.

Метою нашого дослідження було встановлення впливу ритмокору на прооксидантно-антиоксидантний баланс у мембранах червоних клітин, вміст лейкоцитів, еритроцитів та концентрацію гемоглобіну в останніх, оскільки даний показник є одним з найбільш інформативних при встановленні діагнозу функціональної анемії [5].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Параметри змін адаптації до інтенсивних фізичних навантажень було вивчено в 19 спортсменів (військові багатоборці) у тренувальний період, 9 з яких склали контрольну групу, а 10, які приймали ритмокор, увійшли в основну. За статтю (чоловіки), зростом, масою, віком вибірки атлетів були репрезентативними (табл. 1). Крім того, показники гематологічного гомеостазу проаналізовано у 12 здорових нетренованих осіб (донори) відповідного віку і статі.

Ритмокор призначали перорально протягом 14 днів, причому в перші 5 днів – по 0,72 г (дві капсули) тричі на добу, а з 6-го дня – по 0,36 г з тією ж самою кратністю приймання.

До початку та по закінченні курсового приймання препарату в осіб основної та контрольної груп у підготовчий період проводили визначення параметрів гематологічного гомеостазу, зокрема кількості лейкоцитів (L), еритроцитів (R) та вмісту гемоглобіну (Hb) в

цільній крові, внутрішньоеритроцитарного гемоглобіну (mean corpuscular hemoglobin – MCH), середнього об'єму еритроцитів (mean corpuscular volume – MCV) та ступеня анізоцитозу останніх (RDW). Збір крові для дослідження здійснювали у кількості 0,5 мл з периферичної вени у пробірки, попередньо оброблені ЕДТА. Вимірювання вищезазначених показників проводили на гемоаналізаторі "Sysmex K-1000" (Японія). Крім того, в суспензії еритроцитарних мембран, виготовленій за [13], досліджували вміст малонового діальдегіду (МДА) [1] та відновленого глутатіону (GSH) [8]; розраховували прооксидантно-антиоксидантний коефіцієнт ($K_{\text{на}}$) [3].

Математичну та статистичну (з урахуванням *t*-критерію Стьюдента) обробку отриманих даних проводили на ПК із використанням прикладних пакетів програм Excel 97 та Statistica.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Було встановлено, що інтенсивні фізичні навантаження призводять до змін більшості показників гематологічного гомеостазу спортсменів порівняно зі здоровими нетренованими особами. Це стосується всіх параметрів, що досліджувались, за винятком вмісту Hb, кількості L та R, відносно яких спостерігалася лише тенденція до зростання (табл. 2).

Доведено, що і застосування ритмокору істотно не впливало на вміст еритроцитів у крові; спостерігалася лише невиразна тенденція до підвищення цього показника (див. табл. 2).

Рівень Hb в атлетів під впливом препарату теж залишався практично незмінним. Водночас відбувалося збільшення вмісту гемоглобіну на 5,1 % безпосередньо в червоних клітинах та середнього їх об'єму на 9,6 % від вихідного рівня (контроль).

Вважається, що за умов зростання середнього об'єму еритроцитів та абсолютного середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті незмінний рівень Hb не завжди є тим цілком адекватним параметром, який відображає наявність або відсутність анемії [4, 5], а тому, з нашої точки зору, не може бути тим фактором, який саме і є результируючим багатьох складних біохімічних та патофізіологічних змін (газовий склад крові, її рН, вміст еритропоетину та інших цитокінів, відповідальних за кровотворення, прооксидантно-антиоксидантна рівновага, рівень стресорних факторів, структурний стан мембран червоних клітин, функціональні властивості органів природної детоксикації і т. ін.). Ось чому визначення вмісту Hb у спортсменів без урахування інших показників гематологічного гомеостазу організму потребує подальших уточнюючих та додаткових досліджень.

Важливим моментом змін гемограми у спортсменів під впливом препарату є суттєве зниження анізоцитозу (див. табл. 2). На нашу думку, такі зміни, з огляду на відсутність прямого стимулювального впливу ритмокору на еритропоез, можуть бути пояснені поліпшенням структурно-функціональних властивостей мембрани еритроцитів, яка є однією з компо-

Таблиця 1 – Фізичні параметри спортсменів у групах дослідження

| Параметри | Групи досліджених | |
|-----------|-------------------|-----------|
| | контрольна | основна |
| Вік, роки | 21,2±0,4 | 21,5±0,6 |
| Маса, кг | 87,4±2,1 | 89,6±2,4 |
| Зріст, см | 180,6±4,3 | 184,6±3,9 |

Таблиця 2 – Зміни показників гематологічного гомеостазу та прооксидантно-антиоксидантного балансу в мембранах еритроцитів за інтенсивних фізичних навантажень та під впливом ритмокору

| Показники | Групи досліджених | | |
|------------------------------|---------------------------|------------|-------------|
| | здорові нетреновані особи | контрольна | основна |
| L, $\times 10^9/\text{л}$ | 4,46±0,21 | 5,03±0,57 | 8,37±0,52*# |
| R, $\times 10^{12}/\text{л}$ | 4,31±0,19 | 4,76±0,12 | 4,97±0,14* |
| Hb, г/л | 134,6±5,8 | 146,8±4,6 | 159,7±5,5* |
| MCV, 10^{-15}л | 80,2±1,1 | 85,3±1,4* | 89,7±1,2*# |
| MCH, пг | 30,6±1,3 | 35,4±0,6* | 38,8±0,4*# |
| RDW, % | 11,2±2,3 | 21,8±2,5* | 15,7±1,9# |

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з даними у здорових нетренованих осіб; # – $p < 0,05$ порівняно з даними в контрольній групі спортсменів.

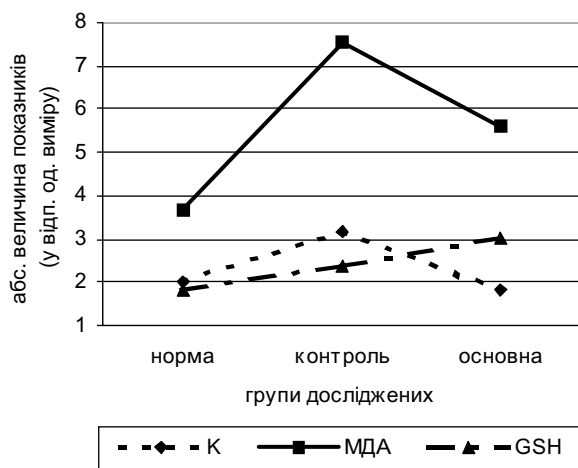


Рис. 1. Динаміка змін показників прооксидантно-антиоксидантного балансу в спортсменів під впливом ритмокору.

нент підтримки адекватного вмісту гемоглобіну в еритроциті [12, 14].

Дані літератури та наші попередні дослідження довели, що структурно-функціональний стан мембран еритроцитів, який опосередковується просторовими взаємовідношеннями у біліпід-білковому шарі, значною мірою залежить від рівноваги між прооксидантними та антиоксидантними факторами [4, 19].

Результати досліджень свідчать про те, що інтенсивне фізичне навантаження призводить до зростання вмісту МДА у мембранах еритроцитів з $(3,67 \pm 0,10) \text{ нмоль} \times 10^6 \text{ ер.}$ – практично вдвічі та рівня GSH з $(1,83 \pm 0,11 \cdot 10^{-12}) \text{ ммоль/ер.}$ – на 30,6 % порівняно з даними у здорових нетренованих осіб (рис. 1). Під впливом ритмокору у військових багатоборців відбувалося зниження вмісту МДА в мембранах еритроцитів з $(7,56 \pm 0,45)$ до $(5,61 \pm 0,53) \text{ нмоль} \times 10^6 \text{ ер.}$ ($p < 0,05$), тобто на 25,8 %, з паралельним достовірним зростанням рівня GSH на 27,2 % (з $(2,39 \pm 0,08)$ до $(3,04 \pm 0,13 \cdot 10^{-12}) \text{ ммоль/ер.}$). Таким чином, як фізичні навантаження окремо, так і приймання препарату під час тренувань сприяли підвищенню ступеня антиоксидантного захисту.

В узагальненому вигляді різноспрямовані зрушення показників прооксидантно-антиоксидантного балансу в еритроцитарних мембра-

нах віддзеркалює розрахований $K_{\text{на}}$ (див. рис. 1). Як видно з даних, наведених на рисунку, в здорових нетренованих осіб цей показник дорівнює 2,0 ум. од., а за інтенсивних фізичних навантажень зростає до 3,16 ум. од., що вказує на різку активацію окиснювальних процесів у мембранах еритроцитів. Ритмокор водночас гальмує активність перекисного окиснення ліпідів, що віддзеркалює зменшення вмісту МДА як одного з кінцевих його продуктів, та сприяє зростанню ступеня антиоксидантного захисту, яке відображається концентрацією GSH у мембранах еритроцитів. Під дією препарату величина $K_{\text{на}}$ у спортсменів зменшується навіть трохи нижче рівня у здорових нетренованих осіб.

Встановлені зміни можна пояснити нормалізуючим впливом ритмокору на прооксидантно-антиоксидантний баланс, який порушується за окисного стресу [9, 15], в тому числі при інтенсивному та тривалому фізичному навантаженні [6, 17] в плазматичних мембранах взагалі [20] та еритроцитарних зокрема [4, 18]. Стабілізація рівноваги між прооксидантними та антиоксидантними чинниками супроводжується перебудовою просторових співвідношень між ліпідними та білковими компонентами бішару зі зменшенням жорсткості мембран еритроцитів [21, 23]. Останній чинник разом зі зниженням ступеня анізоцитозу еритроцитів приводить до підвищення фізіологічної активності молекули гемоглобіну [7, 16, 22].

Що ж стосується досить значного – майже вдвічі – збільшення кількості L, то встановлений феномен потребує подальшого дослідження механізму його виникнення. Варто зазначити, що цей факт, з огляду на зростання неспецифічної резистентності організму без погіршення самопочуття, може мати позитивні наслідки для організму спортсменів за умов інтенсивних фізичних навантажень.

ВИСНОВКИ. 1. Під впливом ритмокору нормалізується прооксидантно-антиоксидантна рівновага.

2. Ритмокор підвищує фізіологічні властивості гемоглобіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Банкова В.В., Прищепова Н.Ф., Авратинский О.И. Способ оценки патологических изменений плазматической мембраны у детей при различных заболеваниях // Патол. физиол. и экспер. терапия. – 1987. – № 3. – С. 78-81.

2. Гирина О.Н., Козловский В.А., Кутняк В.П. Нейро-циркуляторная дистония. – К., 2006. – 47 с.

3. Гоголь С.В. Дослідження дії екзогенного церулоплазміну при хіміотерапії злоякісних новоутворень в експерименті та клініці: Дис. ... канд. біол.

наук. – К., 2001. – 148 с.

4. Гуніна Л.М., Бердинських Н.К., Гоголь С.В. та ін. Застосування церулоплазміну при хіміотерапії злоякісних новоутворень в експерименті та клініці // Онкологія. – 2001. – **3**, № 1. – С. 48-50.

5. Гусева С.А., Гончаров Я.П. Анемии. – К.: Здоров'я, 2005. – 296 с.

6. Дорофеева Е. Влияние аминокислот на метаболическую адаптацию сердца к значительным физическим нагрузкам // Олімпійський спорт та спорт для всіх: проблеми здоров'я, рекреації, спортивної медицини та реабілітації: Тези доп. IV Міжнар. наук. конгресу. – К., 2000. – С. 34.

7. Драницин О.В. Зміна розмірів та морфологічних типів еритроцитів у спортсменів високої кваліфікації після фізичного навантаження субмаксимальної потужності // Експер. та клін. фізіологія та біохімія. – 2005. – № 1. – С. 60-67.

8. Зайцев В.Г., Закревский В.И., Давыдов А.И. Уровень гипергликемии у больных сахарным диабетом // Клін. лаб. діагностика. – 1999. – № 11. – С. 32-33.

9. Иванов С.В., Олійник С.А., Репетуша Я.Д., Фурторний С.М. Окисний стрес та гіпоксичні стани: погляд на проблему // Військова медицина України. – 2005. – **5**, № 1. – С. 78-85.

10. Козловський В.О. Про взаємовідношення антиаритмічної, антигіпоксичної і мембранопротекторної активності лікарських препаратів // Вісник Вінницького держ. мед. ун-ту. – 2003. – **7**, № 1/1. – С. 18-20.

11. Коркушко О.В., Шатило В.Б., Асанов Э.О. и др. Эффективность и безопасность Ритмокор® у пожилых больных с ишемической болезнью сердца и эстрасистолической аритмией // Кровообіг та гемостаз. – 2005. – № 3-4. – С. 1-4.

12. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Типовые изменения электрофоретической подвижности эритроцитов при стрессовых воздействиях // Бюлл. экпер. биол. и мед. – 2005. – **39**, № 4. – С. 364-366.

13. Михайлович В.А., Марусанов В.Е., Бичун А.Б. Проницаемость эритроцитарной мембраны и ее

сорбционная способность – оптимальные критерии тяжести эндогенной интоксикации // Анестезиол. и реаниматол. – 1993. – № 5. – С. 66-69.

14. Новицкий В.В., Степоява Е.А., Гольдберг В.Е. и др. Эритроциты и злокачественные новообразования. – Томск: СТТ, 2000. – 156 с.

15. Олейник С.А., Гаврилюк С.О., Храпак В.В. Фармакологическое исследование антигипоксического действия фибратов // Гипоксия, автоматизированный анализ гипоксических состояний: Сб. науч. трудов / Под ред. А.З. Колчинской. В 2 т. – Москва –Нальчик: Изд-во КБНЦ РАН, 2005. – Т. 1. – С. 169-175.

16. Чернух А.М. Микроциркуляция. – М.: Наука, 1990. – 346 с.

17. Inesi G., Sumbilla C., Kirtley M.E. Temperature induced transitions of function and structure in sarcoplasmic reticulum membranes // J. Mol. Biol. – 2003. – **91**. – P. 483-504.

18. Kennett E.C., Kuchel R.W. Redox reactions and electron transfer across the red cell membrane // IUBMB. – 2003. – **55**, № 7. – P. 375-385.

19. Kolanjiappan K., Manoharan S., Kayalvizhi M. Measurement of erythrocyte lipids, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients // Clin. Chim. Acta. – 2002. – **326**, № 1-2. – P. 143-149.

20. McBride J.M., Kraemer W.J., Triplett-McBride T., Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production // Med. Sci. Sports Exerc. – 1998. – **30**, № 1. – P. 67-72.

21. Perrotta S., del Giudice E.M., Iolascon A. et al. Reversible erythrocyte skeleton destabilization is modulated by beta-spectrin phosphorylation in childhood leukemia // Leukemia. – 2001. – **15**, № 3. – P. 440-444.

22. Pribush A., Hatzkelzon L., Kapelushnik J., Mevstein N. Osmotic swelling and hole formation in membranes of thalassemie and spherocytic erythrocytes // Blood Cells. – 2003. – **31**, № 1. – P. 43-47.

23. Vaidyanathan S., Boroujerdi M. Interaction of dextrazoxane with red blood cells and hemoglobin alters pharmacokinetics of doxorubicin // Canc. Chemoth. Pharm. – 2000. – **46**, № 2. – P. 93-100.

ІЗМЕНЕНІЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВІ І ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА В МЕМБРАНАХ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТА “РИТМОКОР” ПРИ ІНТЕНСИВНОЇ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

Л.М. Гунина, С.А. Олейник, С.В. Иванов

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА
ФИЗИЧЕСКОГО ВОСПИТАНИЯ И СПОРТА УКРАИНЫ, КИЕВ,
ВОИНСКАЯ ЧАСТЬ А 0515

Резюме

В статье приведены новые данные относительно влияния лекарственного препарата “Ритмокор” на параметры гематологического гомеостаза спортсменов во время интенсивных физических нагрузок.

Установлено положительное влияние препарата на характеристики эритроцитов – их объем, степень анизоцитоза, содержание внутриклеточного гемоглобина и т.п., улучшение прооксидантно-антиоксидантного баланса в мембранах красных клеток, а также значительное увеличение количества лейкоцитов после курсового приема ритмокора военными многоборцами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: интенсивная физическая нагрузка, ритмокор, гемоглобин, эритроциты, прооксидантно-антиоксидантный баланс мембран, лейкоциты.

CHANGES OF BLOOD PARAMETERS AND PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN ERYTHROCYTE MEMBRANES UNDER EFFECT OF “RHYTHMOCOR” MEDICINE AT INTENSIVE TRAINING LOADING

L.M. Gunina, S.A. Oliynyk, S.V. Ivanov

RESEARCH INSTITUTE OF NATIONAL UNIVERSITY
OF PHYSICAL EDUCATION AND SPORTS OF UKRAINE, KYIV,
MILITARY UNIT A 0515

Summary

New data concerning effect of Rhythmocor medicine on the hematological homeostasis parameters in sportsmen during intensive training loadings are described in the article. A positive influence on erythrocyte characteristics – mean corpuscular volume, degree of anisocytosis and content of intracorpuseular haemoglobin as well as improvement of prooxidant-antioxidant balance in erythrocyte membranes and considerable increase of leucocytes level after medical taking of Rhythmocor by military all-rounders is determined.

KEY WORDS: intensive training loading, Rhythmocor, hemoglobin, erythrocytes, prooxidant-antioxidant balance of membrane, leucocytes.

Адреса для листування: Л.М. Гуніна, НДІ НУФВСУ, вул. Фізкультури, 1, Київ, ДСП, 03680, Україна.

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

ВТРАТА ГЕНА БІЛКА СЕКУРИНУ (РТТГ) ПРИВОДИТЬ ДО ПРИГНІЧЕННЯ АКТИВАЦІЇ Т-ЛІМФОЦИТІВ

Є.З. Філяк¹, І.О. Держко², О.С. Філяк¹, Р.С. Стойка^{1,2}

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИН НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА²

T-лімфоцити відіграють ключову роль у регуляції імунної системи людини та інших ссавців. Нами показано, що відсутність гена *pttg* спричиняє пригнічення активації ізолюваних *T*-лімфоцитів, індукованої моноклональними антитілами проти *T*-клітинного рецептора та CD3 комплексу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **T-лімфоцит, РТТГ, секурин.**

ВСТУП. *Pttg* (Pituitary Tumor Transforming Gene) – нещодавно відкритий онкоген, що інтенсивно експресується у більш ніж 90 % випадків аденом гіпофіза і є найкращим маркером пухлин (аденом) гіпофіза [6]. Білок РТТГ є інгібітором анафази під час мітозу, оскільки він перешкоджає передчасному розходженню сестринських хроматид шляхом пригнічення активності білка – сепарази [5]. Специфічне розщеплення білка РТТГ необхідне для запуску анафази. У мишей із делецією (нокаут) гена білка РТТГ спостерігається аномальний ріст бета-клітин острівців Лангерганса, а також клітин тимуса та яєчок [6, 7].

T-клітинний рецептор – це глікопротеїновий комплекс, відповідальний за впізнавання *T*-клітинами антигенних детермінант, презентованих за допомогою головного комплексу гістосумісності (МНС) на поверхні клітин-мішеней. При впізнаванні антигенної детермінанти *T*-клітинним рецептором відбувається передача регуляторного сигналу всередину клітини з участю іншого мембранного глікопротеїнового комплексу – CD3 [1, 4].

Відсутність гена *pttg* (нокаут *pttg*, *pttg*-KO) у мишей призводить до гіперплазії тимуса та гіпоплазії селезінки [8]. Нещодавно нами було встановлено, що відсутність цього гена спричиняє інгібування лектиніндукованої бластотрансформації (активації) ізолюваних *T*-лімфоцитів [2]. Цей ефект можна пояснити впливом *pttg*-KO на сигнальні механізми активації *T*-лімфоцитів та експресію поверхневих гліко-

протеїнів або на механізми глікозилювання білків поверхні *T*-лімфоцитів.

У даній роботі нами показано, що нокаут гена білка РТТГ спричиняє інгібування фізіологічної активації *T*-лімфоцитів, індукованої за допомогою іммобілізованих моноклональних антитіл, специфічних до *T*-клітинного рецептора (TCR) або е-субодиниці CD3 (CD3ε). Крім того, встановлено, що нокаут гена *pttg* суттєво не порушує функціональну активність залежних від трансформуючого фактора росту β (ТФРβ) шляхів інгібування активації *T*-лімфоцитів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження слугували *T*-лімфоцити, одержані із селезінки мишей дикого типу (*pttg*-WT) чи мишей із нокаутом гена білка РТТГ (*pttg*-KO). Мишей було отримано з Дослідницького інституту при Медичному центрі "Синайський кедр" (Лос-Анджелес, США).

У дослідних мишей виділяли селезінку, з якої ізолювали спленоцити, котрі відділяли від еритроцитів шляхом центрифугування у градієнті густини з використанням реактивів Lymphoprep (Nycomed Pharma, Норвегія). *T*-лімфоцити виділяли з популяції спленоцитів шляхом імуномагнітної негативної селекції із застосуванням Mouse T-cell Negative Isolation Kit (DynaL, Норвегія).

T-лімфоцити культивували у середовищі RPMI-1640 із додаванням 10 % ембріональної сироватки крові корів (обидва – Sigma-Aldrich, США/Німеччина) при 37 °C у присутності 5 % CO₂ в атмосфері культивування.

© Є.З. Філяк, І.О. Держко, О.С. Філяк, Р.С. Стойка, 2007.

Активацию Т-лімфоцитів здійснювали за допомогою моноклональних антитіл, специфічних до Т-клітинного рецептора чи антигену CD3. Антитіла додавали до середовища культивування або сорбували на поверхні культурального пластикового посуду шляхом преінкубації антитіл в 1XPBS протягом 4 год у чашці для культивування Т-лімфоцитів. Після цього розчин видаляли, а суспензію клітин інкубували в чашках з іммобілізованими антитілами протягом 72 год. Кількість активованих Т-лімфоцитів досліджували шляхом підрахунку бласто-трансформованих Т-клітин у гемоцитометричній камері.

Для пригнічення активації Т-лімфоцитів використовували ТФРβ1 (6 нг/мл), який є природним супресором активації Т-лімфоцитів.

Для статистичної обробки отриманих результатів обчислювали стандартний розкид даних у межах однієї групи та статистичну достовірність різниці між двома групами даних з урахуванням коефіцієнта Стюдента (t-test). Статистично достовірною вважали різницю при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. РТТГ є продуктом онкогену, який відіграє значну роль у функціонуванні імунної системи [8]. Нами було показано, що нокаут гена *pttg* інгібує лектиніндуковану активацію Т-лімфоцитів [2].

Оскільки ці ефекти можуть бути зумовлені змінами структури чи ступеня глікозилювання поверхневих молекул Т-лімфоцитів, у даному дослідженні визначено вплив нокауту гена *pttg* на активацію Т-лімфоцитів, індуковану глікозил-незалежним способом. Таку активацію здійснювали антитілами, специфічними до Т-клітинного рецептора (анти-TCR) та CD3 (анти-CD3). Ці антитіла спричиняють "кепінг" даних молекул на поверхні клітин, моделюючи, таким чином, впізнавання антигену Т-лімфоцитом та викликаючи активацію останніх [1].

Нами встановлено, що *pttg*-КО статистично достовірно ($p \leq 0,05$) пригнічує не лише TCR- (рис. 1B), але й CD3-залежну (рис. 1A) активацію Т-лімфоцитів. Зокрема, при індукції активації іммобілізованими анти-CD3 антитілами у концентрації 10 мкг/мл мала місце бласто-трансформація (активація) 11,4 % *pttg*-WT Т-лімфоцитів та 7,9 % *pttg*-КО Т-лімфоцитів. Після підвищення концентрації антитіл до 20 та 40 мкг/мл спостерігали зростання рівня активації, відповідно, до 17,5 і 18,6 % у Т-лімфоцитів дикого типу порівняно з 12,2 і 13,6 % у *pttg*-КО Т-лімфоцитів (див. рис. 1A). При активації Т-лімфоцитів анти-TCR антитілами (20 мкг/мл), сорбованими на культуральний пластик, мала місце активація 12,1 % ізолюваних Т-лімфоцитів дикого типу проти активації 8,4 % *pttg*-КО Т-лімфоцитів (див. рис. 1B). При підвищенні

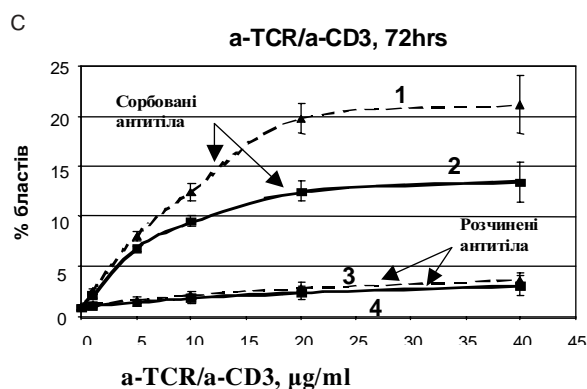
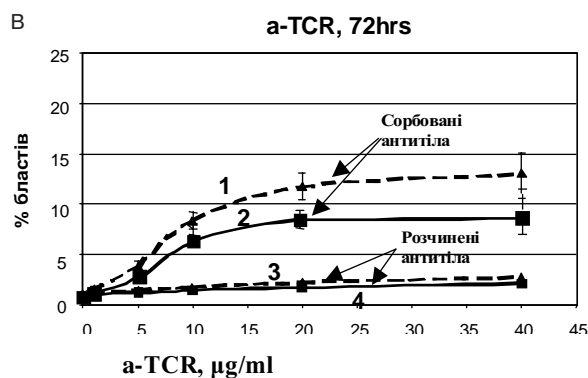
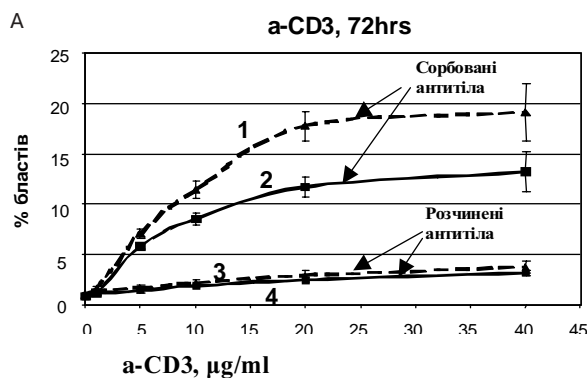


Рис. 1. Вплив нокауту гена білка РТТГ на викликану анти-CD3 (А) та анти-TCR (В) антитілами чи сумішшю цих антитіл (С) активацію Т-лімфоцитів мишей. Т-лімфоцити було ізолювано із селезінки мишей та активовано моноклональними антитілами, розчиненими у культуральному середовищі (1, 2) чи сорбованими на культуральний пластик (3, 4), як описано у методах дослідження.

Примітка. 1 – Т-лімфоцити (*pttg*-WT), активовані сорбованими анти-CD3 антитілами;
 2 – Т-лімфоцити (*pttg*-КО), активовані сорбованими анти-CD3 антитілами;
 3 – Т-лімфоцити (*pttg*-WT), активовані розчиненими анти-CD3 антитілами;
 4 – Т-лімфоцити (*pttg*-КО), активовані розчиненими анти-CD3 антитілами.

концентрації антитіл до 40 мкг/мл виявляли активацію 12,75 % *pttg*-WT Т-лімфоцитів проти 8,6 % активованих *pttg*-KO Т-лімфоцитів (див. рис. 1В).

Отже, нами встановлено, що інгібувальний ефект нокауту гена *pttg* на активацію Т-лімфоцитів не залежить від глікозильної складової поверхневих молекул Т-лімфоцитів. Цей ефект може бути викликаний змінами в експресії CD3 та TCR на поверхні Т-лімфоцитів із *pttg*-KO порівняно з Т-лімфоцитами дикого типу або змінами у системі внутрішньоклітинного сигналювання, відповідального за активацію Т-лімфоцитів. Для перевірки першого припущення ми провели активацію *pttg*-WT і *pttg*-KO Т-лімфоцитів сумішшю сорбованих анти-TCR та анти-CD3 антитіл. Інгібувальний ефект нокауту *pttg* виявлено як при активації анти-TCR, так і при дії анти-CD3 антитіл (див. рис. 1). Отже, якщо виявлений ефект викликаний змінами в експресії CD3 та TCR, то при індукуванні активації Т-лімфоцитів сумішшю двох досліджуваних антитіл даний інгібувальний ефект повинен сумуватися (акумуляватися) і відносна різниця між активацією Т-лімфоцитів і *pttg*-WT та *pttg*-KO Т-лімфоцитів повинна зростати порівняно з активацією лише одним із досліджуваних видів антитіл.

Встановлено, що нокаут гена *pttg* достовірно ($p < 0,005$) пригнічує активацію Т-лімфоцитів, індуковану сумішшю (1:1) анти-CD3 та анти-TCR антитіл. При активації Т-лімфоцитів такою сумішшю антитіл у сумарній концентрації 20 мкг/мл було виявлено активацію 19,7 % Т-лімфоцитів дикого типу та активацію 12,8 % *pttg*-KO Т-лімфоцитів (рис. 2). При підвищенні концентрації антитіл до 40 мкг/мл спостерігали активацію 20,65 % *pttg*-WT Т-лімфоцитів проти активації 14,5 % *pttg*-KO Т-лімфоцитів (див. рис. 2). Отже, показано, що відсутність гена *pttg* пригнічує активацію Т-лімфоцитів, індуковану сумішшю (1:1) анти-CD3 та анти-TCR антитіл, проте не виявлено збільшення відносної різниці (акумуляції ефекту) між активацією *pttg*-WT Т-лімфоцитів та *pttg*-KO Т-лімфоцитів (див. рис. 2). Отримані дані опосередковано підтверджують, що інгібувальний вплив нокауту гена *pttg* на активацію Т-лімфоцитів зумовлений не змінами в експресії TCR та CD3, а, швидше за все, змінами у сигнальних шляхах Т-лімфоцитів, відповідальних за функціональну активацію останніх.

Для того щоб перевірити, чи виявлений нами інгібувальний ефект генного нокауту є

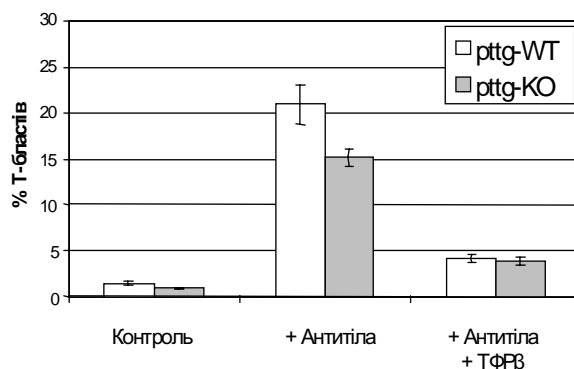


Рис. 2. Вплив нокауту гена *pttg* на ТФРβ-залежну супресію активації Т-лімфоцитів. Т-лімфоцити було виділено із селезінки мишей та активовано сумішшю (1:1) моноклональних анти-CD3 та анти-TCR антитіл, сорбованих на культуральний пластик, як описано у методах дослідження. Активацію Т-лімфоцитів пригнічували шляхом додавання ТФРβ1 (6 нг/мл).

специфічним лише для активаційних процесів у Т-лімфоцитах, ми дослідили вплив цього нокауту гена *pttg* на викликане ТФРβ1 пригнічення активації Т-лімфоцитів. ТФРβ1 – це цитокін системної дії, що вважається природним супресором активації Т-лімфоцитів [1, 3]. Нами встановлено, що ТФРβ1 інгібує активацію не лише *pttg*-WT Т-лімфоцитів, але й *pttg*-KO Т-лімфоцитів (рис. 3). Зокрема, показано, що при інкубації Т-лімфоцитів у присутності сорбованих анти-TCR та анти-CD3 антитіл і ТФРβ1 (6 нг/мл) активація Т-лімфоцитів дикого типу не перевищує 4,6 %, а *pttg*-KO Т-лімфоцитів – 4,4 % порівняно з, відповідно, 21,2 і 15,1 % активованих Т-лімфоцитів за відсутності ТФРβ1. Отже, нами встановлено, що нокаут гена *pttg* пригнічує сигнальні шляхи, відповідальні за активацію Т-лімфоцитів, і не впливає на ТФРβ-залежні сигнальні шляхи, відповідальні за супресію активації Т-лімфоцитів.

ВИСНОВОК. Нокаут гена *pttg* пригнічує активацію (бластотрансформацію) Т-лімфоцитів, викликану іммобілізованими анти-TCR та анти-CD3 антитілами, інгібує активаційні сигнальні шляхи Т-лімфоцитів і не впливає на функціональну активність сигнальних шляхів, відповідальних за ТФРβ-залежну супресію активації Т-лімфоцитів.

Автори щиро вдячні проф. Ш. Мелмеду (Лос-Анджелес, США) за надання мишей із нокаутом гена *pttg*. Окремі частини даної роботи було виконано за фінансової підтримки фондів INTAS (Європейський Союз) та WUBMRC (Україна – США).

ЛІТЕРАТУРА

1. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. – М.: Мир, 2000.
2. Філяк Є.З., Філяк О.С., Афанасьєв С., Стойка Р.С. Дефіцит гену білка секурину (PTTG) знижує рівень активації Т лімфоцитів, індукованої лектином // Експерим. та клін. фізіол. та біохім. – 2006. – № 4.
3. Li M., Wan Y., Sanjabi S., Robertson A. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses // *Ann. Rev. Immunol.* – 2006 – № 24. – P. 99-146.
4. Santana M., Esquivel-Guadarrama F. Cell biology of T-cell activation and differentiation // *Int. Rev. Cytol.* – 2006. – № 250. – P. 217-274.
5. Stemmann O., Gorr I.H., Boos D. Anaphase tropy-turvy: Cdk1 a securin, separase a CKI // *Cell Cycle.* – 2006. – № (1). – P.11-13.
6. Tfelt-Hansen J., Kanuparthi D., Chattopadhyay N. The emerging role of Pituitary Tumor Transforming Gene in tumorigenesis // *Clin. Med. and Res.* – 4, № 2. – P. 130-137.
7. Wang Z., Moro E., Kovacs K. et al. Pituitary tumor transforming gene-null male mice exhibit impaired pancreatic beta cell proliferation and diabetes // *PNAS.* – 2003. – № 100 (6). – P. 3428-3432.
8. Wang Z., Yu R., Melmed S. Mice lacking pituitary tumor transforming gene show testicular and splenic hypoplasia, thymic hyperplasia, thrombocytopenia, aberrant cell cycle progression, and premature centromere division // *Mol. Endocrinol.* – 2001. – № 15 (11). – P. 1870-1879.

ОТСУТСТВИЕ ГЕНА *PTTG* ВЕДЕТ К УГНЕТЕНИЮ АКТИВАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Е.З. Філяк¹, І.О. Держко², О.С. Філяк¹, Р.С. Стойка^{1,2}

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ, ЛЬВОВ¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКА²

Резюме

T-лимфоциты играют ключевую роль в регуляции иммунной системы человека и других ссавцов. Нами показано что отсутствие гена *pttg* приводит к угнетению активации изолированных *T*-лимфоцитов, индуцированной моноклональными антителами против *T*-клеточного рецептора и *CD3* комплекса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **T-лимфоцит, PTTG, секурин.**

LACK OF PROTEIN SECURIN GENE *PTTG* CAUSES INHIBITION OF T-LYMPHOCYTES ACTIVATION

Ye.Z. Filyak¹, I.O. Derzhko², O.S. Filyak¹, R.S. Stoyka^{1,2}

INSTITUTE OF CELL BIOLOGY OF UKRAINIAN NAS, LVIV¹
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO²

Summary

Pituitary tumor transforming gene (PTTG) is a newly discovered oncogene which was shown to take part in regulation of human and mammal immune system. Here we demonstrated that pttg-knockout causes inhibition of anti-CD3 and anti-TCR antibodies-induced T-cell activation. Besides, we found that PTTG-knockout did not influence TGF β -dependent inhibition of T-lymphocytes activation.

KEY WORDS: **T-lymphocytes, PTTG, securin.**

Адреса для листування: Є.З. Філяк, Інститут біології клітин НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 29005, Україна.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЯК ОДИН З УНІВЕРСАЛЬНИХ МЕХАНІЗМІВ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ РІЗНИХ СПОЛУК РТУТІ

О.Г. Пихтеева, Д.В. Большой, О.В. Третьякова
УКРАЇНСЬКИЙ НДІ МЕДИЦИНИ ТРАНСПОРТУ, ОДЕСА

В експериментах на білих нелінійних щурах досліджено процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) при дії низьких доз різних сполук ртуті. Показано вплив цих сполук на процес накопичення продукту ПОЛ – малонового діальдегіду – в органах-мішенях.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **ртуть, малоновий діальдегід, оксидативний стрес.**

ВСТУП. Серед механізмів токсичної дії важких металів (схема 1) важлива, а у багатьох випадках вирішальна роль належить процесам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Індикатором патологічного посилення процесів ПОЛ традиційно вважається рівень малонового діальдегіду (МДА) в тканинах [3]. Підвищення концентрації МДА в органах лабораторних тварин при дії різних сполук ртуті, порівняно з контрольними тваринами, може свідчити про порушення рівноваги прооксидантно-антиоксидантних систем.

Розуміння механізмів процесів ПОЛ при отруєннях сполуками важких металів допомогло б вибрати адекватну схему лікування інтоксикацій, яка була б спрямована на підвищене виведення токсичних іонів, а також дозволяла б нормалізувати позначену рівновагу.

Мета роботи – оцінити роль ПОЛ у пошкоджувальній дії різних сполук ртуті при внутрішньошлунковому введенні їх у низьких дозах (1/200 ЛД₅₀).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на білих нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 160-200 г, які перебували на загальновіварному раціоні. Щурів поділили на 5 груп по 10 тварин. Було проведено гостре і субхронічне введення нітрату, хлориду, фосфату й етилхлориду ртуті (II) внутрішньошлунково за допомогою зонда в дозі 0,1 мг/кг (по металу). Виводили щурів з експерименту на 15 та 30 дні досліду (відповідно, по 5 тварин з кожної групи) шляхом декапітації під нембу-

© О.Г. Пихтеева, Д.В. Большой, О.В. Третьякова, 2007.

таловим наркозом. Виділяли мозок, нирки, печінку, кров, в яких визначали вміст МДА за загальноприйнятою методикою [3]. При підвищеній температурі в кислому середовищі МДА реагував з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання при 532 нм. Молярний коефіцієнт поглинання цього комплексу – $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$. Необхідні розрахунки і статистичну обробку результатів проводили з використанням програми "Microsoft Excel" [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При внутрішньошлунковому введенні нітрату, хлориду, фосфату й етилхлориду ртуті (II) в дозі 0,1 мг/кг (по металу) протягом 30 днів в основних органах і тканинах (печінка, нирки, мозок, кров) було вивчено ряд біохімічних показників, зокрема вміст МДА. Динаміку зміни концентрації МДА в органах і тканинах піддослідних щурів відносно інтактних тварин наведено на рисунку 1. Як видно з рисунка 1, характер дії неорганічних сполук ртуті на прооксидантно-антиоксидантну систему відрізнявся від такого для органічної сполуки (етилмеркурхлориду). Крім того, незважаючи на те, що в неорганічних сполуках ртуті більша біологічна дія, поза сумнівом, належала іону металу, природа аніона теж відіграла певну роль, причому в різних органах вплив аніона був неоднаковим.

Якщо розглядати дію лише неорганічних сполук ртуті, то в печінці й мозку найбільша концентрація МДА спостерігалася після 15 введень $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$. Після 30 введень неорганічних сполук ртуті в тканинах усіх досліджених органів вміст МДА знижувався, набли-

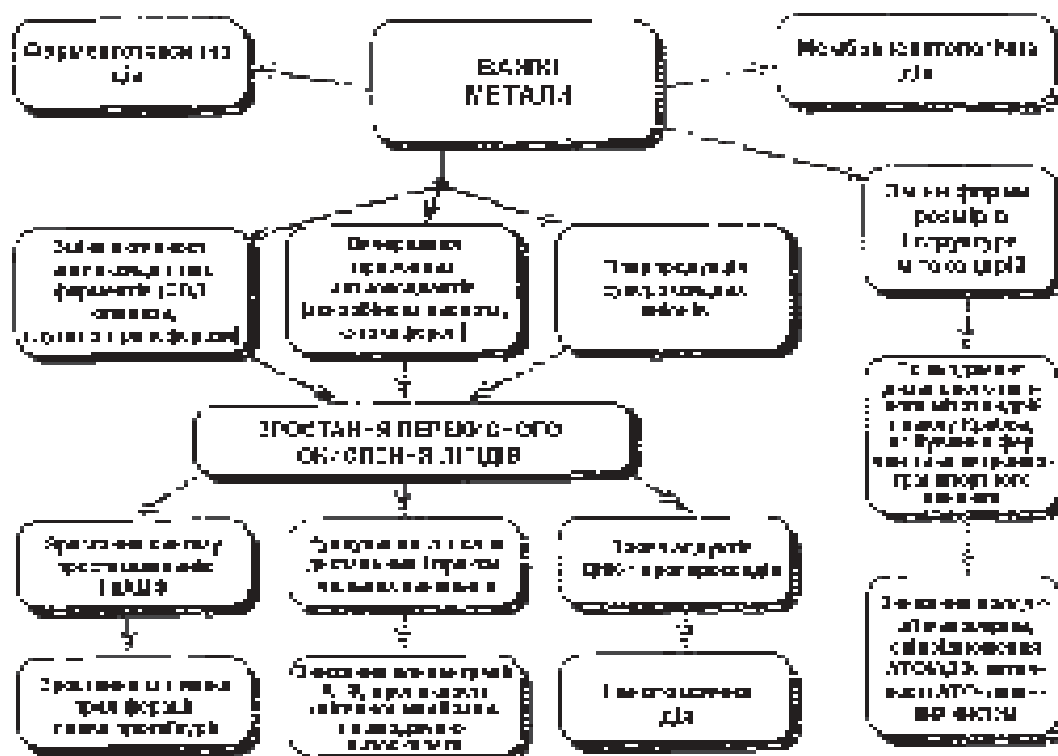


Схема 1. Місце перекисного окиснення ліпідів у механізмах токсичної дії важких металів.

жаючись до нормальних (контрольних) значень. Імовірно, при невеликих дозах антиоксидантна система до 30 діб введення адаптувалася до надходження сульфгідрильної отрути за рахунок індуктивного синтезу ферментів антиоксидантної системи, а також специфічного металотранспортного білка металотіонеїну, багатого на сульфгідрильні групи, як було показано нами раніше [2]. Не виключено, що одна з можливих біологічних функцій металотіонеїну полягає в обриві ланцюга каскаду патологічних окисно-відновних реакцій.

Інша картина спостерігалася при введенні органічної сполуки ртуті – C_2H_5HgCl . У всіх органах із збільшенням кількості введень відбувалося зростання вмісту продуктів ПОЛ, що особливо помітно в печінці й крові. У мозку і нирках мало місце деяке зниження вмісту МДА на 30 день порівняно з 15-м, але концентрації продуктів ПОЛ при цьому значно перевищували значення, одержані для інтактних тварин. Можливо, зростання ПОЛ у перші дні експозиції сприяло порушенню цілісності клітинних мембран, полегшуючи проходження достатньо об'ємної молекули C_2H_5HgCl всередину клітини.

Поширена думка [4], що для марганцю, хрому, нікелю, заліза можливим механізмом ініціації ланцюга окисно-відновних реакцій є зміна ступеня окиснення іона металу. Проте через будову електронних оболонок елементів

побічної підгрупи другої групи ртуть не схильна змінювати ступінь окиснення в організмі, оскільки володіє повністю завершеним d-рівнем, перехід електронів з якого на вищерозміщений p-рівень енергетично не вигідний. Тому механізм зміни характеру ПОЛ, імовірно, відрізняється від такого для металів із змінним ступенем окиснення.

Ми вважаємо, що в основі зростання концентрації продуктів ПОЛ лежать зниження активності антиоксидантних ферментів, що викликане блокуванням сульфгідрильних груп в активному центрі ферментів, зміна активної конформації на неактивну за рахунок зв'язування з периферичними амініми, імінними, гідроксильними або карбоксильними групами амінокислот у білках, а також зменшення кількості відновленого глутатіону, який є необхідним компонентом антиоксидантної системи.

ВИСНОВКИ. 1. Важкі метали зв'язуються із SH-групами ферментів і транспортних білків, порушуючи їх функціонування.

2. Токсична дія важких металів не обмежується простим блокуванням з сульфгідрильними групами білків. Важкі метали не тільки "сульфгідрильні отрути".

3. Токсичність важких металів залежить від шляху надходження в організм, форми, а також стану самого організму (пошкодження печінки

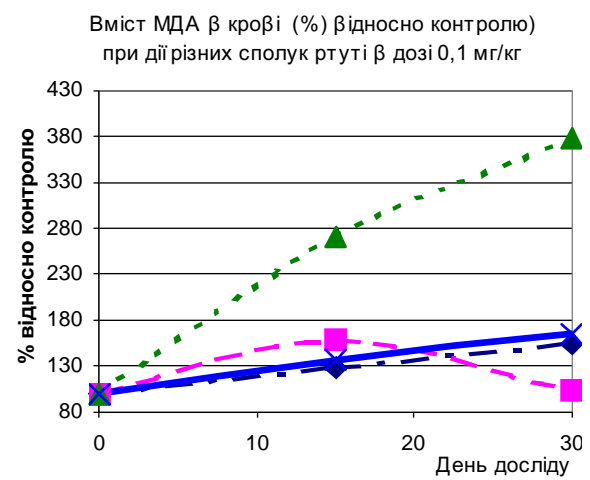
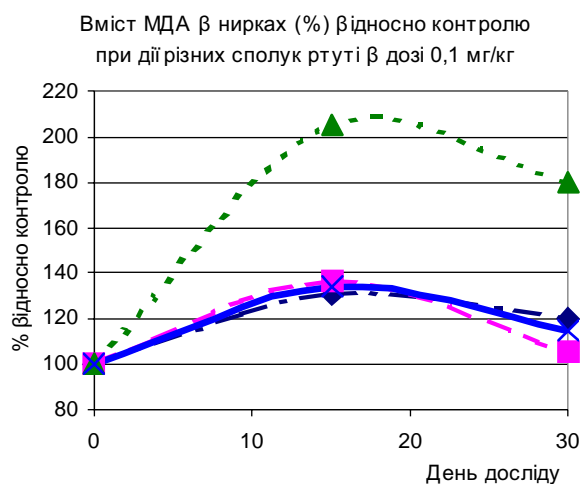
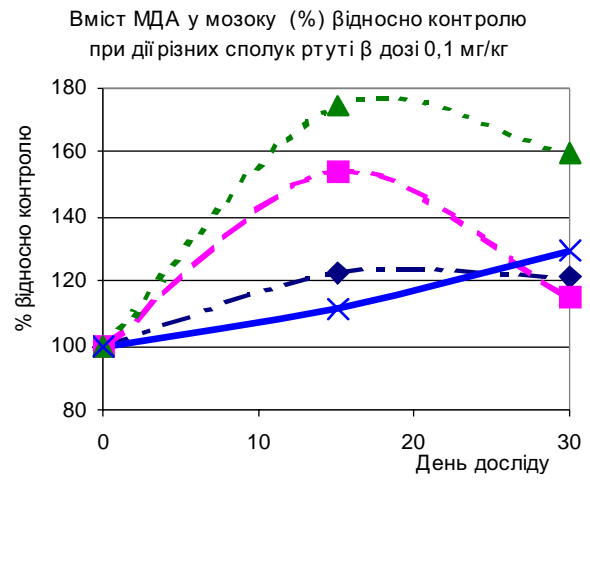
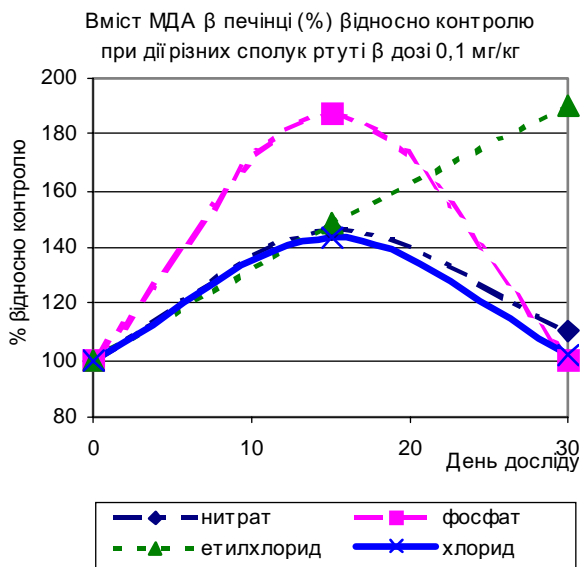


Рис. 1. Вміст МДА в печінці, нирках, мозку і крові щурів, які одержували різні сполуки ртуті в дозі 0,1 мг/кг протягом різного часу.

або нирок, наприклад в результаті вірусної інфекції, харчування з недостатньою кількістю білкової їжі, порушення системи антиоксидантного захисту і под., можуть посилювати токсичну дію важких металів).

4. При закріпленні до поверхневих функціональних груп (-SH, -NH₂, COOH і ін.) білків, пептидів, нуклеїнових кислот ртуть здатна змінювати конформацію цих біомолекул, що призводить до порушення їх функціонування.

5. Дія важких металів на організм має комплексний характер. Ймовірно, основну руйнівну роль відіграє каскад хімічних реакцій, ініційованих сполуками важких металів. Це призводить до того, що наслідки дії важких металів зберігаються тривалий час після того, як основна частина токсиканта вже виведена з організму природним шляхом або після проведення детоксикаційної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кох О. MS Excel 4.0. для користувача!: Пер. з нім. – К.: Торг.-изд. бюро ВНУ, 1994. – 448 с.
2. Пихтеева Е.Г., Шафран Л.М. Експериментальне вивчення ролі металотіонеїнів в реалізації

токсичної дії низьких доз кадмію і ртуті // III читання ім. В.В. Підвисоцького // Тези доповідей наукової конференції 27-29 травня 2004 р., м. Одеса. – С. 78-79.

3. Стальна І.Д., Гарішвілі Т.Г. Сучасні методи в біохімії / Під ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66.

4. Kasprzak K.S. Possible role of oxidative damage in metal-induced carcinogenesis // J. Cancer Invest. – 1995. – 13, № 4. – P. 411-430.

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС КАК ОДИН ИЗ УНИВЕРСАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РТУТИ

Е.Г. Пыхтеева, Д.В. Большой, Е.В. Третьякова
УКРАИНСКИЙ НИИ МЕДИЦИНЫ ТРАНСПОРТА, ОДЕССА

Резюме

В экспериментах на белых нелинейных крысах исследованы процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) при воздействии низких доз различных соединений ртути. Показано влияние этих соединений на процесс накопления продукта ПОЛ – малонового диальдегида – в органах-мишенях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ртуть, малоновый диальдегид, оксидативный стресс.**

THE OXIDATIVE STRESS AS A GENERAL PURPOSE MECHANISM OF TOXIC ACTION OF VARIOUS MERCURY COMPOUNDS

O.H. Pykhteyeva, D.V. Bolshoy, O.V. Tretyakova
UKRAINIAN SRI OF TRANSPORT MEDICINE, ODESSA

Summary

Processes of lipid peroxidation (LPO) are investigated in experiments on white nonlinear rats at influence of low doses of various mercury compounds. Influence of these compounds upon the process of the LPO product accumulation – malonic dialdehyde – in target organs is shown.

KEY WORDS: **mercury, malonic dialdehyde, oxidative stress.**

Адреса для листування: О.Г. Пыхтеева, Український НДІ медицини транспорту, Одеса, 65100, Україна.

КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНИЙ ОБМІН І СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ПАЦІЄНТІВ ПІСЛЯ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД

Р.Ю. Рузібаєв

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті проаналізовано результати денситометричного обстеження і показники кальцій-фосфорного обміну в пацієнтів, що перенесли хірургічне лікування виразкової хвороби у віддалений період. Отримані дані показали, що у таких хворих після операції у віддалений період відбувається порушення кальцій-фосфорного обміну у вигляді гіпокальціємії та гіперфосфатемії. У 62,2 % осіб виявлено зниження мінеральної щільності кісткової тканини у вигляді остеопенії та остеопорозу, це особливо помітно після резекції шлунка за методом Більрот-II і Більрот-I. Органозберігаючі та органощадні методи лікування сприятливо впливають на стан кісткової тканини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хірургічне лікування виразкової хвороби, кальцій-фосфорний обмін, мінеральна щільність кісткової тканини.

ВСТУП. Кальцій – один з п'яти (О, С, Н, Сі, Са) найбільш поширених елементів, у середньому в тілі людини налічується 1 кг кальцію, 99 % якого міститься в скелеті [7]. Всмоктування кальцію в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) найінтенсивніше відбувається у дванадцятипалій кишці та початковому відділі тонкої кишки [6]. Патологія ШКТ часто порушує всмоктування кальцію, виявлено, що саме в період загострення виразкової хвороби (ВХ) часто спостерігається гіперкальціємія або гіпокальціємія [1, 5]. Після резекції шлунка у хворих нерідко розвиваються глибокі порушення кальцієвого обміну, що проявляються зменшенням концентрації кальцію в крові та зниженням його вмісту в кістці [4]. Велику роль у порушенні травлення відіграє резекція шлунка за методом Більрот-II. Після цієї операції спостерігається неспроможність резервуарної функції шлунка, виключається з травлення дванадцятипала кишка, що призводить до порушення обміну вуглеводів, жирів, білків і, особливо, мінеральних речовин [9]. Всмоктування кальцію у кишечнику залежить, мабуть, від стану кальцієвих каналів, а також від присутності в кишечнику та ШКТ сахаридів, що підсилюють всмоктування кальцію в 2 рази. Дія глюкози, наприклад, полягає в забезпеченні енергією процесу транспорту кальцію через

© Р.Ю. Рузібаєв, 2007.

клітинні мембрани клітин кишечника. Цей процес особливо порушений після резекційних методів лікування ВХ, оскільки у 23 % хворих в післяопераційний період спостерігається гіпоглікемічний синдром [1].

Відхилення вмісту кальцію в крові й тканинах від норми призводить до розвитку не тільки функціональних, але і морфологічних порушень у діяльності багатьох органів і систем організму [3]. Одним з таких проявів патології обміну кальцію є остеопороз. У сучасній класифікації остеопорозу в розділі "Вторинні остеопорози" є підрозділ "Постгастрорезекційні остеопорози" [2], проте досліджень, присвячених цьому питанню, дуже мало і вони багаторічної давності [8, 9, 10], а вітчизняні дані відсутні.

Метою даного дослідження була оцінка показників кальцій-фосфорного обміну і стану кісткової тканини у пацієнтів, оперованих різними методами з приводу ВХ у віддалений період.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 222 (з них 62 жінки) пацієнтів після хірургічного лікування ВХ у віддалений період. Середній вік хворих складав (49,88±0,86) року, післяопераційний період – (6,09±0,33) року. Залежно від методу хірургічного лікування ВХ пацієнтів поділили на три групи. До 1-ї групи ввійшов 61 (27,5 %) пацієнт (41 чоловік і 20 жінок), про-

оперований із застосуванням органозберігаючих і органощадних оперативних (ОЗ і ОЦО) втручань. До 2-ї – 61 (27,5 %) хворий (42 і 19 відповідно) після резекції шлунка за методом Більрот-I. До 3-ї – 100 (45 %) обстежених (77 і 23 відповідно) після резекції шлунка за методом Більрот-II.

Стан кісткової тканини (КТ) визначали в поперековому відділі хребта L₁-L₄ методом двофотонної рентгенівської абсорбціометрії (DPX-A) за допомогою апарата "Lunar Corp" (США). Згідно з рекомендаціями ВООЗ, діагностику остеопорозу проводили на підставі Т-критерію: за норму брали відхилення менш ніж на 1 стандартне відхилення (SD), тобто вище ніж -1SD; значення $-1SD \leq T \leq 2,5SD$ оцінювали як остеопенію, значення Т-критерію, менше -2,5SD, – як остеопороз.

Показники кальцій-фосфорного обміну оцінювали за концентрацією загального кальцію в крові, неорганічного фосфору і за активністю загальної лужної фосфатази (ЛФ) у сироватці крові методом імуноферментного аналізу.

Отримані результати обробляли за допомогою програми Microsoft Excel XP, розраховували середні арифметичні величини (M) і їх погрішності (m).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати, отримані при дослідженні стану КТ прооперованих пацієнтів, наведено в таблиці 1.

Аналіз стану КТ показав, що після оперативного лікування ВХ у віддалений період у 138 (62,2 %) пацієнтів виявлено остеопорозні стани, причому в жінок стан КТ, порівняно з чоловіками, був гіршим. З 62 жінок у 43 (69,4 %) спостерігався остеопороз, тоді як у чоловіків цей показник мав місце в 95 (59,4 %) випадках, тобто на 10 % менше.

При аналізі впливу методу хірургічного лікування ВХ на стан КТ встановлено, що найкращі показники мінералізації кісткової тканини було

отримано після застосування методів ОЗ і ОЦО. З 61 такого хворого нормальний стан МЩКТ діагностовано в 37 (60,7 %) випадках, а остеопороз – у 24 (39,3 %). На другому місці – результати при застосуванні резекції за методом Більрот-I: відповідно, в 23 (37,7 %) і 38 (62,3 %) випадках. Гірші результати про стан КТ отримано після резекції шлунка за методом Більрот-II: нормальна МЩКТ – у 24 (24 %) хворих, остеопороз – у 76 (76 %).

При вивченні стану КТ залежно від статі по групах встановлено, що більший відсоток остеопорозу виявлено також серед жінок. Після ОЗ і ОЦО у жінок зниження МЩКТ констатовано у 8 осіб (40 %), норма – у 12 (60 %), тоді як цей показник у чоловіків становив 16 (39 %) і 25 (61 %) відповідно, а після резекції шлунка за методом Більрот-I в жінок – 14 (73,7 %), 5 (26,3 %) відповідно, в чоловіків – 24 (57,2 %), 18 (42,8 %) відповідно, після резекції за Більрот-II – 21 (91,3 %), 2 (8,7 %) в жінок, 55 (71,4 %), 22 (28,6 %) в чоловіків.

Лише після застосування методів ОЗ і ОЦО різниця між статями в частоті остеопорозу і нормальній МЩКТ складала 1,0 %. В інших двох групах вона становила 16,5 і 19,9 %, більше у жінок.

Детальний аналіз кальцій-фосфорного обміну в групах провели залежно від стану КТ (табл. 2).

У нормі рівень кальцію в сироватці крові складає 2,20-2,65 ммоль/л, фосфору – 0,65-1,61 ммоль/л і ЛФ – 0,65-2,50 ммоль/л·год. У цілому показники кальцію, фосфору і ЛФ у трьох групах і при різних станах КТ (норма, остеопенія та остеопороз) залишалися в межах норми. Але при остеопенії спостерігалася гіпокальціємія відносно нормальних показників своєї групи, вміст кальцію достовірно був зниженим у всіх трьох групах ($p < 0,001$). У пацієнтів з остеопорозом, навпаки, мала місце гіперкальціємія щодо даних пацієнтів з остеопенією,

Таблиця 1 – Стан кісткової тканини залежно від методу операції та статі

| Група пацієнтів залежно від методу операції і статі | Стан кісткової тканини в L ₁ -L ₄ | | | | | |
|---|---|------|------------|------|------------|------|
| | норма | | остеопенія | | остеопороз | |
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| ОЗ і ОЦО, n=61 | 37 | 60,7 | 18 | 29,5 | 6 | 9,8 |
| Ч, n=41 | 25 | 61,0 | 12 | 29,3 | 4 | 9,7 |
| Ж, n=20 | 12 | 60,0 | 6 | 30,0 | 2 | 10,0 |
| Більрот-I, n=61 | 23 | 37,7 | 23 | 37,7 | 15 | 24,6 |
| Ч, n=42 | 18 | 42,9 | 16 | 38,1 | 8 | 19,0 |
| Ж, n=19 | 5 | 26,4 | 7 | 36,8 | 7 | 36,8 |
| Більрот-II, n=100 | 24 | 24,0 | 36 | 36,0 | 40 | 40,0 |
| Ч, n=77 | 22 | 28,6 | 27 | 35,1 | 28 | 36,3 |
| Ж, n=23 | 2 | 8,7 | 9 | 39,1 | 12 | 52,2 |

Таблиця 2 – Показники кальцій-фосфорного обміну залежно від стану КТ і методу хірургічного лікування ВХ (M±m)

| Показники | | Стан кісткової тканини в L ₁ -L ₄ | | | | | |
|-----------------------|-----------------|---|------------|----|---------------|----|---------------|
| | | п | норма | п | остеопенія | п | остеопороз |
| ОЗ і ОЦЮ, n = 61 | Т-критерій (SD) | 37 | -0,07±0,08 | 18 | -1,89±0,11*** | 6 | -3,00±0,25*** |
| | Са, ммоль/л | | 2,56±0,02 | | 2,24±0,07*** | | 2,37±0,09** |
| | Р, ммоль/л | | 1,25±0,06 | | 1,25±0,05 | | 1,37±0,08 |
| | ЛФ, ммоль/л·год | | 1,31±0,04 | | 1,39±0,07 | | 1,49±0,10 |
| Більот-I, n = 61 | Т-критерій (SD) | 23 | -0,27±0,09 | 23 | -1,58±0,06*** | 15 | -3,18±0,22*** |
| | Са, ммоль/л | | 2,52±0,03 | | 2,27±0,04*** | | 2,39 ± 0,05* |
| | Р, ммоль/л | | 0,95±0,03 | | 1,35±0,07*** | | 1,46±0,08*** |
| | ЛФ, ммоль/л·год | | 1,07±0,05 | | 1,46±0,09*** | | 1,52±0,10*** |
| Більот-II, n = 100 | Т-критерій (SD) | 24 | -0,24±0,09 | 36 | -1,81±0,06*** | 40 | -3,10±0,16*** |
| | Са, ммоль/л | | 2,36±0,03 | | 2,20±0,01*** | | 2,24±0,01*** |
| | Р, ммоль/л | | 1,09±0,04 | | 1,29± 0,03*** | | 1,26±0,02*** |
| | ЛФ, ммоль/л·год | | 1,11±0,06 | | 1,34±0,03** | | 1,39±0,04*** |

Примітка. * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 достовірність відмінностей з нормальними показниками своєї групи.

хоча порівняно з нормою показники були достовірно нижчими (p<0,05; p<0,01; p<0,001). Рівень фосфору в 1-й групі (ОЗ і ОЦЮ) при остеопенії та остеопорозі підвищувався, але недостовірно, а в 2-й і 3-й групах відрізнявся з достовірністю p<0,00. У групах при остеопенії та остеопорозі спостерігалось підвищення активності ЛФ, але зростання в 1-й групі було недостовірним, а в 2-й та 3-й – достовірним (p<0,01; p<0,001).

Отримані нами результати збігаються з даними ряду дослідників [8, 9, 10] про те, що часткова гастректомія призводить до збільшення частоти виникнення зниження МЦКТ, що особливо виражено у жінок. Приблизно у 15 % осіб, які перенесли операцію на шлунку, було встановлено гіперфосфатемію, часто спостерігалась гіпокальціємія.

Таким чином, аналіз денситометричних і біохімічних показників у пацієнтів, оперованих з приводу ВХ гастродуоденальної зони у віддалений період, показав, що в них відбува-

ються порушення кальцій-фосфорного обміну у вигляді гіпокальціємії і гіперфосфатемії. Підвищення активності ЛФ у всіх трьох групах свідчить про включення механізму регуляції кальцію за рахунок "вимивання" його з кісток, оскільки рівень кальцію в крові є фізіологічною константою. Це вказує на переважання процесу резорбції КТ над процесом кісткоутворення, який зрештою призведе до постгастро-резекційного вторинного остеопорозу.

ВИСНОВКИ. 1. Зниження МЦКТ є ускладненням оперативного втручання в гастродуоденальній зоні з приводу ВХ. Втрати КТ залежать від методу хірургічного лікування ВХ, і він обов'язково впливає на кальцій-фосфорний обмін.

2. За рахунок порушення кальцій-фосфорного обміну в пацієнтів після резекційних методів лікування ВХ остеопороз є більш виражений, ніж у пацієнтів, при лікуванні яких застосовували ОЗ і ОЦЮ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вилявін Г.Д., Бердов Б.А. Болезни оперированного желудка. – М.: Медицина, 1975. – 296 с.
2. Марова Е.И. Классификация остеопороза // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 1. – С. 8-12.
3. Нарушения обмена кальция / Под ред. Д. Хита, С.Дж. Маркса. – М.: Медицина, 1985. – 334 с.
4. Романенко В.Д. Физиология кальциевого обмена. – К.: Наукова думка, 1975. – 170 с.
5. Титов В.Н. Методические и диагностические

аспекты определения содержания кальция // Клиническая диагностика. – 1996. – № 2. – С. 23-26.

6. Хара М.Р. Патологическая физиология кальций-фосфорного обмена: Лекция. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1999. – 26 с.

7. Яковлева С.С. О метаболизме Са в клетках и взаимосвязи между нарушением его обмена и возникновением остеопороза // Успехи современной биологии. – 1990. – 110, № 3 (6). – С. 363-377.

8. Eddy R.L. Metabolic bone disease after gastrectomy // Am. J. Med. – 1971. – **50**. – P. 442-449.
9. Klein K.B., Orwol E.S., Libermann D.A. et al. Metabolic bone disease in asymptomatic men after

partial gastrectomy with Billroth II anastomosis // Gastroenterology. – 1987. – **92**. – P. 608-616.
10. Nilas L., Christiansen C., Christiansen J. Regulation of vitamin D and calcium metabolism after gastrectomy // Gut. – 1985. – **26**. – P. 252-257.

КАЛЬЦИЙ-ФОСФОРНЫЙ ОБМЕН И СОСТОЯНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД

Р.Ю. Рузибаев

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье проанализированы результаты денситометрического обследования и показатели кальций-фосфорного обмена у пациентов, перенесших хирургическое лечение язвенной болезни в отдаленный период. Полученные данные показали, что у таких больных после операции в отдаленный период происходит нарушение кальций-фосфорного обмена в виде гипокальциемии и гиперфосфатемии. У 62,2 % лиц обнаружено снижение минеральной плотности костной ткани в виде остеопении и остеопороза, это особенно заметно после резекции желудка по методу Бильрот-II и Бильрот-I. Органосохраняющие и органощадящие методы лечения благоприятно влияют на состояние костной ткани.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хирургическое лечение язвенной болезни, кальций-фосфорный обмен, минеральная плотность костной ткани.

CALCIUM-PHOSPHORUM METABOLISM AND CONDITION OF BONE TISSUE AT PATIENTS AFTER SURGICAL TREATMENT OF ULCER DISEASE IN REMOTE PERIOD

R.Y. Ruzibayev

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The results of densitometry investigation and figures of calcium-phosphorus metabolism at patients, who had been undergone surgical treatment of ulcer disease in remote period are analysed in the article. The data obtained proved, that patients after operation in remote period had such disfunctions of calcium-phosphorus metabolism as hypocalcemia, hyperphosphatemia. 62,2 % patients had decreasing of mineral density of bone tissue such as osteopenia and osteoporosis, especially after resection of stomach by Bilioth-I and Bilioth-II methods. Organ-saving and organ-sparing operations have good influence on the condition of bone tissue.

KEY WORDS: surgical treatment of ulcer disease, calcium-phosphorus metabolism, mineral density of bone tissue.

Адреса для листування: Р.Ю. Рузибаев, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ МЕТИЛМАЛОНОВОЇ КИСЛОТИ В СЕЧІ

О.І. Чернوبرова, О.О. Пентюк, О.С. Азаров, О.В. Ільченко, В.П. Маленький
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

Пропонується модифікований метод визначення метилмалонової кислоти (ММК) у сечі, який полягає в пропусканні 1 мл сечі крізь іонообмінну колонку із сильноосновною іонообмінною смолою DOWEX 1X4 з подальшим елююванням ММК 2 М розчином NaCl, очищенням елюату активованим вугіллям та проведенням кольорової діазореакції. Оптичну густину розчину визначали при 620 нм. Графік залежності оптичної густини від концентрації є лінійним у зворотних координатах ($1/D - 1/C$). Метод дозволяє визначити ММК у сечі в концентрації від 3 мкг/мл та вище.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метилмалонова кислота, сеча, спектрофотометрія.

ВСТУП. Метилмалонова кислота (ММК) є нормальним продуктом гідролізу метилмалоніл-СоА, який, у свою чергу, утворюється при катаболізмі пропіонової або ізобутанової кислоти. Оскільки вітамін B₁₂ є ко-фактором для реакції перетворення метилмалоніл-СоА до сукциніл-СоА, то при дефіциті цього вітаміну спостерігається накопичення в сироватці проміжного продукту – ММК, 30 % якої екскретується із сечею [4].

З іншого боку, ниркова недостатність або зниження об'єму циркулюючої крові можуть призводити до збільшення вмісту сироваткової ММК, що не спричинено недостатністю кобаламіну [7]. Тому, на думку багатьох авторів [5, 6], при дослідженні недостатності вітаміну B₁₂ необхідно визначати вміст ММК саме в сечі, а не в сироватці крові (тим більше, що концентрація ММК у сечі в 40 разів вища за концентрацію в сироватці). До того ж, визначати її в добовій сечі або зіставляти з вмістом креатиніну [6, 8].

Основних принципів, за якими проводять визначення ММК, є порівняно небагато. Найсучасніші методи, що базуються на газовій хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням, потребують дорогого обладнання, а традиційні методи тонкошарової хроматографії [3] є занадто трудомісткими і повільними. Спектрофотометрія ж займає проміжну позицію, дозволяючи проводити відповідні вимірювання досить швидко і дешево [2, 6].

© О.І. Чернوبرова, О.О. Пентюк, О.С. Азаров, О.В. Ільченко, В.П. Маленький, 2007.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. 1 мл сечі з величиною рН, попередньо доведеною до 6,5, пропускали крізь іонообмінну колонку (d=6 мм), в яку було вміщено 600 мг сильноосновної іонообмінної смоли DOWEX® 1x4, Cl⁻ form (SIGMA-ALDRICH) з розміром гранул 50-100 меш. Висота шару смоли складала 25-30 мм. Після витікання сечі смолу промивали 30 мл дистильованої води, після цього сорбовану ММК елюювали 10 мл 2 М розчину хлориду натрію. До елюату додавали 375 мг активованого вугілля (подрібнений фармакопейний препарат, розмір частинок – менше 1 мм), одержану суспензію перемішували протягом 10 хв, після чого вугілля відокремлювали шляхом центрифугування при 1500 об./хв упродовж 30 хв.

Готували діазореагент, додаючи 8 мл 0,5 % розчину нітриту натрію до 30 мл 5,4 мМ розчину пара-нітроаніліну (75 мг пара-нітроаніліну на 100 мл 0,2 М соляної кислоти). Після витримання при кімнатній температурі протягом 15 хв суміш охолоджували на льоду до 2-6 °С, після чого до неї додавали 8 мл 0,2 М розчину ацетату натрію.

Стандартні розчини готували шляхом розведення наважки ММК (Methylmalonic acid, 99 %, SIGMA) у 2 М розчині хлориду натрію до концентрації 0,5 мг/мл з подальшим розведенням 2 М розчином хлориду натрію до концентрацій 0,002, 0,005, 0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 мг/мл.

1 мл елюату або стандартного розчину змішували з 1,5 мл 1 М ацетатного буфера

(рН=4,3). Після цього до суміші додавали 1,5 мл холодного діазореагенту, пробірку закорковували для запобігання контакту з вуглекислою повітря, ретельно перемішували та поміщали у водяну баню на 30 хв при 37 °С, після чого до суміші додавали 1 мл 3 М розчину гідроксиду натрію, вільного від карбонатів. Після додаткової інкубації при 37 °С протягом 30 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі ЛОМО-26 при довжині хвилі світла 620 нм у кюветі товщиною 10 мм відносно контролю на реактиви (1 мл дистильованої води, який було оброблено за аналогічною методою).

На основі визначень оптичної густини стандартних розчинів будували калібрувальний графік, за яким визначали концентрації ММК у дослідних розчинах, враховуючи розведення в ході аналізу (з 1 мл сечі утворюється 10 мл елюату).

Концентрацію креатиніну в сечі визначали стандартним набором (НВП "Філісіт-Діагностика", Україна) за реакцією з пікриною кислотою у лужному середовищі.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За основу було взято метод визначення метилмалонової кислоти, вперше запропонований [5] і модифікований у подальшому [6]. Різниця полягає у різних підходах до усунення впливу деяких органічних речовин (ацетооцтова і сечова кислоти, креатинін та ін.), які містяться у сечі. Ці речовини переносяться із сечі на іонообмінній смолі разом з ММК і дають кольорову реакцію з діазореагентом, забарвлюючи розчин у бурий колір, що перешкоджає подальшому визначенню. Залежність оптичної густини розчину продуктів взаємодії цих сполук з діазореагентом від довжини світла наближається до лінійної (але не є лінійною). Вважаючи цю залежність лінійною, автори роботи [6] запропонували математичний вираз, за допомогою якого відокремлюється частина оптичної густини, яка відповідає за поглинання світла саме продуктами реакції з ММК. За умов визначення оптична густина розчину перевищує величини 0,2-0,4, тобто перебуває в межах тих значень, де зростає відносна похибка визначення. Цю похибку деякою мірою компенсують шляхом застосування високочутливого цифрового спектрофотометра.

Однак існує й інша складова помилки визначення, яка полягає в певній нелінійності залежності оптичної густини розчину продуктів взаємодії речовин, що перешкоджають визначенню, з діазореактивом на ділянці від 570 до 670 нм. Урахування цієї складової є

досить важким завданням, оскільки будь-який зразок сечі є індивідуальним за своїм складом. Тому ми дещо змінили саму методику аналізу, видаляючи ті компоненти сечі, які заважають визначенню.

При модифікуванні методу було замінено елюат з 0,1 М хлориду водню (як це запропоновано [6]) на 2 М хлорид натрію. Виявилось, що при цьому кількість ММК, яка визначається, не зменшується і складає 97-99 % від доданої. Крім того, було введено обробку елюату активованим вугіллям. Це призвело до повної адсорбції на вугіллі заважаючих домішок, причому, як з'ясувалося, за умов визначення метилмалонової кислоти на вугіллі практично не сорбується.

Залежність оптичної густини D фінального розчину від концентрації ММК C дуже добре описується рівнянням типу:

$$D = \frac{D_{\max} \cdot k \cdot C}{1 + k \cdot C}$$

Ця залежність в обернених координатах

$\frac{1}{D} = f\left(\frac{1}{C}\right)$ являє собою пряму лінію, що значно полегшує математичну обробку експериментальних даних.

Слід мати на увазі, що хімічні реакції, які відбуваються в ході визначення ММК, є дуже чутливими до зовнішніх факторів, зокрема до температури в приміщенні. Міжсерійні коливання можуть складати до 20 % в кожену сторону від певних середніх значень. Тому важливим і обов'язковим є відтворення градуированої шкали при кожній серії визначень.

Запропонованим методом визначили кількість ММК у сечі 34 здорових людей. Після визначення вмісту креатиніну було встановлено відношення концентрацій ММК до відповідних концентрацій креатиніну в кожному зразку сечі. За величинами ексцесу та асиметрії доведено, що розподіл одержаних величин задовільно відповідає нормальному закону. Середня величина та стандартне відхилення склали $(10,55 \pm 4,55)$ мг/г креатиніну, що відповідає літературним даним щодо цієї величини для здорових людей – менше 20 мг ММК на 1 г креатиніну [1].

ВИСНОВКИ. 1. Запропоновано модифікований метод визначення метилмалонової кислоти у сечі, придатний для виконання на відносно малочутливих спектрофотометрах.

2. Визначення вмісту ММК у сечі здорових людей дало результати, які відповідають літературним даним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дуднік В., Омельченко Л., Пентюк О. Патогенетична роль недостатності вітамінів В₆, В₉ і В₁₂ у формуванні анемічного синдрому у ювенільному ревматоїдному артриті // Ліки України. – 2005. – № 2 (91). – С. 119-123.
2. Снегирева Л.В., Арешкина Л.Я. Метод определения метилмалоновой кислоты // Прикл. биохим. и микробиол. – 1972. – 8, вып. 3. – С. 363-366.
3. Barness L.A., Young D., Mellman W.J. et al. Methylmalonate excretion in a patient with pernicious anemia // N. Engl. J. Med. – 1963. – № 268. – P. 144-146.
4. Elin R.J., Winter W.E. Methylmalonic acid. A test whose time has come? // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2001. – 125. – P. 824-827.
5. Giorgio A.J., Plaut G.W.E. A method for the colorimetric determination of urinary methylmalonic acid in pernicious anemia // J. Lab. Clin. Med. – 1965. – 66, № 4. – P. 667-676.
6. Gultepea M., Ozcana O., Avsara K. et al. Urine methylmalonic acid measurements for the assessment of cobalamin deficiency related to neuropsychiatric disorders // Clinical Biochemistry. – 2003. – 36. – P. 275-282.
7. Hvas A.M., Ellegaard J., Nexø E. Increased plasma methylmalonic acid level does not predict clinical manifestations of vitamin B₁₂ deficiency // Arch. Intern. Med. – 2001. – 161, № 2. – P. 1534-1541.
8. Norman E.J. Urinary methylmalonic acid/creatinine ratio defines true tissue cobalamin deficiency // Br. J. Hematol. – 1998. – 100. – P. 614-615.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИЛМАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

Е.И. Черноброва, А.А. Пентюк, А.С. Азаров, А.В. Ильченко, В.П. Маленький
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

Предложен модифицированный метод определения метилмалоновой кислоты (ММК) в моче, суть которого состоит в пропускании 1 мл мочи через ионообменную колонку с сильноосновной ионообменной смолой DOWEX 1X4 с последующим элюированием ММК 2 М раствором NaCl, очисткой элюата активированным углем и проведением цветной диазореакции. Оптическую плотность раствора определяли при 620 нм. График зависимости оптической плотности от концентрации линеен в обратных координатах ($1/D - 1/C$). Метод позволяет определять ММК в концентрации от 3 мкг/мл и выше.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метилмалоновая кислота, моча, спектрофотометрия.

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF METHYLMALONIC ACID IN URINE

O.I. Chernobrova, O.O. Pentiuk, O.S. Azarov, O.V. Ilchenko, V.P. Malenky
VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

Spectrophotometric method for measuring methylmalonic acid (MMA) in urine has been developed. 1 ml of urine was mixed with a column containing a strongly basic anion exchanger resin DOWEX 1X4. After the resin was washed with distilled water, the methylmalonic acid was eluted from the resin with 2 M solution of NaCl. The eluate was cleared by activated charcoal. Following this, aliquot portion was treated with diazoreagent. Then, the absorbance at 620 nm was measured. It was founded, that the dependence of absorbance on MMA concentration is linear in coordinates $1/D - 1/C$. The sensitivity of the method is 3 mkg MMA per 1 ml of urine.

KEY WORDS: methylmalonic acid, urine, spectrophotometric method.

Адреса для листування: О.В. Ильченко, а/с 3032, Вінниця, 21027, Україна.

СТАН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС, ХВОРИХ НА ФІБРОЗНО-КАВЕРНОЗНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

О.Б. Пікас, В.І. Петренко, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

Мета дослідження – вивчити та оцінити жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, біохімічним методом на газорідному хроматографі. Було встановлено суттєві зміни у жирнокислотному спектрі ліпідів сироватки крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, які проявлялись вірогідним зниженням вмісту насичених жирних кислот на фоні підвищення суми ненасичених жирних кислот і суми поліненасичених жирних кислот, в результаті посиленої активації процесів перекисного окиснення ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жирнокислотний спектр ліпідів, сироватка крові, перекисне окиснення ліпідів, ліквідатори, туберкульоз.

ВСТУП. Відомо, що в механізмах розвитку та прогресування патологічного процесу ініціальним фактором є активація біоактивних систем з їх негативним впливом на мікроциркуляторне русло, що приводить до хаотичного характеру кровообігу в капілярах і є однією з основних причин виникнення мікроциркуляторного блоку. Внаслідок таких змін місцева тканинна гіпоксія, у свою чергу, дестабілізує біомембрани клітинних структур, складовими яких є, в більшості випадків, жирні кислоти (ЖК) фосфоліпідів, у тому числі й поліненасичені ЖК (ПНЖК). Оскільки жирні кислоти відіграють важливу роль у механізмах забезпечення гомеостатичних процесів організму, на рівні мембранних фосфоліпідів можливе порушення фізіологічної рівноваги ЖК, що свідчить про патологічний стан, у тому числі й гіпоксичний [2, 4]. Причому вже й на ранніх етапах патологічних процесів (запальних, дистрофічних та інфекційних) виявляють суттєві порушення з боку жирнокислотного складу фосфоліпідів біомембран клітин, що негативно позначається на їх функціональній активності [1]. Адже вивільнення з фосфоліпідів біомембран, так званих карбоксильних форм (вільних ЖК), а також порушення процесу їх реакціювання визначають ступінь порушення динамічної стабільності внутрішнього середовища ор-

© О.Б. Пікас, В.І. Петренко, Т.С. Брюзгіна, 2007.

ганізму та зумовлюють зміни функціональної активності його органів і систем.

Найбільш чутливим тестом, який широко застосовують на сьогодні у клінічній медицині, є визначення метаболічних змін у сироватці крові, що й послужило підставою для проведення досліджень на початку наукового пошуку. Оскільки проблема стану здоров'я населення, яке проживає на території України, забрудненій радіонуклідами, є зараз актуальною, ми поставили перед собою мету – вивчити та оцінити жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ми обстежили 103 (81,1 % із 127) здорові особи, які не курили і не брали участі у ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС) (1-ша група – контрольна), та 24 (18,9 % із 127) особи такого ж віку – ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень (2-га група). Обстеження проводили у міському протитуберкульозному диспансері № 1 м. Києва.

Визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів у сироватці крові проводили біохімічним методом, в основі якого лежать екстракція ліпідів із сироватки крові, виділення фосфоліпідів, метилювання і газохроматогра-

фічний аналіз жирних кислот на газорідному хроматографі серії "Цвет-500" із плазмоіонізаційним детектором в ізотермічному режимі. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів здійснювали методом нормування площ і визначення частки ЖК у відсотках. Похибка визначення показників складала $\pm 10\%$ [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У спектрі ЖК ліпідів сироватки крові осіб 1-ї групи (контрольна) в найбільшій кількості нами виявлені насичені ЖК: пальмітинова ($C_{16:0}$) – $(41,9 \pm 0,9)\%$ та стеаринова ЖК ($C_{18:0}$) – $(15,1 \pm 1,1)\%$. Із ненасичених ЖК були визначені олеїнова ($C_{18:1}$) – $(24,2 \pm 0,6)\%$ та ліолева ЖК ($C_{18:2}$) – $(16,0 \pm 1,4)\%$. Таке співвідношення ЖК у ліпідному комплексі сироватки крові осіб контрольної групи свідчило про значну насиченість їх ліпідів – до $(57,0 \pm 1,3)\%$ за рахунок вмісту пальмітинової ЖК ($C_{16:0}$), що забезпечувало стійкість системи крові до посилення вільнорадикальних процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Результати наших досліджень показали, що кількісний вміст ЖК у сироватці крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень (2-га група), суттєво відрізнявся від аналогічних показників ЖК у здорових осіб (1-ша група). У ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень (2-га група), відмічалось вірогідне зниження рівня пальмітинової ЖК ($C_{16:0}$) до $(29,3 \pm 1,5)\%$ при контролі $(41,9 \pm 0,9)\%$ ($p < 0,05$), що свідчило про деструкцію лецитинової фракції фосфоліпідів у результаті туберкульозного процесу в легенях і про порушення функції печінки. Вміст стеаринової ЖК ($C_{18:0}$) також вірогідно зменшувався до $(8,4 \pm 0,9)\%$ при $(15,1 \pm 1,1)\%$ у контролі ($p < 0,05$). У сироватці крові пацієнтів 2-ї групи з'являлась іристинова ЖК ($C_{14:0}$), кількість якої становила $(9,4 \pm 1,0)\%$ і свідчила про значні зміни в ендокринній системі ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень.

Що стосується олеїнової ЖК ($C_{18:1}$), то кількість її вірогідно знижувалась в осіб 2-ї групи (в 1,5 раза) порівняно з контрольною групою, в якій рівень кислоти становив $(24,2 \pm 0,6)\%$. Важливо відмітити, що вміст арахідонової ЖК ($C_{20:4}$) в осіб 2-ї групи підвищувався у 3,64 раза порівняно з контрольною групою і становив $(10,2 \pm 1,0)\%$ (у контролі – $(2,8 \pm 0,3)\%$).

Достовірне зниження рівня стеаринової ($C_{18:0}$) та олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) у сироватці крові хворих 2-ї групи свідчило про порушення ліпідного метаболізму в результаті посиленої акти-

вації процесів ПОЛ, що приводило до виникнення дисбалансу в співвідношенні суми насичених ЖК, суми ненасичених ЖК і суми ПНЖК. Тенденція до зростання ненасиченості ліпідного комплексу сироватки крові у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, зумовлена вірогідним підвищенням вмісту есенціальних ЖК (ліолевої ($C_{18:2}$) і арахідонової ($C_{20:4}$)).

Таким чином, у сироватці крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, виявлено характерну закономірність з боку процесу конверсії ЖК, зокрема вірогідне зниження вмісту ($p < 0,05$) насичених ЖК (пальмітинової ($C_{16:0}$) і стеаринової ($C_{18:0}$)) і ненасиченої олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) та вірогідне підвищення рівня ($p < 0,05$) ліолевої ($C_{18:2}$) і арахідонової ЖК ($C_{20:4}$), що негативно вплинуло на регуляторну функцію респіраторної системи й характер перебігу туберкульозного процесу. Такі зміни жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові зумовили підвищення поліненасиченості ліпідного комплексу до $(37,0 \pm 1,8)\%$ ($(18,8 \pm 1,4)\%$ у контрольній групі) та суми ненасичених ЖК до $(52,9 \pm 2,0)\%$ при нормі $(43,0 \pm 1,3)\%$. Сума ПНЖК зростала в основному за рахунок ліолевої ($C_{18:2}$) та арахідонової ЖК ($C_{20:4}$), що свідчило про значну активність туберкульозного процесу і викликало накопичення їх продуктів утилізації на етапі утворення ейкозаноїдів.

Важливо відмітити, що основна маса ліпідів після всмоктування в організмі оминає печінку і потрапляє в циркуляцію крові, але цей орган відіграє важливу роль у ліпідному метаболізмі та утворенні деяких жирних кислот, зокрема в синтезі пальмітинової і стеаринової ЖК, кількість яких знижується у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, що дає можливість говорити про порушення у них функції печінки.

ВИСНОВКИ. Жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень, характеризується виникненням дисбалансу в співвідношенні суми насичених ЖК, суми ненасичених ЖК та суми ПНЖК. Виявлено вірогідне зниження рівня насичених ЖК на фоні підвищення суми ненасичених ЖК і суми ПНЖК, що свідчить про порушення ліпідного метаболізму в результаті посиленої активації процесів їх пероксидації. Зменшення вмісту пальмітинової ($C_{16:0}$) та стеаринової ЖК ($C_{18:0}$) вказує на деструкцію лецитинової фракції фосфоліпідів у результаті туберкульозного процесу в легенях і на порушення функції печінки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Афонина Г.Б., Русин Е.В., Брюзгина Т.С. Изменения липидного комплекса мембран и функции лимфоцитов у больных бронхиальной астмой // Иммунологія та алергологія. – 1998. – № 4. – С. 50-55.
3. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кардіол. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
4. Galdieto F., Carratelli C., Bentivoglio C. et al. Correlation between modification of membrane phospholipids and some biological activity of lymphocytes, neutrophils and macrophages // Immunopharmacol. and Immunotoxicol. – 1991. – **13**, № 4. – P. 623-642.

СОСТОЯНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС, БОЛЬНЫХ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

О.Б. Пикас, В.И. Петренко, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

Цель исследования – изучить и оценить жирнокислотный спектр липидов сыворотки крови ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких, биохимическим методом на газожидкостном хроматографе. Были установлены существенные изменения в жирнокислотном спектре липидов сыворотки крови ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких, которые проявлялись достоверным снижением содержания насыщенных жирных кислот на фоне повышения суммы ненасыщенных жирных кислот и суммы полиненасыщенных жирных кислот, в результате усиленной активации процессов перекисного окисления липидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: жирнокислотный спектр липидов, сыворотка крови, перекисное окисление липидов, ликвидаторы, туберкулез.

STATE OF FATTY-ACID SPECTRUM OF BLOOD SERUM LIPIDS IN LIQUIDATORS OF THE ChNPP ACCIDENT CONSEQUENCES, SUFFERING FROM FIBROCAVERNOUS TUBERCULOSIS

O.B. Pikas, V.I. Petrenko, T.S. Bryuzhina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS, KYIV

Summary

The study was aimed at studying and evaluating of fatty-acid composition of serum lipids in liquidators of the ChNPP Accident consequences, suffering from fibrocavernous pulmonary tuberculosis, by the biochemical method using a gas-liquid chromatograph. Essential changes were revealed in fatty-acid spectrum of serum lipids in liquidators of the ChNPP Accident consequences, suffering from fibrocavernous pulmonary tuberculosis. They were manifested in significant reduction of saturated fatty-acid contents against a background of an elevation in total unsaturated fatty-acid contents as well as total polyunsaturated fatty-acid contents as a result of augmented activation of the lipid peroxidation processes.

KEY WORDS: fatty-acid spectrum of lipids, blood serum lipid peroxidation, liquidators, tuberculosis.

Адреса для листування: О.Б. Пікас, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, б-р Т. Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна.

СТАН ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ МЕДАЦІЇ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ТОКСИЧНОГО СТРЕСУ ТА ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ

О.А. Наконечна

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

За умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії вивчено вміст циклічних нуклеотидів і активність ферментів їх метаболізму в крові та неокортексі головного мозку експериментальних тварин. Встановлено підвищення активності гуанілатциклазної на тлі зниження активності аденілатциклазної месенджерної системи, що свідчить про інтегративні порушення стану внутрішньоклітинного метаболізму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: циклічні нуклеотиди, аденілатциклаза, гуанілатциклаза, фосфодіестераза, токсичний стрес, гіперхолестеринемія.

ВСТУП. У наш час організм підлягає впливу багатьох шкідливих антропогенних факторів: стресових, отруєння організму ксенобіотиками, нераціональне харчування і т. ін.

Внутрішньоклітинні ефекти багатьох ендогенних, а також екзогенних біологічно активних речовин, що взаємодіють в основному з мембранними рецепторами клітин, реалізуються за участю систем вторинних посередників, до яких належать система циклічних нуклеотидів, Са²⁺-мобілізуюча поліфосфоінозитидна система [7, 10].

Доведено, що один із найважливіших механізмів, який опосереднює численні ефекти біогенних моноамінів, у тому числі катехоламінів (гормонів стресу), полягає в стимуляції утворення циклічного-3'5'-аденозинмонофосфату (цАМФ) та циклічного-3'5'-гуанозинмонофосфату (цГМФ). Вони є посередниками регуляторних впливів на організм хімічних сполук, токсинів, метаболітів обміну, деяких медіаторів, гормонів тощо. За участю циклічних нуклеотидів відбуваються трансформація і трансдукція міжклітинних взаємодій у внутрішньоклітинні [13, 14].

Визначенню цАМФ та цГМФ як "вторинних месенджерів", що запускають складні біохімічні процеси, присвячені численні роботи, насамперед пов'язані з вивченням синтезуювальних та катаболізувальних цАМФ і цГМФ ферментів: аденілатциклази (КФ 4.6.1.1), гуанілатциклази (КФ 4.6.1.2), фосфодіестераз циклічних нуклеотидів (КФ 3.1.14.17 та 3.1.14.18), а також взаємозв'язку циклічних нуклеотидів з біоген-

ними моноамінами, катехоламінами [2, 6, 7, 10, 13, 14].

Метою даної роботи було дослідити стан системи вторинних посередників – циклічних нуклеотидів в організмі експериментальних тварин за умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі була використана холестеринова модель на статевозрілих кролях-самцях породи Шиншила (n=20). Для цього у звичайний раціон харчування тварин додавали щоденно надлишковий вміст холестерину з розрахунку 1 г/кг маси протягом 2,5 місяців. Група кролів (n=20), яка не отримувала холестерин, була контрольною.

Також використано комбіновану модель – токсичний та емоційний стрес. Дослідження проводили на статевозрілих 3-місячних щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. Тваринам протягом 2,5 місяців одноразово внутрішньошлунково натщесерце зондом вводили розчин поліоксєтиленоксипропілентріолу (молекулярна маса – 3000) у дозі 0,5 г/кг маси. Досліджувана сполука належить до іоногенних поверхнево-активних речовин (ПАР) з мембранотропною дією, здатна модулювати в організмі розвиток вільнорадикальної патології [1, 3]. Дослідних тварин, на фоні введення ПАР, надавали щоденному емоціогенному впливу звукового подразнювача – сигналу у вигляді дзвінка силою 80 дБА протягом 1 хв. Як в експериментальній, так і в контрольній групах було по 20 білих щурів. Після закінчення експерименту тварин декапітували гільйотинним

ножем, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію (50 мг/кг в/п) [5]. У сироватці крові та головному мозку дослідних і контрольних тварин визначали вміст циклічних нуклеотидів та активність ферментів їх метаболізму.

Вміст цАМФ і цГМФ у плазмі крові та гомогенатах головного мозку визначали радіоімунними методами з використанням наборів реактивів фірми "Amersham" (Великобританія) і виражали в нМ/мл (у крові) та пМ/мг білка (у тканині). Білок визначали за методом Lowry [12].

Активність аденілатциклази (АЦ) визначали за методом [9] із незначними модифікаціями, гуанілатциклази (ГЦ) – за методом [8] у мембранній фракції неокортексу головного мозку. Активність АЦ і ГЦ визначали за накопиченням продуктів ферментативної реакції – цАМФ і цГМФ, тобто за різницею між дослідною та контрольною пробами, і виражали в пмоль цАМФ/хв на 1 мг білка та пмоль цГМФ/хв на 1 мг білка.

Визначення активності ферменту фосфодіестерази (ФДЕ) у гомогенатах неокортексу головного мозку проводили за методом [8, 11].

Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Рівень циклічних нуклеотидів у клітинах залежить від балансу активності ферментів їх синтезу та катаболізму: аденілат-, гуанілатциклази, фосфодіестерази. Циклічні нуклеотиди є посередниками впливу на клітину гормонів, нейромедіаторів та інших регулюючих молекул. Беручи до уваги вплив досліджуваних речовин на фосфоліпідний склад біологічних мембран, на стан мембранних рецепторів біологічно актив-

них речовин, визначали вміст цАМФ та цГМФ, активність аденілат-, гуанілатциклази, фосфодіестерази циклічних нуклеотидів у неокортексі головного мозку тварин.

У ході дослідження процесів внутрішньоклітинної медіації в організмі експериментальних тварин за умов впливу токсичного стресу та гіперхолестеринемії було виявлено зміну практично всіх ланок системи вторинних месенджерів. У плазмі крові спостерігали підвищення вмісту цАМФ та зниження рівня цГМФ (табл. 1).

Вміст цАМФ збільшувався на 42,9 %, а вміст цГМФ зменшувався на 36,3 % за умов впливу ксенобіотика. На фоні гіперхолестеринемії спостерігались збільшення вмісту цАМФ на 25,1 % та зменшення вмісту цГМФ на 36,9 % (рис. 1).

У корі головного мозку ці показники мали протилежну спрямованість (табл. 2)

Так, під впливом ПАР вміст цАМФ зменшувався на 46,94 %, а вміст цГМФ збільшувався на 63 %. Гіперхолестеринемія приводила до збільшення вмісту цГМФ на 95,8 % та зменшення вмісту цАМФ на 31,9 % (рис. 2).

Токсичний стрес та гіперхолестеринемія приводили до зниження активності аденілатциклази у неокортексі тварин на 31,1 і 33,4 % відповідно та підвищення активності гуанілатциклази на 129,7 і 102,6 %. Також зростала активність ФДЕ на 56,15 та 156,5 % (табл. 3, рис. 3).

Одержані результати свідчать про те, що ПАР та гіперхолестеринемія сприяють активації гуанілатциклазної та гальмуванню аденілатциклазної месенджерних систем через зміну активності рецепторів, спряжених із циклазними системами. Зниження аденілатциклазної активності й підвищення гуанілатциклазної активності є наслідком мембранотропних

Таблиця 1 – Вміст циклічних нуклеотидів у плазмі крові тварин за умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії ($M \pm m$, $n=20$)

| Показники | Моделі | | | |
|-----------|-----------------|-------------|----------------------|-------------|
| | Токсичний стрес | | Холестеринова модель | |
| | Контроль | Дослід | Контроль | Дослід |
| цАМФ | 115,1±12,5 | 164,5±21,1* | 136,2±8,7 | 170,4±21,1* |
| цГМФ | 9,1±0,9 | 5,8±0,3* | 12,4±0,7 | 7,9±0,6* |

Примітка. Вміст виражений у нМ·мл⁻¹; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 2 – Вміст цАМФ і цГМФ у мембранній фракції неокортексу головного мозку експериментальних тварин за умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії ($M \pm m$, $n=20$)

| Показники | Токсичний стрес | | Холестеринова модель | |
|-----------|-----------------|------------|----------------------|-----------|
| | Контроль | Дослід | Контроль | Дослід |
| | цАМФ | 4,9±0,2 | 2,6±1,5* | 4,7±1,8 |
| цГМФ | 5,0±0,3 | 8,15±0,76* | 4,8±2,3 | 9,4±0,61* |

Примітка. Вміст виражений у пМ·мг⁻¹ білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

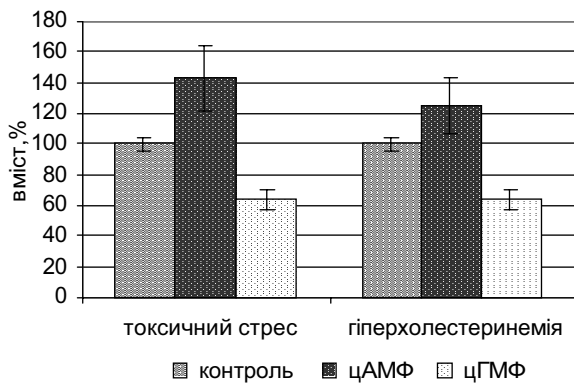


Рис. 1. Вміст цАМФ, цГМФ у плазмі крові тварин за умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії ($M \pm m$, $n = 20$).

Примітка. Вміст у контрольній групі тварин взято за 100 %; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

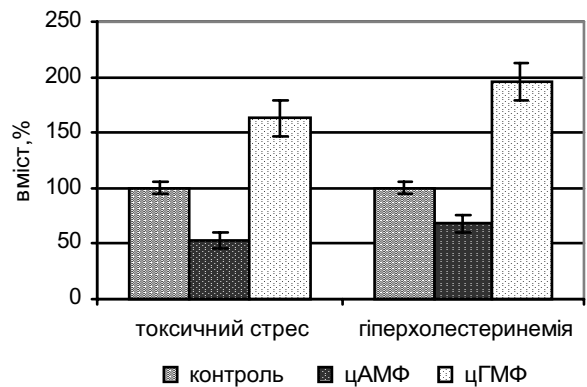


Рис. 2. Вміст циклічних нуклеотидів у мембранній фракції неокортексу головного мозку експериментальних тварин.

Примітка. Вміст у контрольній групі тварин взято за 100 %.

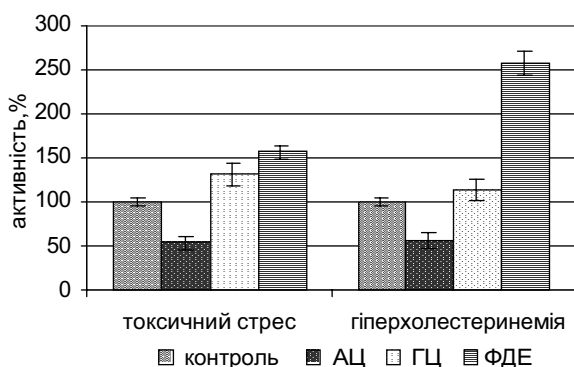


Рис. 3. Активність аденілатциклази, гуанілатциклази та фосфодіестерази у неокортексі головного мозку щурів за умов впливу токсичного стресу та гіперхолестеринемії.

Примітка. Вміст у контрольній групі тварин взято за 100 %.

ефектів цих речовин. Як відомо, елементи аденілатциклазного й гуанілатциклазного комплексів є інтегральними мембранними білками, тому активність АЦ та ГЦ найбільшою мірою залежить від стану клітинних мембран [2].

Токсичний стрес та надлишковий вміст холестерину можуть впливати на механізми регуляції у системі "медіатор – рецептор". Враховуючи мембранотропну дію ПАР, слід очікувати порушення процесів утворення і вивільнення синаптичних везикул, механізмів зворотного загарблення медіатора, конформаційного стану рецепторних молекул, які

кооперативно пов'язані зі станом фосфоліпідного оточення рецепторів. За даними багатьох авторів [1, 3, 7, 8], такі метаболічні зміни перш за все спостерігаються внаслідок інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів.

Стан системи вторинних посередників циклічних нуклеотидів у неокортексі тварин за умов впливу токсичного стресу та гіперхолестеринемії, на нашу думку, є відображенням суттєвих змін в інтегративній системі "нейрогормон – рецептор – внутрішньоклітинний циклазний каскад". Система циклічних нуклеотидів у експериментальних тварин характеризується пригніченням ланки "аденілатциклаза – цАМФ" і активацією ланки "гуанілатциклаза – цГМФ", що може пояснюватися стимульованим станом рецепторів, які пригнічують активність аденілатциклази (D_2 – дофамінових, C_1 – серотонінових), і тих, що стимулюють фосфоінозитидний каскад, учасником якого є гуанілатциклаза (зокрема α_1 -адренорецепторів і C_2 – серотоніорецепторів).

ВИСНОВОК. Аналіз отриманих результатів свідчить про наявність глибоких інтегративних порушень внутрішньоклітинного метаболізму в організмі експериментальних тварин за умов впливу токсичного стресу та гіперхолестеринемії, в основі яких лежить мембранна патологія.

Таблиця 3 – Активність аденілатциклази, гуанілатциклази та фосфодіестерази у головному мозку експериментальних тварин за умов токсичного стресу та гіперхолестеринемії ($M \pm m$, $n=20$)

| Показники | Токсичний стрес | | Холестеринова модель | |
|-----------------|-----------------|------------|----------------------|------------|
| | Контроль | Дослід | Контроль | Дослід |
| Аденілатциклаза | 1,08±0,01 | 0,58±0,06* | 1,30±0,22 | 0,75±0,09* |
| Гуанілатциклаза | 1,96±0,01 | 2,57±0,02* | 2,15±0,07 | 2,46±0,04* |
| Фосфодіестераза | 5,2±0,17 | 8,12±0,34* | 4,95±0,13 | 12,7±0,43* |

Примітка. Активність АЦ виражена у пМ цАМФ/хв на 1 мг білка, активність ГЦ – пмоль цГМФ/хв на 1 мг білка, активність ФДЕ – Рі/мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под ред. Ю.А. Зозули – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с.
2. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов. – М.: Медицина, 1978. – 325 с.
3. Жуков В.И., Логинова Г.А., Перепадя В.В., Никитина И.В.. Состояние антиоксидантной системы и окислительно-восстановительных процессов у белых крыс при пероральном воздействии простых полиэфиров и макроциклических эфиров // Сб. научн. тр. ХГМУ "Медицинская экология, гигиена, гигиена производств и окруж. среды". – Харьков, 1994. – С. 54-57.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 154 с.
5. Ланг С.М., Уилсон Д. // Лабораторные животные. – 1993. – 3, № 2. – С. 100-110.
6. Роби А.И. Стресс и гипоталамические гормоны. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 220 с.
7. Федоров Н.А., Радуловацкий М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. – М.: Медицина, 1990. – 176 с.
8. Чирков Ю.Ю., Тыщук И.А., Белушкина Н.Н. // Биохимия. – 1987. – 52, вып. 6. – С. 956-963.
9. Юдаев Н.А., Афиногенова С.А., Казеев К.Н. // Биохимия. – 1981. – 46, вып. 1. – С. 55-61.
10. Greengard P. Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in post-synaptic actions of neurotransmitters // Nature. – 1976. – 260. – P. 101-108.
11. Kuo J.F., Shoji M., Brackett N.L. // J. Cycl. Nucl. Res. – 1978. – 4. – P. 463-474.
12. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. // J. Biol. Chem. – 1951. – 193. – P. 265-275.
13. Sutherland E., Robinson G. The role of cyclic 3',5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones // Pharmacol. Rev. – 1966. – 18, № 1. – P. 145-162.
14. Tsang D., Lal S. Effect of monoamine receptor agonists and antagonists on cyclic AMP accumulation // Pharmacol. Rev. – 1977. – 55, № 6. – P. 1263-1269.
15. Uno H., Meyer R.B.Jr., Shuman D.A. // J. Med. Chem. – 1975. – 19. – P. 419-422.

СОСТОЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ МЕДИАЦИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА И ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

О.А. Наконечная

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Под влиянием токсического стресса и гиперхолестеринемии изучено содержание циклических нуклеотидов и активность ферментов их метаболизма в крови и неокортексе головного мозга экспериментальных животных. Установлено повышение активности гуанилатциклазной на фоне снижения активности аденилатциклазной мессенджерной системы, что свидетельствует об интегративных нарушениях состояния внутриклеточного метаболизма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: циклические нуклеотиды, аденилатциклаза, гуанилатциклаза, фосфодиэстераза, токсичный стресс, гиперхолестеринемия.

INTRACELLULAR MEDIATION STATE UNDER INFLUENCE OF TOXIC STRESS AND HYPERCHOLESTEROLEMIA

O.A. Nakonechna

KHARKIV STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The given research represents evaluation of cyclic nucleotides contents and their metabolism enzymes activity in blood and brain neocortex of experimental animals. The results established the increase in guanylate cyclase messenger system activity on the background of decrease in the activity of adenylate cyclase messenger system. This fact proves the integral disturbances of intracellular metabolism state.

KEY WORDS: cyclic nucleotides, adenylate cyclase, guanylate cyclase, phosphodiesterase, toxic stress, hypercholesterolemia.

Адреса для листування: О.А. Наконечна, Харківський державний медичний університет, пр. Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.

ВПЛИВ Т-2 ТОКСИНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПАРАМЕТРИ НЕРВОВИХ КЛІТИН ТА ЗАСТОСУВАННЯ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ ЯК ДЕТОКСИКАНТУ

Н.П. Головчак, А.В. Тарновська, Г.І. Коцюмбас¹, Д.І. Санагурський
Львівський національний університет ім. Івана Франка
Львівська національна академія ветеринарної медицини ім. С. Гжицького¹

Досліджено вплив Т-2 токсину на головний мозок (кору головного мозку, мозочок, довгастий мозок) поросят та дію гіпохлориту натрію як детоксикаційного препарату. Показано, що при Т-2 токсикозі відбувається виражене пошкодження ЦНС тварин, про що свідчить зростання кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югат та малонового діальдегіду) в головному мозку. Гіпохлорит натрію призводить до зниження кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів у корі, мозочку та довгастому мозку. Проте у довгастому мозку кількість малонового діальдегіду все ще залишається на високому рівні.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Т-2 токсин, гіпохлорит натрію, кора головного мозку, мозочок, довгастий мозок, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати.

ВСТУП. Актуальною проблемою багатьох країн світу, зокрема України, є забруднення зерна і зернопродуктів (комбікормів) токсигенними мікроскопічними грибами і мікотоксинами – отруйними вторинними низькомолекулярними метаболітами цих грибів. Зацікавленість цими широко розповсюдженими в природі хімічними компонентами зростає через їх згубну, інколи канцерогенну, дію на здоров'я людини, а також на продуктивність і репродуктивні показники тварин. До мікотоксинів відносять Т-2 токсин, основною дією якого є здатність пригнічувати синтез білка та нуклеїнових кислот. Причому пригнічення синтезу ДНК і РНК є вторинним ефектом, викликаним первинним блокуванням синтезу білка в клітині на етапі ініціації [1, 2, 10].

Як детоксикаційний засіб у медицині та ветеринарії широко застосовують розчин гіпохлориту натрію (ГХН). У присутності органічних речовин ГХН окиснює за реакцією: $RH + NaOCl = NaCl + ROH$. Тобто здійснює реакцію їх гідроксилювання. В організмі ГХН вивільняє активний кисень, окиснюючи токсичні й баластні речовини, які містяться там, за рахунок чого він проявляє детоксикаційні властивості. У роботах А.І. Арчакова (1975) показано, що основними окиснювальними компонентами гіпохлоритних

розчинів є гіпохлоритна кислота (НСЮ) і гіпохлорит-аніон (OCl^-). Деякі з авторів відмічають ефективність високоочищених розчинів ГХН у нейтралізації ендотоксинів через реакцію гідролізу [3, 8].

Відомо, що інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у ліпідах біологічних мембран впливає на функціональну активність клітин [6, 8]. Разом із тим, одним з клінічних проявів Т-2 токсикозу є порушення ЦНС (тремор скелетних м'язів, падіння на кінцівки і т. ін.). З огляду на вищесказане, важливим є вивчення дії Т-2 токсину на інтенсивність процесів ліпопероксидації головного мозку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При клінічних спостереженнях Т-2 токсикозу у свиней під час досліду було виявлено такі розлади з боку ЦНС (тремор скелетних м'язів, вигинання хребта, падіння на кінцівки), що узгоджується з даними літератури.

Дослідження проводили на поросятах великої білої породи віком 2,5 місяця, масою 18-20 кг. Тварин розділили на 3 групи по 8 поросят у кожній. Тваринам 1-ї групи (контрольної) згодовували доброякісний, повноцінний корм і впоювали воду, тваринам 2-ї та 3-ї груп (дослідних) упродовж 20 днів згодовували комбікорм, до складу якого входила дрібно змелена кукурудза, контамінована Т-2

© Н.П. Головчак, А.В. Тарновська, Г.І. Коцюмбас, Д.І. Санагурський, 2007.

токсин, вміст якого в комбікормі становив 61 мкг/кг корму. З 10-ї доби поросяттям 3-ї групи випоювання води замінили випоюванням високоочищеним, заводського виготовлення ГХН у дозі 200 мг/л залежно від добової норми випоювання води. На 10 та 20 доби досліду по 4 тварини з кожної групи забивали, швидко видаляли головний мозок, відмивали у фізіологічному розчині, відбирали лобну ділянку, довгастий мозок, мозочок та заморожували у рідкому азоті. Наважки ділянок мозку (1-2 г) гомогенізували при низькій температурі на гомогенізаторі в присутності буферного розчину А (0,32 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 50 мМ трис-НСІ, рН=7,4) [4]. У кожній з ділянок головного мозку визначали інтенсивність ПОЛ. Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом первинних та вторинних продуктів пероксидації ліпідів – дієнових кон'югат (ДК) [5] та малонового діальдегіду (МДА) [7]. Вміст білка визначали за методом Лоурі. Отримані результати опрацьовували статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами показано, що за Т-2 токсикозу в корі головного мозку на 10 добу досліду виявлено збільшення кількості МДА на 18 % відносно контролю, а на 20 добу – на 9 %. При застосуванні ГХН кількість МДА знижувалася на 15 % відносно контролю. За Т-2 токсикозу в мозочку на 10 добу відбувалося збільшення кількості МДА на 37 % відносно контролю. Така тенденція спостерігалася і на 20 добу досліду (на 30 % відносно контролю). При застосуванні ГХН як детоксикаційного засобу було виявлено зниження кількості МДА у мозочку на 2 % відносно контролю. У довгастому мозку як на 10, так і на 20 доби досліду відмічено зростання кількості МДА на

78 і 25 % відносно контролю. При застосуванні ГХН встановлено збільшення кількості МДА у довгастому мозку (на 87 %) (рис. 1).

Наступним етапом наших досліджень було визначення кількості ДК. Так, аналізуючи рівень ДК, нами встановлено, що за Т-2 токсикозу на 10 добу в корі відбувалося його зростання на 15 % відносно контролю. На 20 добу кількість ДК відносно контролю збільшувалася на 4 %. При застосуванні ГХН було виявлено зниження кількості ДК на 4 % відносно контролю. У мозочку на 10 та 20 доби вона зростала на 19 та 8 % відповідно, проте за впливу ГХН знижувалася на 9 %. У довгастому мозку за Т-2 токсикозу кількість ДК збільшувалася як на 10, так і на 20 доби досліду (на 27 та 20 % відповідно). При дії ГХН показано зниження кількості ДК на 13 % відносно контролю (рис. 2).

У всіх ділянках мозку відмічено значне зростання кількості МДА і ДК на 10-ту добу з поступовим зниженням на 20-ту. В довгастому мозку вона вища, ніж у мозочку та корі головного мозку на всіх досліджуваних етапах. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що у довгастому мозку залягає велика кількість провідних шляхів і, як наслідок, багато ліпідів, які формують мембрани цих шляхів і піддаються перекисному окисненню. У даній ділянці замикаються рефлекторні дуги важливих рефлексів. До довгастого мозку входять аферентні волокна від рецепторів лицевої частини голови, слизових оболонок порожнин, дихальних шляхів, рецепторів травного тракту, серця, сонної артерії, рецепторів півколових каналів. Ця рецепція визначає всі уроджені харчові реакції, кров'яний тиск, функції лабіринтного апарату й органа слуху. Від довгастого мозку відходить блукаючий нерв, волокна якого йдуть до серця, травного тракту, бронхів, гортані. Також ідуть ефе-

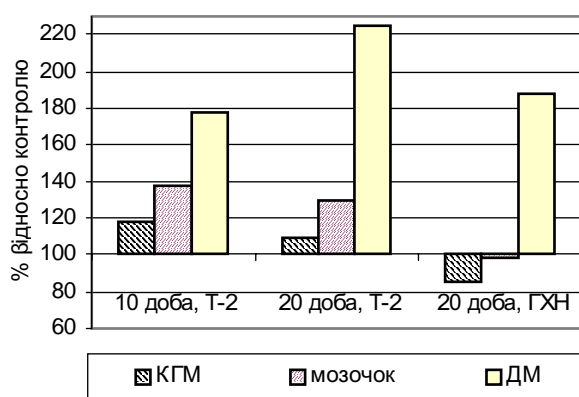


Рис. 1. Інтенсивність процесів ПОЛ (за кількістю МДА) у різних відділах головного мозку (КГМ – корі головного мозку, мозочку та ДМ – довгастому мозку) за дії Т-2 токсину та ГХН порівняно з контролем (контроль взято за 100 %) на 10, 20 доби.

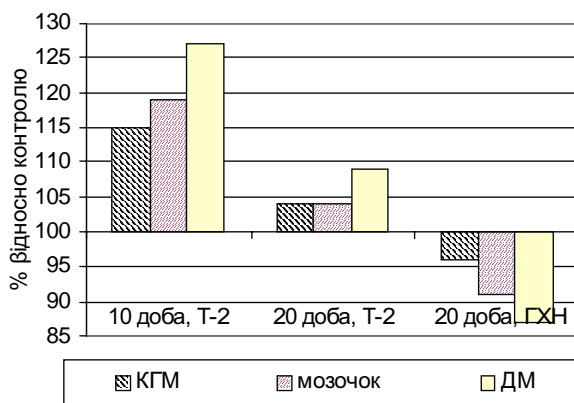


Рис. 2. Інтенсивність процесів ПОЛ (за кількістю дієнових кон'югат) у різних відділах головного мозку (КГМ – корі головного мозку, мозочку та ДМ – довгастому мозку) за дії Т-2 токсину та ГХН порівняно з контролем (контроль взято за 100 %) на 10, 20 доби.

рентні волокна, що іннервують жувальні м'язи, язик, слинні й слізні залози. У вищезгаданій ділянці замикаються рефлекторні дуги важливих рефлексів – прийняття їжі, регуляція травлення, зміни напруження м'язів залежно від імпульсів з рецепторів рівноваги, регуляції діяльності серця [9]. Тому зростання інтенсивності процесів ПОЛ цієї частини мозку, ймовірно, спричиняє функціональні розлади, які притаманні йому. При введенні ГХН як детоксикаційного засобу виявлено зниження кількості МДА і ДК в усіх досліджених ділянках. Проте у довгастому мозку кількість МДА залишається досить високою.

ВИСНОВКИ. 1. При Т-2 токсикозі відбувається виражене пошкодження ЦНС поросят.

2. Кількість МДА та ДК за дії Т-2 токсину зростає у всіх досліджених ділянках як на 10, так і на 20 доби досліду.

3. При використанні розчину ГХН кількість продуктів ПОЛ (МДА та ДК) у корі, довгастому мозку, мозочку знижується. Проте у довгастому мозку вміст МДА змінюється повільно і залишається на дуже високому рівні, що, ймовірно, пояснюється великою кількістю провідних шляхів, які містяться у даній ділянці мозку, а отже, і великою кількістю ліпідних мембран, що є субстратом для процесів ПОЛ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: Маик, 2001. – 344 с.
2. Коцюмбас І.Я. Т-2 токсикоз птиці // Методичні рекомендації. – К., 2004. – 13 с.
3. Лопатин С.В. Опыт применения низкоконцентрированных растворов гипохлорита натрия в лечении диабетических поражений нижних конечностей, а также некоторых других заболеваний // МИС-РТ. Сборник № 36-2. – 2005.
4. Нестерова Л.А., Смурова Е.А., Манухин Б.Н. Характеристика связывания специфического блокатора [³H]-хинуклидинилбензилата М-холинорецепторами мембран коры мозга крыс // Докл. Ак. Наук. – 1995. – **343**, № 2. – С. 268-271.
5. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / В сб: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-65.
6. 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.
7. Тимирбулатов Р.Р., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
8. Тимочко М.Ф., Єлисеєва О.П., Кобилянська Л.Л., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в експериментальних станах. – Львів, 1998. – 141 с.
9. Филимонов В.И. Физиологические основы психофизиологии. – Москва: МЕДпрессинформ, 2003. – 320 с.
10. Erik DeWolf, Gretchen Kuldau, Patrik Lipps, Gary Munkvold, Paul Vincelli, Charles Woloshuk, Dennis Mills. Moldy grains, mycotoxins and feeding problems // <http://www.oardc.ohio-state.edu/ohiofield-cropdisease/Mycotoxins/mycopagedefault.htm>

ВЛИЯНИЕ Т-2 ТОКСИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ НЕРВНЫХ КЛЕТОК И ПРИМЕНЕНИЕ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ КАК ДЕТОКСИКАНТА

Н.П. Головач, А.В. Тарновская, Г.И. Коцюмбас¹, Д.И. Санагурский
 ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКА
 ЛЬВОВСКАЯ НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ ИМ. С. ГЖИЦКОГО¹

Резюме

Исследовано влияние Т-2 токсина на головной мозг (кору головного мозга, мозжечек, продолговатый мозг) поросят и действие гипохлорита натрия как детоксикационного препарата. Показано, что при Т-2 токсикозе происходит выраженное повреждение ЦНС животных, о чём свидетельствует возрастание

количества продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгат и малонового диальдегида) в головном мозге. Гипохлорит натрия приводит к снижению количества продуктов перекисного окисления липидов в коре, мозжечке и продолговатом мозге. Однако в продолговатом мозге количество малонового диальдегида всё ещё остаётся на высоком уровне.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **T-2 токсин, гипохлорит натрия, кора головного мозга, мозжечек, продолговатый мозг, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты.**

INFLUENCE OF T-2 TOXIN ON FUNCTIONAL PARAMETERS OF NERVOUS CELLS AND APPLICATION OF SODIUM HYPOCHLORITE AS DETOXCANT

N.P. Holovchak, A.V. Tarnovska, H.I. Kotsiumbas¹, D.I. Sanahursky
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO
LVIV NATIONAL VETERINARY ACADEMY BY S. HZHYTSKY¹

Summary

The influence of T-2 toxin on piglet cerebrum (cortex, cerebellum, medulla) and sodium hypochlorite action as a detoxicant preparation was investigated. It has been shown that at T-2 toxicosis takes place the expressed damage of CNS of piglets. It is proved by increase of amount of lipid peroxidation products dyene conjugates and malonic dyaldehyde) in cerebrum. Sodium hypochlorite promotes the decrease of amounts of lipid peroxidation products in cortex, cerebellum and medulla. However, in medulla the amount of MDA yet remains at high level.

KEY WORDS: **T-2 toxin, sodium hypochlorite, cortex, cerebellum, medulla, malonic dyaldehyde, dyene conjugates.**

Адреса для листування: Н.П. Головчак, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, 79005, Україна.

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

ВІТАМІНИ B_9 , B_{12} ТА B_6 , ПОЛІМОРФІЗМ ФЕРМЕНТІВ ЇХ ОБМІНУ, ЗВ'ЯЗОК З МЕТАБОЛІЗМОМ ГОМОЦИСТЕЇНУ, РОЛЬ У ПАТОЛОГІЇ. РЕНЕСАНС КЛІНІЧНОЇ ВІТАМІНОЛОГІЇ

О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, І.І. Андрушко

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

В огляді представлено дані стосовно біологічних функцій вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} . Висвітлено роль зазначених вітамінів в обміні гомоцистеїну та формуванні гіпергомоцистеїнемії – незалежного фактора ризику серцево-судинної патології, причетного також до виникнення інших захворювань і дефектів розвитку. Описано роботи, які стосуються нутрієнтної недостатності цих вітамінів, порушень їх обміну внаслідок генетичних мутацій ферментів, способів профілактики та лікування ускладнень, індукованих гіпергомоцистеїнемією. Зроблено висновок про ренесанс у сучасних умовах профілактичної вітамінології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вітаміни B_6 , B_9 , B_{12} , гомоцистеїн, поліморфізм ферментів.

ВСТУП. Відродження уваги до вітамінології, яке спостерігається в останні роки, тісно пов'язане з розкриттям нових функцій та механізмів дії окремих вітамінів, встановленням причинної ролі порушень обміну вітамінів у патогенезі багатьох захворювань. Виявлено причетність вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} до регуляції активності геному та білків через їх метилування, тісний зв'язок статусу цих вітамінів з обміном гомоцистеїну (ГЦ), функцією ендотелію та іншими процесами. Значною мірою несприятливий вплив дефіциту даних вітамінів реалізується через гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ), яка прямо чи опосередковано пошкоджує ендотелій судин, активує гемокоагуляцію. В останні роки було з'ясовано біологічне значення багатьох генетичних дефектів білків, пов'язаних з обміном вітамінів. Зокрема, дефект білка-апоферменту може супроводжуватися частковою або повною втратою каталітичної активності ферменту і виключенням з великої гамми функцій конкретного вітаміну лише однієї з них ("точкова" вітамінна недостатність) – все це за умов нормального надходження вітамінів в організм. Іноді генетична мутація супроводжується зниженням активності ферменту через порушення здатності приєднувати коферментну форму вітаміну. В цих випадках додаткове введення вітамінів може нормалізувати активність ферменту.

Встановлено, що навіть помірні ГГЦ ініціюють виникнення тяжких атеросклеротичних змін у

© О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, І.І. Андрушко, 2007.

судинах і розвиток ендотеліальної дисфункції, погіршуючи здатність судин до релаксації [2, 5, 18]. З'ясовано, що підвищення рівня ГЦ на 5 мкмоль/л пов'язане із зростанням ризику судинної патології у чоловіків на 60 %, а у жінок – на 80 %. Надлишок ГЦ має тромбогенну дію і в 2,5 раза підвищує ризик виникнення тромбозів. Несприятлива дія надлишку ГЦ чітко пов'язана з незадовільним статусом вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} . Так, наприклад, в осіб з ГГЦ дефіцит фолату асоціюється із зростанням в 1,5 раза ризику серцево-судинної патології, а дефіцит піридоксину – з 2-3-разовим його підвищенням [15, 30]. З ГГЦ пов'язують також дефекти розвитку нервової трубки, рак товстої кишки, психічні розлади в осіб похилого віку, хворобу Альцгеймера та інші патологічні стани [4].

Участь вітамінів у метіонін-гомоцистеїновому циклі. Гомоцистеїн – проміжний метаболіт обміну незамінної амінокислоти метіоніну, яка є донором метильних груп та єдиним джерелом ГЦ. Обмін ГЦ описано в багатьох роботах [4, 18, 29]. Коротко наведемо основні етапи обміну метіоніну та ГЦ.

З метіоніну та АТФ і за участю метіонінаденозилтрансферази синтезується кофермент S-аденозилметіонін, який після перенесення метильної групи на акцептор перетворюється в S-аденозилгомоцистеїн. Останній гідролізується S-аденозилгомоцистеїнгідролазою до аденозину і ГЦ. S-аденозилметіонін є універсальним донором метильних груп і забезпечує синтез фосфатидилхоліну, креатину, сарко-

зину, адреналіну, поліамінів, здійснює метилювання білків, азотистих основ РНК, ДНК та інших речовин.

Елімінація ГЦ відбувається за допомогою шляхів транссульфування та реметилювання. Шлях транссульфування полягає в конденсації ГЦ із серином та утворенні цистатіоніну. Катализатором реакції є піридоксальфосфатний фермент цистатіонін- β -синтетаза. Цистатіонін далі руйнується ще одним вітаміном B_6 -залежним ферментом – гамма-цистатіоназою до цистеїну, аміаку та альфа-кетобутирату. Шлях транссульфування є відповідальним за катаболізм основної частини ГЦ плазми крові й має велике значення для знешкодження потенційно небезпечною надлишкою ГЦ, тому цей шлях ще називають “головним”.

Шлях реметилювання полягає у ресинтезі метіоніну з ГЦ за участю вітаміну B_{12} -залежної метіонінсинтази, яка використовує 5-метилтетрагідрофолат як донор метильної групи. 5-Метилтетрагідрофолат, у свою чергу, утворюється в результаті відновлення 5,10-метилентетрагідрофолату за участю флавінового ферменту метилентетрагідрофолатредуктази, а 5,10-метилентетрагідрофолат виникає під час перенесення одновуглецевого фрагмента із серину на тетрагідрофолат за участю піридоксальфосфатзалежної серингідроксиметилтрансферази. Ці реакції забезпечують безперервний ресинтез коферменту метилювання. Іншим шляхом утворення метіоніну є незалежне від вітаміну B_{12} перенесення метильної групи бетаїну на ГЦ за участю ферменту бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази.

Отримано нові дані щодо метіонінсинтази. У процесі каталітичного циклу відбувається окиснення кофактора коб(І)аламіну до неактивної форми коб(ІІ)аламіну, а його регенерація потребує спеціального ферменту – редуктази метіонінсинтази, кофакторів S-аденозилметіоніну, FAD, FMN, NADPH [28].

Головне місце в регуляції обміну ГЦ належить S-аденозилметіоніну, який є інгібітором метилентетрагідрофолатредуктази і бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, але активатором цистатіонін-бета-синтетази [13, 29]. Цим забезпечується координація шляхів реметилювання та транссульфування ГЦ. Збільшення концентрації ГЦ є наслідком порушення рівноваги між його утворенням та елімінацією. Стимулювати накопичення ГЦ можуть спадкові фактори, порушення харчування та ниркова недостатність.

Нутрієнтні та генетичні причини дефіциту вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} . Вітамінна недостатність залишається поширеним явищем серед насе-

лення економічно розвинутих країн, не кажучи вже про країни з меншим достатком [6]. Так, до 40 % американців похилого віку мають дефіцит, чи маргінальний статус, фолату та вітаміну B_{12} , що є наслідком зниження засвоєння вітамінів у травному тракті з віком [7]. В осіб похилого та старечого віку з високою частотою (від 24 до 62 %) реєструється ГГЦ, яка супроводжується в 23-62 % дефіцитом вітамінів B_{12} , B_9 та B_6 [17]. Дослідження, проведені в Україні, показали, що у 62 % пацієнтів з гіпертонічною хворобою та у 37 % практично здорових осіб має місце дефіцит, або маргінальна недостатність, вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} і саме серед них накопичується основна маса осіб з підвищеним рівнем ГЦ [1].

Порушення харчування, насамперед недостатність у дієті вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} , сприяє виникненню ГГЦ [27, 29, 32]. На обмін ГЦ впливає також статус рибофлавіну, оскільки метилентетрагідрофолатредуктаза і редуктаза метіонінсинтетази є FAD-залежними ферментами [25, 28]. Особи з ГГЦ потребують додаткового призначення цього вітаміну [26].

Причиною ГГЦ є не лише зниження вмісту вітамінів у раціоні, але і мутації вітамінозалежних ферментів. Найбільш частим генетичним дефектом ферментів обміну ГЦ є точкова мутація, що пов'язана із заміною цитозину на тимін у нуклеотиді 677 (677Ц \rightarrow Т) в гені метилентетрагідрофолатредуктази [16, 25]. Ця мутація викликає появу термолабільного білка із зниженою активністю. У гомозигот з цією мутацією активність ферменту складає близько 35-50 % від такої в осіб без мутації, що приводить до зменшення утворення 5-метилтетрагідрофолату, обмеження перетворення ГЦ в метіонін і накопичення ГЦ. Частота Ц677Т поліморфізму досить висока серед осіб кавказької національності та азіатів (10-13 % Т/Т гомозигот), але рідко зустрічається серед негрів (0,5-1,2 гомозиготи). Показано, що особи з Т/Т генотипом метилентетрагідрофолатредуктази мають на 20-35 % (2,0-3,5 мкмоль/л) більший рівень ГЦ у плазмі крові порівняно з гомозиготами Ц/Ц [34] і саме Т/Т гомозиготи складають більшу частину пацієнтів з високим рівнем ГЦ (до 70 % при рівні ГЦ понад 40 мкмоль/л) [8].

На сьогодні вже немає сумнівів щодо тісного зв'язку Ц677Т поліморфізму з ГГЦ, а відтак з підвищеною частотою серцево-судинних та цереброваскулярних уражень, артеріальних та венозних тромбозів [5, 24]. Вважається, що несприятлива дія цього генотипу найбільшою мірою проявляється за умов дефіциту фолату та дії інших факторів, здатних підвищувати рівень ГЦ. Висловлена гіпотеза,

що особи з Т/Т генотипом для підтримання задовільної активності метилентетрагідрофолатредуктази потребують більше фолатів, ніж особи з нормальним генотипом і лише підвищена кількість фолату в раціоні здатна компенсувати порушення в обміні ГЦ.

З мутаціями метіонінсинтази пов'язаний CblG тип порушення синтезу метилкобаламіну, а з мутаціями редуктази метіонінсинтази – тип CblE [14, 16]. Ці мутації характеризуються зростанням рівня ГЦ при зменшеному рівні метіоніну та появі мегалобластичних змін. Мутації CblC та CblD пов'язані з порушеннями синтезу не лише метилкобаламіну, але й аденосилкобаламіну і фенотипово проявляються метиламалоновою ацидуриєю, значним зростанням вмісту ГЦ, тромботичними мікроангіопатіями та ураженнями нирок [9]. Встановлено, що варіант метіонінсинтетази (2756A→G) асоціюється з 4-разовим зростанням ризику ішемічної хвороби серця, як і поліморфізм редуктази метіонінсинтетази пов'язаний з передчасним розвитком ураження судин у молодих осіб [16].

На рівень ГЦ плазми сильний вплив має активність цистатіонін-бета-синтетази, яка каталізує конденсацію серину та ГЦ до цистатіоніну. Дефіцит ферменту в його гомозиготному варіанті приводить до тяжкого захворювання – гомоцистинурії, в основі якого лежить повна відсутність активності ферменту або його знижена активність, або знижена активність з одночасним зменшенням здатності зв'язувати піридоксальфосфат [14, 21]. Більшість пацієнтів уже в ранні роки життя має епізоди артеріальних та венозних тромбозів. Відомо понад 310 алельних форм ферменту, з яких 92 асоціюються з клінічними проявами гомоцистинурії. Найчастіше зустрічаються 2 варіанти: заміна ізолейцину на треонін у 278 положенні (чутливий до лікування піридоксином) та заміна гліцину на серин (не чутливий до лікування піридоксином). Наявність деяких мутантних форм ферменту проявляється у гомозигот зростанням у 3-5 разів ризику судинної патології, тромбофілією. Гетерозиготне носійство по дефіцитній цистатіонін-бета-синтетазі, яке зустрічається досить часто (1:70, 1:200), також спряжене з підвищенням ризику тромботичних ускладнень. Хоча у пацієнтів з гомоцистинуриєю реєструється знижена активність цистатіонін-бета-синтетази (у гомозигот реєструється менше 2 % активності), але у більшості з них зберігається звичайна чутливість ферменту до піридоксальфосфату, в зв'язку з чим вони позитивно реагують на терапію вітаміном B₆ та піридоксальфосфатом.

Механізми патогенної дії ГЦ. Однією з головних ланок патогенної дії ГЦ є зниження інтенсивності процесів метилювання, тобто гіпометилювання [4, 31]. У процесі циклу метилювання утворюється S-аденозилгомоцистеїн, що є потужним інгібітором численних метилтрансфераз, які з більшою спорідненістю зв'язують S-аденозилгомоцистеїн, ніж кофермент S-аденозилметіонін. Через це накопичення S-аденозилгомоцистеїну приводить до пригнічення процесів метилювання біогенних амінів, ДНК, РНК, білків, фосфоліпідів. Ефективне здійснення метилтрансферазних реакцій вимагає швидкого гідролізу S-аденозилгомоцистеїну, що досягається завдяки високій активності S-аденозилгомоцистеїнгідролази. Однак ця реакція є оборотною і при накопиченні аденозину та ГЦ відбуваються автоматичне зростання концентрації S-аденозилгомоцистеїну та інгібування реакцій метилювання [11, 31].

Гальмування процесів метилювання є важливим чинником ураження судин. Зокрема, ступінь ендотеліальної дисфункції у пацієнтів з оклюзією коронарних і периферичних артерій корелює зі зростанням вмісту S-аденозилгомоцистеїну – інгібітора реакцій метилювання [22]. Збільшення в ендотеліальних клітинах вмісту ГЦ та S-аденозилгомоцистеїну супроводжується посиленням апоптичної загибелі цих клітин, що є наслідком зниження процесів метилювання сигнальної молекули Ras за участю ізопренілцистеїн-О-карбоксилметилтрансферази (КФ 2.1.1.100 [23]).

За певних умов ГЦ може інкорпоруватись до білкової молекули на трансляційному та посттрансляційному рівнях і опосередковується в першому випадку оксидом азоту, а в другому – тіолактоном ГЦ [19, 20]. Оксид азоту в зворотній реакції з ГЦ утворює S-нітрозогомоцистеїн. Внаслідок структурної подібності S-нітрозогомоцистеїну до метіоніну відбувається каталізоване метіоніл-тРНК-синтетазою приєднання S-нітрозогомоцистеїну до транспортної РНК метіоніну з наступним його перенесенням у поліпептидний ланцюг, який росте, в місця, які звичайно займає метіонін. Трансляційне включення ГЦ до основного білкового ланцюга може порушувати функції білків і спричиняти ГЦ-індуковані ушкодження судин. Існує гіпотеза, що підвищена частота виникнення атеросклеротичних пошкоджень у місцях розгалуження артерій зумовлена тим, що саме ці ділянки найбільшою мірою піддаються циклам стискання та розслаблення і саме в них найбільше утворюється оксиду азоту і S-нітрозого-ГЦ і, відповідно, найінтенсивніше відбувається гомоцистеїнування білків.

Посттрансляційний шлях гомоцистеїнування білків пов'язаний з прямою хімічною взаємодією самого ГЦ або його тіолактону з тільними чи аміногрупами білкової молекули і появою залишків ГЦ у бокових ланцюгах. У кількісному відношенні в плазмі крові переважають дисульфідні форми ГЦ, а до 10 % ГЦ має форму гомоцистаміду (ГЦ-N-білок) [20, 33]. Утворення білково-гомоцистеїнових дисульфідів у плазмі крові каталізує церулоплазмін, а утворення адуктів гомоцистамід-білок пов'язане із взаємодією тіолактону ГЦ з аміногрупами лізину чи аргініну. Утворення амідних адуктів ГЦ є незворотним процесом і супроводжується значними змінами функціональної активності модифікованих білків. При тривалому введенні тіолактону ГЦ тваринам розвиваються тяжкі морфологічні зміни ендотелію судин, активується апоптична загибель ендотеліальних клітин, стимулюється експресія внутрішньоклітинної молекули адгезії-1 та інгібітора активатора плазміногену-1. Модифікація тіолактоном проакцелерину спричиняє втрату чутливості до інактивуючої дії протеїну С, але зберігає здатність активувати протромбін. Ці ефекти лежать в основі прокоагулянтних ефектів ГЦ.

ГЦ також може індукувати оксидативний стрес, що відіграє роль у зменшенні тромборезистентності судин та виникненні ендотеліальної дисфункції [12, 36]. Доведено, що при автооксидації ГЦ утворюється підвищена кількість супероксидного радикала, який зв'язує молекули оксиду азоту і тим самим зменшує вазодилатуючий вплив останнього.

Вітаміни B_6 , B_9 та B_{12} в лікуванні патології, асоційованої з ГЦ. Для лікування та профілактики синдрому ГЦ і захворювань, що з ним патогенетично пов'язані, використовують у підвищених дозах вітаміни B_6 , B_9 , B_{12} (кожний окремо або їх комбінації) чи комплексні лікарські форми, що містять великі дози вказаних вітамінів одночасно з фізіологічними дозами інших вітамінів [4, 30]. У США для лікування хворих з рестенозом коронарних судин, поєднаним із синдромом ГЦ, та самої ГЦ застосовують препарат Foltx, що містить 25 мг вітаміну B_6 , 2,5 мг вітаміну B_9 , 1 мг вітаміну B_{12} . Для лікування хворих з кінцевою стадією ниркової недостатності, в яких спостерігається тяжка ГЦ, використовують препарати Nephrovite RX, Nephrocaps, Nephlex RX, що містять вітаміни B_6 – 10 мг, B_9 – 1 мг, B_{12} – 0,006 мг, та препарат DIATX (відповідно, 50, 5 та 1 мг), а інші вітаміни входять до складу цих препаратів у дозах, близьких до фізіологічних.

У праці P. Durand та співавт. [12] наведено основні підходи до дозування вітамінів B_6 , B_9 ,

B_{12} при лікуванні різних варіантів ГЦ. Так, при дефіциті вітаміну B_6 та наявності в дієті багатих на метіонін тваринних білків цей вітамін призначають у дозі 3-15 мг/день, а при уродженому дефіциті цистатіонін- β -синтетази – від 30 до 100 мг/день; при набутому дефіциті вітаміну B_9 – 0,4-1 мг/день, уродженому – до 5 мг/день фолату; при набутому дефіциті вітаміну B_{12} – 0,4-2 мг/день кобаламіну.

Здійснено метааналіз гіпогомоцистеїнемічної активності 19 варіантів доз одного з вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} або комбінації B_6 та B_9 , або комбінації B_6 , B_9 , B_{12} [10]. Дози цих вітамінів використовували в межах 2-50 мг/день (B_6); 0,4-10 мг/день (B_9); 0,02-1 мг/день (B_{12}). Найбільший ефект спостерігався при застосуванні комбінації вітамінів B_6 , B_9 та B_{12} (10, 1 та 0,4 мг/день відповідно), в результаті чого рівень ГЦ у крові знизився з 29,3 до 11,5 мкмоль/л, тобто майже на 60 %. Цікаво відмітити, що навіть у тих випадках, коли ГЦ є наслідком генетичних дефектів по метилентетрагідрофолатредуктазі чи цистатіонін-бета-синтетазі, призначення великих доз цих вітамінів здатне досить ефективно зменшувати вираження ГЦ [21].

Сьогодні застосування зазначених вітамінів, а особливо фолієвої кислоти (0,8 мг / добу), стало суттєвою частиною стратегії попередження серцево-судинних захворювань. Зокрема, у великому дослідженні, проведеному в Англії, показано, що дворічне використання гіполіпемічних, гіпотензивних засобів, аспірину та фолієвої кислоти дозволяє в осіб, старших 55 років, знизити ризик ішемічної хвороби серця на 88 %, а інсультів – на 80 %, причому внесок фолієвої кислоти складає не менше 24 % [35].

У США та ще 30 країнах функціонує програма збагачення харчових продуктів фолатом. На засіданні експертного комітету ВООЗ було зроблено висновок, що збагачення муки вітаміном B_9 може на 10-30 % знизити смертність новонароджених від дефектів нервової трубки, інсультів та інфарктів [3].

Таким чином, наведені дані свідчать про те, що після кількох десятиліть скептичного ставлення до терапевтичних можливостей вітамінотерапії (що, ймовірно, було результатом невиправданих сподівань на можливість лікування препаратами вітамінів усіх без винятку захворювань) сьогодні спостерігається ренесанс клінічної вітамінології, причому, на наш погляд, застосування вітамінів, як і інших мікроелементів, повинно перш за все стати важливим елементом профілактичної медицини і засобом лікування тих патологічних станів, що пов'язані з набутими чи уродженими дефектами обміну вітамінів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрушко І.І., Серкова В.К. Рівень гомоцистеїну та ліпідів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою та їх зв'язок зі статусом вітамінів B_2 , B_6 , B_{12} // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 4. – С. 51-55.
2. Андрушко І.І., Серкова В.К., Пентюк О.О. Гіпергомоцистеїнемія у пацієнтів з гіпертонічною хворобою та її зв'язок з важкістю перебігу // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 2. – С. 52-56.
3. Бариліак І.Р., Качура В.С., Неумержицька Л.В., Кузнецова Г.М. Антитератогенна дія фолієвої кислоти та її роль у запобіганні злоякісних пухлин і серцево-судинних захворювань // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 2. – С. 32-33.
4. Пентюк О.О., Луцьок М.Б., Андрушко І.І., Постовітенко К.П. Метаболізм гомоцистеїну та його роль в патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5-17.
5. Пентюк О.О., Луцьок М.Б., Андрушко І.І. та ін. Гіпергомоцистеїнемія, поширеність серед здорових та хворих з судинними ураженнями, зв'язок зі статусом вітамінів B_2 , B_6 та B_{12} та поліморфізмом по гену метилентетрагідрофолатредуктази // Буковинський вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 189-192.
6. Чернухина Л.А., Донченко Г.В., Задорина О.В. и др. Витаминная обеспеченность детей в некоторых регионах Украины // Укр. биохим. журн. 1997. – **69**, № 2. – С. 72-78.
7. Allen L.H. Folate and vitamin B_{12} status in the Americas // Nutr. Rev. – 2004. – Jun; 62 (6 Pt 2). – P. 29-33.
8. Brattstrom L., Wilcken D.E. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? // Am. J. Clin. Nutr. – 2000. – Aug; 72 (2). – P. 315-323.
9. Brunelli S.M., Meyers K.E., Guttenberg M. et al. Cobalamin C deficiency complicated by an atypical glomerulopathy // Pediatr. Nephrol. – 2002. – Oct; 17 (10). – P. 800-803.
10. Clark R. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplement; meta-analysis of randomised trials // BMI. – 1998. – **316**. – P. 894-898.
11. Clarke S., Banfield K. S-Adenosylmethionine-dependent methyltransferases. R. Carmel, D.W. Jacobsen Homocysteine in Health and Disease. – 2001. – P. 63-78.
12. Durand P., Prost M., Loreau N. et al. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease // Lab. Invest. – 2001. – **81**, № 5. – P. 645-672.
13. Finkelstein J.D. Pathways and regulation of homocysteine metabolism in mammals // Semin. Thromb. Hemost. – 2000. – **26** (3). – P. 219-225.
14. Fowler B. Homocysteine: overview of biochemistry, molecular biology, and role in disease processes // Semin. Vasc. Med. – 2005. – May; 5 (2). – P. 77-86.
15. Friso S., Girelli D., Martinelli N. et al. Low plasma vitamin B-6 concentrations and modulation of coronary artery disease risk // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – **79** (6). – P. 992-998.
16. Gellekink H., den Heijer M., Heil S.G., Blom H.J. Genetic determinants of plasma total homocysteine // Semin. Vasc. Med. – 2005. – May; 5 (2). – P. 98-109.
17. Herrmann W., Schorr H., Bodis M. et al. Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects // Eur. J. Clin. Invest. – 2000. – **30** (12). – P. 1083-1089.
18. Jacobsen D.W., Catanescu O., Dibello P.M., Barbato J.C. Molecular targeting by homocysteine: a mechanism for vascular pathogenesis // Clin. Chem. Lab. Med. – 2005. – **43** (10). – P. 1076-1083.
19. Jakubowski H. Homocysteine is a protein amino acid in humans. Implications for homocysteine-linked disease // J. Biol. Chem. – 2002. – **277** (34). – P. 30425-30428.
20. Jakubowski H. Molecular basis of homocysteine toxicity in humans // Cell Mol. Life Sci. – 2004. – **61** (4). – P. 470-487.
21. Jhee K.H., Kruger W.D. The role of cystathionine beta-synthase in homocysteine metabolism // Antioxid. Redox. Signal. – 2005. – **7** (5-6). – P. 813-822.
22. Kerins D.M., Koury M.J., Capdevila A. et al. Plasma S-adenosylhomocysteine is a more sensitive indicator of cardiovascular disease than plasma homocysteine // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – **74** (6). – P. 723-729.
23. Kramer K., Harrington E.O., Lu Q. et al. Isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase activity modulates endothelial cell apoptosis // Mol. Biol. Cell. – 2003. – **14** (3). – P. 848-857.
24. Lewis S.J., Ebrahim S., Davey Smith G. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? // BMJ. – 2005. – **5**; 331 (7524). – P. 1053.
25. Matthews R.G. Methylene tetrahydrofolate reductase: A common human polymorphism and its biochemical implications // Chem. Rec. – 2002. – **2**, № 1. – P. 4-12.
26. McKinley M.C., McNulty H., McPartlin J. et al. Low-dose vitamin B-6 effectively lowers fasting plasma homocysteine in healthy elderly persons who are folate and riboflavin replete // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – **73** (4). – P. 759-764.
27. Medina M., Urdiales J.L., Amores-Sanchez M.I. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions // Eur. J. Biochem. – 2001. – Jul; 268 (14). – P. 3871-3882.
28. Olteanu H., Banerjee R. Human methionine synthase reductase, a soluble P-450 reductase-like dual flavoprotein, is sufficient for NADPH-dependent methionine synthase activation // J. Biol. Chem. – 2001. – **276** (38). – P. 35558-35563.
29. Selhub J. Folate, vitamin B_{12} and vitamin B_6 and one carbon metabolism // J. Nutr. Health Aging. – 2002. – **6** (1). – P. 39-42.
30. Smulders Y.M., Stehouwer C.D. Folate metabolism and cardiovascular disease // Semin. Vasc. Med. – 2005. – **5** (2): – P. 87-97.
31. Stead L.M., Jacobs R.L., Brosnan M.E., Brosnan J.T. Methylation demand and homocysteine metabolism // Adv. Enzyme Regul. – 2004. – **44**. – P. 321-333.
32. Strain J.J., Dowey L., Ward M. et al. B-vitamins,

homocysteine metabolism and CVD // Proc. Nutr. Soc. – 2004. – **63** (4). – P. 597-603.

33. Uji Y., Motomiya Y., Hanyu N., Ukaji F. Okabe Protein-bound homocystamide measured in human plasma by HPLC // Clin. Chem. – 2002. – **48** (6 Pt 1). – P. 941-944.

34. Wald D.S., Law M., Morris J.K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis // BMJ. - 2002. – **23**; 325 (7374). –

P. 1202.
35. Wald N.J., Law M.R. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80 % // BMJ. – 2003. – **28**; 326 (7404). – P. 1419.

36. Weiss N., Heydrick S., Zhang Y.Y. et al. Cellular redox state and endothelial dysfunction in mildly hyperhomocysteinemic cystathionine beta-synthase-deficient mice // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2002. – **22** (1). – P. 34-41.

ВИТАМИНЫ В₆, В₁₂ И В₉, ПОЛИМОРФИЗМ ФЕРМЕНТОВ ИХ ОБМЕНА, СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЗМОМ ГОМОЦИСТЕИНА, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ. РЕНЕССАНС КЛИНИЧЕСКОЙ ВИТАМИНОЛОГИИ

О.О. Пентюк, Н.Б. Луцюк, И.И. Андрушко
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

В обзоре представлены данные относительно биологических функций витаминов В₆, В₉, В₁₂. Освещена роль отмеченных витаминов в обмене гомоцистеина и формировании гипергомоцистеинемии – независимого фактора риска сердечно-сосудистой патологии, причастного также к возникновению других заболеваний и дефектов развития. Описаны работы, которые касаются нутриентной недостаточности этих витаминов, нарушений их обмена вследствие генетических мутаций ферментов, способов профилактики и лечения осложнений, индуцируемых гипергомоцистеинемией. Сделан вывод о ренессансе в современных условиях профилактической витаминологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **витамины В₆, В₉, В₁₂, гомоцистеин, полиморфизм ферментов.**

THE VITAMINS В₆, В₉, В₁₂, POLYMORPHISM OF ENZYMES OF THEIR EXCHANGE, RELATION TO HOMOCYSTEINE METABOLISM AND THEIR ROLE IN PATHOLOGY. THE RENASCENSE OF CLINICAL VITAMINOLOGY

O.O. Pentyuk, M.B. Lutsyuk, I.I. Andrushko
VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

Findings concerning biological functions of vitamins В₆, В₉, В₁₂ are stated in the review. There are new data about the biological role of vitamins В₆, В₉ and В₁₂, but great attention is paid to their role in homocysteine metabolism and formation of hyperhomocysteinemia – independent risk factor of cardiovascular pathology, which is responsible for many other diseases and defects of development. The works concerning the nutrient insufficiency of the above-mentioned vitamins, disturbances of their metabolism due to genetic enzyme mutation, methods of prevention and treatment of complications induced by hyperhomocysteinemia are described. The renascense of preventive vitaminology in modern conditions is concluded.

KEY WORDS: **vitamins В₆, В₉, В₁₂, homocysteine, enzyme polymorphism.**

Адреса для листування: О.О. Пентюк, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

СИНТЕЗ ЛІПІДІВ У СЛИЗОВІЙ ТОНКОЇ КИШКИ МОРСЬКИХ СВИНОК З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ ПРИ ДОДАВАННІ ДО ЇХ РАЦІОНУ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ

О.С. Покотило

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті наведено дані про вплив соняшникової олії як джерела лінолевої кислоти (ω -6) на синтез окремих класів ліпідів у слизовій тонкій кишці морських свинок з гіперхолестеринемією *in vitro* при використанні як попередника ліпідів [6-¹⁴C] глюкози, [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти і [2-¹⁴C] лізину. Показано, що інгібуючий вплив соняшникової олії на синтез окремих класів ліпідів найбільш виражений при інкубації з [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою зрізів слизової тонкої кишки морських свинок з гіперхолестеринемією *in vitro*.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: морські свинки, гіперхолестеринемія, ліпіди, синтез, ліолева кислота, соняшникова олія, тонка кишка.

ВСТУП. Останнім часом певного успіху досягнуто в дослідженні молекулярних механізмів у патогенезі ішемічних хвороб серця, в яких ключову роль відіграють атеросклероз і пов'язана з ним гіперхолестеринемія [2, 3]. Підвищення рівня поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) родин ω -6 та ω -3 проявляє антихолестериногенну дію в організмі людини і лабораторних тварин [6-9]. Разом із тим, порушення метаболізму екзогенного холестеролу в організмі тварин в основному пов'язують з гіперхолестеринемією та змінами співвідношення окремих класів ліпопротеїнів у крові [2, 11]. При цьому не враховується вплив гіперхолестеринемії та екзогенних ПНЖК на синтез холестеролу й інших класів ліпідів у різних органах і тканинах тварин, у тому числі у слизовій оболонці тонкої кишки, яка займає вагоме місце в метаболізмі ліпідів [8].

Тому метою роботи було дослідження впливу соняшникової олії як джерела лінолевої кислоти на синтез окремих класів ліпідів у слизовій тонкій кишці морських свинок з гіперхолестеринемією при використанні різних попередників, мічених радіоактивним вуглецем.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 2 групах статевозрілих клінічно здорових морських свинок-самців живою масою 340-380 г, по 4 тварини у кожній групі. Усі тварини отримували стандартний раціон, який

забезпечував їх потребу в основних елементах живлення згідно з нормою, протягом 30 днів. До раціону морських свинок додавали холестерол у кількості 300 мг/кг маси тварини на добу з метою викликання у них гіперхолестеринемії. При цьому тварини 1-ї групи були контрольними, а до раціону тварин 2-ї групи додавали соняшкову олію (1 мл на тварину на добу) як джерело ПНЖК родини ω -6 (ліолева). У кінці досліду морських свинок піддавали декапітації під ефірним наркозом і одержані від них зразки слизової тонкої кишки (100 мг) розміром 1x1x1 мм переносили в інкубаційні посудинки з фосфатним буфером Кребс-Рінгера (рН – 7,4), співвідношення маси тканини до об'єму буфера 1:10. Потім в інкубаційні посудинки додавали 1 мкКюрі [6-¹⁴C] глюкози, [2-¹⁴C] лізину або [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти й інкубували протягом 60 хв в ультратермостаті при температурі 38 °С [5]. Після закінчення інкубації зразки тканин відмивали від залишків ізотопів і екстрагували з них ліпіди сумішшю хлороформ-метанолу (2:1) за методом Фолча [10]. Розділення ліпідів на окремі класи проводили шляхом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі "гексан – діетиловий ефір – льодова оцтова кислота" у співвідношенні 70:30:1 [1], визначали їх радіоактивність на сцинтиляційному лічильнику ЛКВ (Швеція) у толуоловому сцинтиляторі. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З наведених у таблиці 1 даних видно, що радіоактив-

ність загальних ліпідів, синтезованих зрізами слизової тонкої кишки морських свинок контрольної групи *in vitro*, залежить від досліджуваного міченого радіоактивним вуглецем субстрату і зменшується в ряді "[2-¹⁴C] лізин, [1-¹⁴C] пальмітинова кислота, [6-¹⁴C] глюкоза". При інкубації зрізів слизової тонкої кишки тварин обох груп з [2-¹⁴C] лізином та [6-¹⁴C] глюкозою радіоактивність синтезованих класів ліпідів зменшується в ряді "фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, діацилгліцероли + вільний холестерол, етерифікований холестерол", а при інкубації з [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою в контрольній групі – в ряді "фосфоліпіди, триацилгліцероли, вільні жирні кислоти, діацилгліцероли + вільний холестерол, етерифікований холестерол", у дослідній групі – в ряді "фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, діацилгліцероли + вільний холестерол, етерифікований холестерол".

Як показали результати наших досліджень, у слизовій тонкій кишці, на відміну від печінки, жирової тканини і головного мозку [4], соняшникова олія при додаванні її до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією інгібує синтез фосфоліпідів у слизовій порожньої кишки при інкубації її зрізів з досліджуваними субстратами. Про це свідчить вірогідно менша радіоактивність фосфоліпідів, синтезованих зрізами слизової тонкої кишки тварин дослідної групи при інкубації з [2-¹⁴C] лізином ($p < 0,01$), [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою ($p < 0,01$) та [6-¹⁴C] глюкозою ($p < 0,05$), ніж при інкубації зрізів сли-

зової порожньої кишки морських свинок контрольної групи. З цих даних випливає, що наявна в соняшниковій олії лінолева кислота проявляє інгібуючий вплив на синтез нейтральних ліпідів у слизовій тонкій кишці морських свинок з гіперхолестеринемією.

У слизовій тонкій кишці тварин дослідної групи при інкубації їх зрізів з [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою виявлено вірогідно меншу інтенсивність синтезу фосфоліпідів, триацилгліцеролів, діацилгліцеролів + холестеролу ($p < 0,01$; $p < 0,001$; $p < 0,5$), більшу – вільних жирних кислот ($p < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. Наведені дані свідчать про те, що інгібуючий вплив наявної в соняшниковій олії лінолевої кислоти, яка є ПНЖК родини ω -6, проявляється на стадії ацилювання жирних кислот при синтезі ліпідів.

Одержані нами результати вказують на відмінності у впливі соняшникової олії на синтез ліпідів у слизовій порожньої кишки морських свинок з гіперхолестеринемією при використанні як попередника ліпідів [6-¹⁴C] глюкози, [2-¹⁴C] лізину і [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти *in vitro*.

ВИСНОВОК. Додавання до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією соняшникової олії як джерела лінолевої кислоти проявляє інгібуючий вплив на синтез загальних ліпідів з [6-¹⁴C] глюкози, [2-¹⁴C] лізину і [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти у слизовій порожньої кишки за умов *in vitro*.

Таблиця 1 – Радіоактивність окремих класів ліпідів, синтезованих зрізами слизової порожньої кишки морських свинок при інкубації з [6-¹⁴C] глюкозою, [2-¹⁴C] лізином та [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою ($M \pm m$, β -розпадів/100 мг сирової тканини/хв, $n=4$)

| Класи ліпідів | [6- ¹⁴ C] глюкоза | | [2- ¹⁴ C] лізин | | [1- ¹⁴ C] пальмітинова кислота | |
|---------------------------------------|------------------------------|----------------|----------------------------|----------------|---|----------------|
| | Контрольна група | Дослідна група | Контрольна група | Дослідна група | Контрольна група | Дослідна група |
| Фосфоліпіди | 1008±60 | 826±57* | 1504±99 | 1088±67** | 1352±85 | 776±45** |
| Діацилгліцероли вільний холестерол | 448±43 | 360±12 | 464±30 | 608±18** | 360±25 | 472±22* |
| Вільні жирні кислоти | 592±34 | 560±36 | 864±47 | 1072±78* | 572±15 | 728±45** |
| Триацилгліцероли | 520±27 | 528±42 | 512±28 | 528±39 | 940±24 | 440±24*** |
| Етерифікований холестерол | 456±19 | 376±27 | 464±29 | 384±25 | 328±17 | 376±27 |
| Загальні ліпіди | 3024±136 | 2648±174 | 3808±133 | 3680±228 | 3652±154 | 2792±133** |

Примітка. * – достовірні відмінності у досліджуваних показниках у тварин дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

ЛІТЕРАТУРА

1. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1978. – 260 с.
2. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. – С.Пб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
3. Погожева А.В. Клинико-патогенетическое обоснование применения ПНЖК омега-3 у больных ишемической болезнью сердца, гипертонической

болезню и гиперлипидемией: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1995. – 45 с.

4. Покотило О.С., Янович В.Г. Використання [2-¹⁴C] лізину у синтезі ліпідів *in vitro* у тканинах морських свинок // Біологія тварин. – 2006. – **8**, № 1. – С. 92-95.

5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Ленинград: ЛГУ, 1982. – 327 с.

6. Титов В.Н. Внутриклеточный дефицит полиеновых жирных кислот в патологии атеросклероза // Кардиология. – 1998. – № 1. – С. 44-48.

7. Титов Н.В., Кухарук В.В. Блокада рецепторного поглощения клетками эссенциальных полиеновых жирных кислот как основа патогенеза

атеросклероза // Артериальная гипертензия. – 2001. – **7**, № 2. – С. 11-19.

8. Янович В.Г., Лагодюк П.З. Обмен липидов у животных в онтогенезе. – М.: Агропромиздат, 1991. – 316 с.

9. Eristland J. Safety considerations of polyunsaturated fatty acids // Am. J. Clin. Nutr. – 2000. – **71**. – P. 197S-201S.

10. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – **226**. – P. 497-509.

11. Vance D.E., Vance J.E. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes // Elsevier. – Amsterdam, 1991. – 611 p.

СИНТЕЗ ЛИПИДОВ В СЛИЗИСТОЙ ТОНКОЙ КИШКИ МОРСКИХ СВИНОК С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В ИХ РАЦИОН ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА

О.С. Покотило

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В статье приведены данные о влиянии подсолнечного масла как источника линолевой кислоты (ω -6) на синтез отдельных классов липидов в слизистой тонкой кишки морских свинок с гиперхолестеринемией *in vitro* при использовании как предшественника липидов [6-¹⁴C] глюкозы, [1-¹⁴C] пальмитиновой кислоты и [2-¹⁴C] лизина. Показано, что ингибирующее влияние подсолнечного масла на синтез отдельных классов липидов наиболее выражено при инкубации с [1-¹⁴C] пальмитиновой кислотой срезов слизистой тонкой кишки морских свинок с гиперхолестеринемией *in vitro*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: морские свинки, гиперхолестеринемия, липиды, синтез, линолевая кислота, подсолнечное масло, тонкая кишка.

SYNTHESIS OF LIPIDS IN SMALL INTESTINE MUCOUS OF GUINEA-PIGS AT HYPERCHOLESTEROLEMIA AT ADDING OF SUNFLOWER-SEED OIL TO THEIR RATION

O.S. Pokotylo

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article adduces the data about influencing of sunflower-seed oil as a source of linoleic acid (ω -6) on the synthesis of separate classes of lipids in small intestine mucous of guinea-pigs with hypercholesterolemia *in vitro* at the use as lipid predecessor [6-¹⁴C] glucose, [2-¹⁴C] lysine and [1-¹⁴C] palmitic acid. It is shown that inhibition influence of sunflower-seed oil on the synthesis of separate classes of lipids is the most expressed during incubation with [1-¹⁴C] palmitic acid of small intestine mucous of guinea-pigs with hypercholesterolemia *in vitro*.

KEY WORDS: guinea-pigs, hypercholesterolemia, lipids, synthesis, linoleic acid, sunflower-seed oil, small intestine.

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

ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ ПІД ЧАС РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Л.М. Михайлів

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено динаміку біохімічних показників у хворих на хронічний пієлонефрит під час розвантажувально-дієтичної терапії та вплив ароматерапії на ці величини. Доведено безпечність та ефективність використання даних методів лікування у хворих на хронічний пієлонефрит.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: розвантажувально-дієтична терапія, ароматерапія, хронічний пієлонефрит.

ВСТУП. Однією з основних проблем терапії хронічного пієлонефриту (ХПН) протягом останніх років є значне розповсюдження резистентних форм мікроорганізмів, тому для покращання результатів лікування використовують комбіновану антибактеріальну терапію [2, 3]. Негативною стороною більшості антибактеріальних середників є їх нефротоксичність, здатність сенсibiliзувати та алергізувати організм. Тому важливим моментом у лікуванні ХПН є пошук нових ефективних методів лікування, які не викликали б небажаних побічних ефектів та активізували резервні можливості організму і процеси саморегуляції. Один із шляхів розв'язання даної проблеми – застосування розвантажувально-дієтичної терапії (РДТ) та ароматерапії (АРТ) при лікуванні хворих на ХПН [1, 4]. Під час РДТ здійснюється перехід на ендogenous харчування організму, що супроводжується метаболічними зрушеннями. Для оцінювання ступеня їх вираженості визначають ряд біохімічних показників.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу РДТ та РДТ у поєднанні з АРТ на динаміку біохімічних показників у хворих на ХПН.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами обстежено 138 хворих на ХПН віком 18-65 років (102 жінки, 36 чоловіків), які проходили курс РДТ, 50 з них додатково отримували сеанси АРТ, та 30 хворих на ХПН, які одержували медикаментозну терапію. Для проведення АРТ використовували суміші ефірних олій, які включали олію лаванди, лимона, евкаліпта виробництва фірми "Ароматика" (Київ) у співвідношенні 2:2:1. Перед

© Л.М. Михайлів, 2007.

початком лікування кожному хворому проводили проби на наявність індивідуальної переносимості компонентів ароматичної суміші (нюхова, нашкірна).

РДТ проводили за методикою Ю.С. Ніколаєва з доповненням відновного періоду, розробленим нашою клінікою. Тривалість розвантажувального періоду становила 14-21 день і підбиралася індивідуально залежно від статі, віку та тривалості захворювання.

При біохімічному аналізі крові оцінювали такі показники: цукор крові, загальний білок та білірубін, АлАТ, АсАТ, холестерин, сечовину, креатинін.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При аналізі результатів обстежень бачимо, що до початку лікування всіх пацієнтів обох груп біохімічні показники крові були в межах норми. Під час розвантажувального періоду відмічалось деяке зниження рівня цукру крові – до $(3,88 \pm 0,09)$ та $(3,88 \pm 0,07)$ ммоль/л у хворих, яких лікували методами РДТ та РДТ+АРТ відповідно. До кінця відновного періоду спостерігалось зростання рівня цукру крові й він практично не відрізнявся від вихідних значень.

Під час розвантажувального періоду відмічалось деяке зростання показників загального білірубіну, сечовини, креатиніну, що відображало метаболічні зрушення в організмі, які відбувалися при переході на ендogenous харчування. Слід зауважити, що дані показники не виходили за верхню межу норми. До кінця відновного періоду рівень білірубіну крові у пацієнтів, яких лікували методом РДТ+АРТ, був достовірно нижчим від показників до лікування

Таблиця 1 – Динаміка біохімічних показників крові ($M \pm m$) у хворих на ХПН під впливом РДТ та РДТ у поєднанні з ароматерапією

| Показник | до лікування | | в кінці розвантажувального періоду | | в кінці відновного періоду | |
|-------------------------------|--------------|------------|------------------------------------|-------------|--|--|
| | РДТ+АРТ | РДТ | РДТ+АРТ | РДТ | РДТ+АРТ | РДТ |
| Цукор, ммоль/л | 4,48±0,23 | 4,68±0,22 | 3,88±0,09 | 3,88±0,07 | 4,33±0,12 | 4,48±0,21 |
| Білірубін загальний, мкмоль/л | 22,18±2,01 | 22,02±1,83 | 19,03±1,39 | 20,17±1,54 | 15,71±0,22 $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,02$ | 20,88±2,01 |
| Загальний білок, г/л | 83,9±1,5 | 81,1±1,4 | 82,5±1,6 | 80,1±1,1 | 81,1±1,3 | 78,5±1,4 |
| Холестерин, ммоль/л | 5,55±0,29 | 6,08±0,36 | 5,48±0,36 | 5,69±0,39 | 4,52±0,22 $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,02$ | 5,01±0,24 |
| АлАТ, ммоль/ (год·л) | 0,62±0,13 | 0,82±0,14 | 0,71±0,16 | 0,91±0,19 | 0,53±0,09 | 0,87±0,15 |
| АсАТ, ммоль/ (год·л) | 0,46±0,06 | 0,71±0,31 | 0,55±0,07 $p_{1-2} < 0,05$ | 1,00±0,40 | 0,42±0,09 | 0,52±0,11 |
| Креатинін, мкмоль/л | 85,62±5,86 | 95,00±6,26 | 111,90±7,84 $p_{1-2} < 0,05$ | 100,47±8,17 | 82,88±5,28 $p_{2-3} < 0,01$ | 77,72±3,76 $p_{1-3} < 0,02$ $p_{2-3} < 0,02$ |
| Сечовина, ммоль/л | 6,30±0,40 | 5,92±0,35 | 5,89±0,42 | 5,78±0,41 | 4,58±0,23 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,01$ | 4,80±0,34 $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,01$ |

Примітка. p_{1-2} – вірогідність різниці показників між хворими до РДТ і в кінці розвантажувального періоду; p_{2-3} – вірогідність різниці показників між хворими в кінці розвантажувального і відновного періодів; p_{1-3} – вірогідність різниці показників між хворими до РДТ і в кінці відновного періоду.

і становив ($15,71 \pm 0,22$) мкмоль/л. У групі хворих, які проходили курс РДТ, рівень білірубину крові достовірно не відрізнявся від показників до лікування.

Вміст сечовини та креатиніну до кінця розвантажувального періоду дещо зростав, але достовірним було лише підвищення рівня креатиніну до ($111,90 \pm 7,84$) мкмоль/л у групі хворих, яких лікували методом РДТ+АРТ.

До завершення відновного періоду показники сечовини та креатиніну вірогідно знижувались в обох групах порівняно з показниками до лікування. Отримані результати наведено в таблиці 1.

Такі коливання біохімічних показників крові можна пояснити метаболічними зрушеннями, які відбуваються в організмі під час РДТ. Зокрема, зростання рівня сечовини та кре-

атиніну, на нашу думку, можна пов'язати з розпадом азотистих сполук (білків, амінокислот) в організмі під час розвантажувального періоду. Слід також відмітити, що у хворих на ХПН вказані показники не виходять за межі норми, що свідчить про компенсацію організмом метаболічних зрушень.

ВИСНОВКИ. РДТ та АРТ мають позитивний вплив на метаболічні процеси у хворих на ХПН. Підвищення рівня білірубину, креатиніну та сечовини під час розвантажувального періоду має компенсаторний характер у відповідь на розпад азотистих сполук в організмі. До кінця відновного періоду відбувається нормалізація всіх біохімічних показників, що свідчить про нормальне функціонування видільної системи у хворих на ХПН за умов РДТ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кузів П.П., Сливка Ю.І., Домбровська Е.З. та ін. Застосування розвантажувально-дієтичної терапії та низькокалорійної дієти при захворюваннях внутрішніх органів (методичні рекомендації). – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 16 с.
2. Нейко Є.М., Соломчак Д.Б. Сучасні погляди на етіопатогенез хронічного пієлонефриту // Галицький лікарський вісник. – 2001. – **8**, № 2. – С. 158-161.
3. Павлов С.Б., Жмуров В.А., Осколков С.А.

Взаимосвязь иммуногенетических маркеров с метаболическими процессами при хроническом пиелонефрите // Урология. – 2000. – № 3. – С. 9-13.

4. Styles J.L. The use of aromatherapy in hospitalized children with HIV disease // Complement Ther. Nurse Midwifery. – 1997. – P. 16-20.

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ ВО ВРЕМЯ РАЗГРУЗОЧНО-ДИЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Л.М. Михайлив

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено динамику биохимических показателей у больных хроническим пиелонефритом во время разгрузочно-диетической терапии и влияние ароматерапии на эти показатели. Доказано безопасность и эффективность использования данных методов лечения у больных хроническим пиелонефритом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: разгрузочно-диетическая терапия, ароматерапия, хронический пиелонефрит.

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDEXES AT PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS DURING UNLOADING-DIETARY THERAPY

L.M. Mykhayliv

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The dynamics of biochemical indexes at patients with chronic pyelonephritis during unloading-dietary therapy and influence of aromatherapy on these parameters has been studied. The safety and efficiency of the mentioned methods of medical treatment at patients with chronic pyelonephritis has been proved.

KEY WORDS: unloading-dietary therapy, aromatherapy, chronic pyelonephritis.

Адреса для листування: Л.М. Михайлів, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

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

ОЦІНКА ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ "ГЛІПЕК" НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ

М.С. Гончаренко, І.Г. Мартиненко, О.О. Коновалова, А.А. Січкара
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Розглядається вплив препарату "Гліпек" на рухову активність щурів при проведенні тесту "Відкрите поле". Показано зниження кількості негативних емоційних реакцій і підвищення інтенсивності дослідницьких дій, що відображає оптимізацію функціонального стану центральної нервової системи у тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: препарат "Гліпек", щури, центральна нервова система, тест "Відкрите поле".

ВСТУП. Нами розроблений лікарський препарат "Гліпек" у вигляді таблеток (склад – 0,1 г гліцину та 0,05 г пектину в одній таблетці). Його дія спрямована на підвищення опірності організму, стимуляцію розумової працездатності, зняття психоемоційної напруги в різноманітних стресових ситуаціях. Додаток пектину в складі препарату має детоксикуючу активність.

Враховуючи переважну дію складу препарату на психоемоційний стан та розумову працездатність, ми вважали за доцільне дослідити вплив препарату "Гліпек" на функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) у щурів.

У ході експериментальних неврологічних досліджень використовують високу регулярність і відтворюваність мимовільних, уроджених реакцій, особливості поведінки тварин за стандартних умов тестування. Наявність або відсутність реакцій, зміна поведінки надають важливу інформацію про широкий спектр функцій головного мозку. Слід зазначити, що дані прості неврологічні тести можуть дати відомості про функції всіх рівнів центральної нервової системи. Такі тести використовують, якщо є підстави думати, що лікарські препарати, операції або фактори навколишнього середовища вплинули на певний відділ головного мозку, порушили специфічну функцію або подіяли на центральну нервову систему в цілому [1, 5].

Інформацію про поведінку тварини одержують, визначивши її активність у клітці або в інших стандартних умовах. Необхідною умовою такого дослідження є точне фіксування форм

поведінки і надійна процедура для їх кількісного опису. Одним з найбільш розроблених і широко використовуваних у наш час методів вивчення поведінки щурів у заданих експериментальних умовах є тест "Відкрите поле" [1-6].

Обґрунтуванням для даного тесту є особливості поведінки щурів у незвичайних умовах. Тварини реагують завмиранням на нові, потенційно небезпечні стимули. Завмирання можна викликати широким діапазоном стимулів, при цьому важливо, щоб стимулювальна ситуація сприяла виявленню окремих елементів активності. Найбільш просте й доступне рішення – помістити тварину в яскраво освітлену камеру, значно більшу, ніж клітка, де живе щур. Тому що нерухомість можна розглядати як симптом страху, а інтенсивність страху, викликаного стандартним стимулом, відображає емоційний стан тварини, поведінку у відкритому полі звичайно використовують як тест емоційності. Емоційні стани також супроводжуються різними вегетативними проявами (прискорення серцевого ритму, гальванічна шкірна реакція, розширення зіниць і т. д.). Вегетативною функцією, яку зручно враховувати разом із визначенням активності, є дефекація. Ті тварини, які менше пересуваються та в яких спостерігається більша дефекація в ситуації відкритого поля, більш емоційні, ніж ті, які багато пересуваються, але мають низький рівень дефекації.

Таким чином, використання даного тесту дозволяє об'єктивно оцінити особливості поведінки тварин у незвичайних умовах, зміни їх емоційного стану, зокрема при введенні ряду фармакологічних препаратів, що діють на ЦНС.

© М.С. Гончаренко, І.Г. Мартиненко, О.О. Коновалова, А.А. Січкара, 2007.

Метою досліджень був аналіз змін емоційного стану та функціонального стану ЦНС щурів у цілому під впливом препарату "Гліпек".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При дослідженні впливу препарату "Гліпек" на поведінку тварин у тесті "Відкрите поле" препарат у дозі 0,1 г на 1 кг маси за допомогою зонда вводили 15 самкам білих щурів кожного дня протягом 30 днів. Оцінювали рухову активність щурів при виконанні модифікованого тесту "Відкрите поле" [1] до і після експерименту. Проводили статистичний аналіз достовірності відмінностей з використанням непараметричного критерію Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що застосування даного препарату викликає підвищення рухової активності щурів (табл. 1), що пов'язано з посиленням їх дослідницьких дій.

Так, кількість переміщень ближче до стінки після експерименту збільшувалася в 1,2 раза. Аналогічна тенденція спостерігалася відносно такого показника, як кількість переміщень ближче до центру. Кількість цих переміщень після прийняття препарату вірогідно збільшувалася в середньому в 3,5 раза.

Багато авторів найінформативнішим показником емоційного стану в цих умовах вважає кількість переміщень тварин у центральні квадрати. Результати даного дослідження показали виражене послаблення симптомів страху в щурів, значне посилення дослідницьких дій і поліпшення емоційного стану. Так, після експерименту було зафіксовано достовірне збільшення в 3,1 раза переміщень у центральні квадрати.

Зміни подібної спрямованості спостерігалися й відносно кількості вертикальних стійок. Порівняно з даними до експерименту було відзначено її достовірне збільшення у 2,5 раза.

Дані щодо підвищення рухової активності дають підставу говорити про позитивний вплив

препарату "Гліпек" на емоційний стан щурів. Особливо треба відзначити достовірне збільшення кількості переміщень ближче до центру й у центральні квадрати, що свідчить про виражене збільшення орієнтовної активності й зниження емоційної напруги тварин.

Ці висновки підтверджують дані про кількість умивань, яка також відображає емоційний стан тварин. Було зареєстровано достовірне збільшення у 2,1 раза кількості умивань після прийняття препарату "Гліпек". При цьому вірогідно збільшився у 2,7 раза середній час умивання. Збільшення кількості й тривалості умивань після прийняття препарату свідчить про підвищення комфортності стану щурів, зменшення страху й, відповідно, оптимізацію їх емоційного стану.

При цьому не було виявлено значимих виражених відмінностей щодо кількості грумінгів, а також кількості нерухомих положень.

Кількість уринацій після експерименту була трохи вищою порівняно з вихідними даними (збільшення в середньому в 1,5 раза).

Одним з найбільш інформативних показників даного тесту є інтенсивність дефекації [1]. Цей показник вірогідно знижувався у 1,7 раза після прийняття препарату "Гліпек". Виражене достовірне зменшення кількості болюсів після експерименту об'єктивно, на рівні вегетативних функцій, свідчить про позитивний вплив даного препарату на емоційний стан щурів, зменшення страху й стресу в незвичайних умовах.

ВИСНОВКИ. Достовірне виражене збільшення переміщень у внутрішні квадрати, особливо центральні, свідчить про послаблення симптомів страху і значне посилення дослідницьких дій. Вірогідне зменшення інтенсивності дефекації об'єктивно відображає зниження емоційної реактивності негативної спрямованості на фактори стресу, оптимізацію емоційного стану і функціонального стану ЦНС щурів у цілому.

Таблиця 1 – Вплив препарату "Гліпек" на показники рухової активності щурів

| Показник | До приймання | Після приймання |
|---|----------------|-----------------|
| Вихід у центр поля, кількість | 1,875±0,3504 | 5,929 ± 0,6585* |
| Переміщення ближче до стінки, кількість | 16,87±0,5422 | 20,50 ± 1,425 |
| Переміщення ближче до центру, кількість | 4,182 ± 0,6581 | 14,79 ± 2,292* |
| Вертикальна стійка, кількість | 3,067 ± 0,3581 | 7,714 ± 0,6665* |
| Умивання, кількість | 1,818 ± 0,4225 | 3,786 ± 0,7046* |
| Час умивання, с | 7,250 ± 1,359 | 19,79 ± 4,018* |
| Грумінг, кількість | 2,333 ± 1,245 | 1,714 ± 0,4738 |
| Нерухоме положення, кількість | 20,27 ± 3,341 | 18,43 ± 4,628 |
| Уринація, кількість | 2,714 ± 0,5074 | 4,000 ± 2,726 |
| Дефекація (болюси), кількість | 6,000 ± 0,4781 | 3,643 ± 0,5305* |

Примітка. * – значимість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні (p<0,05).

ЛІТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 119-122.
2. Finger S., Frommer G.P. Effects of cortical and thalamic lesions on temperature discrimination and responsiveness to foot shock in the rat // Brain Res. – 1970. – **24**. – P. 69-89.
3. Santacana M.P., Alvarez Pelaez R., Tejedor P. Effect of the lesion of the mamillary bodies on the performance in the open field // Physiol. Behav. – 1972. – **9**. – P. 501-504.
4. Smart J.L., Dobbing J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behavior in the rat // Brain Res. – 1971. – **28**. – P. 85-95.
5. Tupper D.E., Wallace R.B. Utility of neurological examination in rats // Acta Neurobiol. Exp. – 1980. – **40**. – P. 999-1003.
6. Walsh R.N., Cummins R.A. The Open-Field Test: A Critical Review // Psychological Bulletin. – 1976. – **83**, № 3. – P. 482-504.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА "ГЛИПЕК" НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС

М.С. Гончаренко, И.Г. Мартыненко, Е.О. Коновалова, А.А. Сичкарь
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Рассматривается влияние препарата "Глипек" на двигательную активность крыс при проведении теста "Открытое поле". Показано снижение количества негативных эмоциональных реакций и повышение интенсивности исследовательских действий, что отражает оптимизацию функционального состояния центральной нервной системы у животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: препарат "Глипек", крысы, центральная нервная система, тест "Открытое поле".

ANALYSIS OF INFLUENCE OF THE MEDICINE "GLYPEC" ON FUNCTIONAL STATE OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF RATS

M.S. Honcharenko, I.H. Martynenko, O.O. Konovalova, A.A. Sichkar
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY

Summary

Influence of preparation "Glypec" on mobile activity of rats is considered at carrying out the test "Open field". It is shown decrease in quantity of negative emotional reactions and increase of intensity of researched activity that reflects optimization of functional condition of central nervous system of rats.

KEY WORDS: preparation "Glypec", rats, central nervous system, test "Open field".

Адреса для листування: М.С. Гончаренко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ПОШУК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У РЯДІ ПОХІДНИХ 2-(ПІРИДИН-2-ІЛ)-5-ІЛІДЕНТІАЗОЛО-(3,2-В)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-6(5Н)-ОНІВ

С.М. Куліш, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, А.М. Лісничка
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Здійснено синтез нових 2-(піридин-2-іл)-5-ілідентіазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5Н)-онів. Будову отриманих сполук підтверджено комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектроскопії), а їх індивідуальність – за допомогою тонкошарової хроматографії. Вивчено протимікробну, протигрибкову та протизапальну активність синтезованих сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-триазоли, біциклічні системи, біологічна активність.

ВСТУП. Впровадження в медичну практику нових малотоксичних і високоефективних лікарських засобів є важливим завданням фармації та медицини. Велику зацікавленість у цьому напрямку викликають гетероциклічні системи, зокрема похідні 1,2,4-триазолу.

Відомо, що ядро 1,2,4-триазолу є структурним фрагментом багатьох лікарських засобів з протигрибковим (флуконазол, ітраконазол), антидепресивним (тразодон, альпразолам), гепатопротекторним, ранозагоюючим та протівірусним (тіотриазолін) ефектами [2, 4, 5, 7].

З літературних джерел відомо [3], що циклізація 2-(5-R)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатних кислот під дією циклізуючих реагентів перебігає з утворенням тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолів.

Тому великий практичний і теоретичний інтерес становить проведення цієї реакції для 2-(5-піридин-2-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатної кислоти.

Метою нашої роботи було вивчення реакції циклізації 2-(5-піридин-2-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатної кислоти з карбонільними сполуками, а також фізико-хімічних властивостей отриманих сполук і встановлення деякого можливого взаємозв'язку між хімічною будовою та біологічною дією синтезованих речовин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як вихідний продукт для синтезу 2-(піридин-2-іл)-5-ілідентіазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5Н)-онів ми

© С.М. Куліш, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, А.М. Лісничка, 2007.

використовували 2-(5-піридин-2-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатну кислоту.

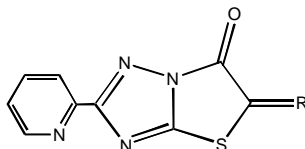
При взаємодії 2-(5-піридин-2-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатної кислоти з карбонільними сполуками (п-хлорбензальдегід, о-метоксибензальдегід, п-метоксибензальдегід, 3-нітробензальдегід, 4-нітробензальдегід, диметилпаранітробензальдегід, 5-бромсаліциловий альдегід, 3-метокси-4-гідроксибензальдегід, фурфурол та ізатин) у середовищі ацетатної кислоти в присутності каталітичної кількості ангідриду ацетатної кислоти при нагріванні протягом 2-х год утворюються індивідуальні сполуки (I а-к), які за своїм складом та фізико-хімічними властивостями відповідають біциклічним похідним тіазоло(3,2-в)-1,2,4-триазолу (табл. 1). Отримані в такий спосіб сполуки являють собою жовту (I б, в, д), жовту (I ж) з оранжевим відтінком, жовту (I і) із зеленуватим відтінком, темно-жовту (I г), сіру (I а), білу (I з) з жовтуватим відтінком, оранжеву (I е), коричневу (I к) кристалічні речовини, важкорозчинні у воді й добре розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу сполуки (I а-к) перекристалізовано з етанової кислоти. В ІЧ-спектрах сполук (I а-к) не виявлено смуг коливання NH-груп. Були наявні смуги коливання піридинового радикала.

Експериментальна частина.

2-(піридин-2-іл)-5-ілідентіазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5Н)-они.

До 0,01 моль 2-(5-піридин-2-іл)-2Н-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатної кислоти додають 3 мл ангідриду етанової кислоти і 20 мл етанової кислоти, а також 0,01 моль відповідної

Таблиця 1 – 2-(піридин-2-іл)-5-ілідентіазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5Н)-они



| № сполук | R | Т. пл., °С | Брутто-формула | Вихід, % |
|----------|---|------------|--|----------|
| Ia | CHC ₆ H ₄ Cl-4 | 258-260 | C ₁₆ H ₁₁ ClN ₄ OS | 85 |
| Iб | CHC ₆ H ₄ OCH ₃ -2 | 242-244 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 76 |
| Iв | CHC ₆ H ₄ OCH ₃ -4 | 250-252 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 77 |
| Iг | CHC ₆ H ₄ NO ₂ -3 | 235-237 | C ₁₆ H ₉ N ₅ O ₃ S | 76 |
| Iд | C ₁₁ H ₆ H ₄ NO ₂ -4 | 205-207 | C ₁₆ H ₉ N ₅ O ₃ S | 74 |
| Ie | CHC ₆ H ₄ N(CH ₃) ₂ -4 | 217-219 | C ₁₈ H ₁₆ N ₅ OS | 88 |
| Iз | CHC ₆ H ₃ OH ₂ -Br-5 | 225-227 | C ₁₆ H ₉ BrN ₄ O ₄ S | 80 |
| Iж | CHC ₆ H ₃ OCH ₃ -3-OH-4 | 212-214 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₃ S | 91 |
| Ii | фурил | 248-250 | C ₁₄ H ₈ N ₄ O ₂ S | 83 |
| Iк | C ₈ H ₅ NO (ізатин) | 203-205 | C ₁₇ H ₁₁ N ₅ O ₂ S | 84 |

Продовження табл. 1

| № сполук | Обчислено, % | | | | Знайдено, % | | | |
|----------|--------------|------|-------|-------|-------------|------|-------|-------|
| | C | H | N | S | C | H | N | S |
| Ia | 56,06 | 3,23 | 16,34 | 9,35 | 56,08 | 3,25 | 16,36 | 9,37 |
| Iб | 60,70 | 3,60 | 16,66 | 9,53 | 60,73 | 3,62 | 16,64 | 9,55 |
| Iв | 60,70 | 3,60 | 16,66 | 9,53 | 60,58 | 3,58 | 16,68 | 9,51 |
| Iг | 54,70 | 2,58 | 19,93 | 9,16 | 54,71 | 2,56 | 19,95 | 9,18 |
| Iд | 54,70 | 2,58 | 19,93 | 9,16 | 54,73 | 2,60 | 19,91 | 9,14 |
| Ie | 61,87 | 4,33 | 20,04 | 9,18 | 61,85 | 4,35 | 20,06 | 9,20 |
| Iж | 47,89 | 2,26 | 13,96 | 7,99 | 47,92 | 2,24 | 13,98 | 8,01 |
| Iз | 57,95 | 3,43 | 15,80 | 9,10 | 57,93 | 3,45 | 15,78 | 9,08 |
| Ii | 56,75 | 2,72 | 18,91 | 10,82 | 56,74 | 2,71 | 18,93 | 10,84 |
| Iк | 58,44 | 3,17 | 20,05 | 9,18 | 58,46 | 3,15 | 20,03 | 9,20 |

карбонільної сполуки. Суміш кип'ять 2 год до повного розчинення осаду. Розчин охолоджують. Осад, який випав, відфільтровують, промивають спочатку етановою кислотою, а потім водою. Після цього осад висушують.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами вивчена протимікробна та протигрибкова активність сполук (I а-к). Дослідження протимікробної і протигрибкової активності проводили на окремих тест-мікробах (представниках грамположитивних і грамнегативних бактерій). Антимікробну активність оцінювали за мінімальною бактеріостатичною (Мбск) або мінімальною мікостатичною (Ммск) концентрацією хімічної сполуки (мкг/мл). При цьому встановлено, що зазначені сполуки проявляли активність, яка не перевищувала еталони порівняння.

Протизапальну активність синтезованих речовин вивчали на білих пацюках-самцях масою 120-150 г. Запалення викликали шляхом введення внутрішньом'язово в одну з кінцівок 0,1 мл 2,5 % розчину формаліну за методом Ю.М. Стрельникова [1, 6]. Синтезовані речовини мали помірну протизапальну активність, що не перевищувала активність індометацину та вольтарену.

ВИСНОВОК. Здійснено синтез нових 2-(піридин-2-іл)-5-ілідентіазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5Н)-онів. Будову отриманих сполук підтверджено комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектроскопії), а їх індивідуальність – за допомогою тонкошарової хроматографії. Вивчено протимікробну, протигрибкову та протизапальну активність синтезованих сполук.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бригер М.О., Ведьлита Е.А., Володавец В.В. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам / Под ред. М.О. Бригера. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – С. 462.
2. Кныш Е.Г., Панасенко А.И., Самура Б.А., Рогульченко Г.К. О циклизации 5-ацилалкилтио-1,2,4-триазолов // Междунар. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лек. – чел." – Х., 1996. – Т. 1. – С. 142-149.
3. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-триазолу: Дис. ... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.
4. Парченко В.В., Маковик Ю.В., Кныш Е.Г. и др. Изучение противомикробной и противогрибковой активности некоторых производных 5-гетерил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов, 2-бензилден-1,2,4-триазоло-(3,4-в-тиазол-3-(2H)-онов и бензил-иденгидразидов 5-гетерил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-меркаптоуксусных кислот // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2004. – 2, вип. 7. – С. 72-76.
5. Парченко В.В., Маковик Ю.В., Панасенко О.І. та ін. 5-R-2,4-дигідро-1,2,4-триазол-3-тіооцтові кислоти та їх солі як біологічно активні сполуки // Запорж. мед. журн. – 2004. – 2, № 1. – С. 37-39.
6. Стрельников Ю.М. Сравнительная характеристика противовоспалительного действия некоторых пиримидиновых производных // Фармакология и токсикология. – 1960. – 23, № 7. – С. 526-531.
7. Studies on synthesis and biological activities of novel triazole compounds containing thiophene groups /Xu Liang-Zhong, Zhang Shu-Sheng, Hu Zhi-Yiang, Jiao Kui // Chem. Res. Chin. Univ. – 2003. – 19, № 3. – P. 310-313.

ПОИСК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(ПИРИДИН-2-ИЛ)-5-ИЛИДЕНТИАЗОЛО-(3,2-В)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-6(5Н)-ОНОВ

С.Н. Кулиш, А.И. Панасенко, Е.Г. Кныш, А.Н. Лесничая
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Осуществлен синтез новых 2-(пиридин-2-ил)-5-илидентиазоло-(3,2-в)-1,2,4-триазол-6(5H)-онов. Строение полученных соединений подтверждено комплексным использованием современных физико-химических методов анализа (элементного анализа, УФ-, ИК-спектроскопии), а их индивидуальность – с помощью тонкослойной хроматографии. Изучено противомикробную, противогрибковую и противовоспалительную активность синтезированных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,2,4-триазолы, бициклические системы, биологическая активность.

SEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN SERIES OF DERIVATIVES OF 2-(PYRIDIN-2-YL)-5-YLIDENETHIAZOLO-(3,2-B)-1,2,4-TRIAZOL-6(5H)-ONS

S.M. Kulish, O.I. Panasenko, Ye.H. Knysh, A.M. Lisnycha
ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The synthesis of new 2-(pyridin-2-yl)-5-ylidenethiazolo-(3,2-b)-1,2,4-triazol-6(5H)-ons has been carried out. The structure of synthesized substances has been confirmed by modern physical-chemical methods (UV-, IR-spectroscopy, element analysis), their individuality by means of thin-layer chromatography. The antimicrobe, antifungus and antiinflammatory activities of synthesized compounds have been investigated.

KEY WORDS: 1,2,4-triazols, bicyclic systems, biological activity.

Адреса для листування: С.М. Куліш, вул. Пархоменка, 24, кв. 59, Запоріжжя, 69098, Україна.

ПОРУШЕННЯ МАРКЕРІВ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ДЕСТРУКЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ З ПОЄДНАНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ГАСТРОДУОДЕНОПАНКРЕАТИЧНОЇ ЗОНИ І ПЕЧІНКИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

Т.В. Лихацька, С.М. Андрейчин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У роботі наведено дані про зміни маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини у хворих з поєднаною патологією гастроудоденопанкреатичної зони і печінки та їх корекцію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний гастроудоденіт, хронічний панкреатит, хронічний гепатит, лужна фосфатаза, кальцій, фосфор, кальцемін адванс, кальцитонін.

ВСТУП. В основі кісткового ремоделювання лежить взаємодія остеобластів і остеокластів та мінеральних речовин. Мінеральний компонент визначається як у компактній, так і в трабекулярній кістковій тканині (КТ). Він забезпечує цілісність КТ. Ремоделювання КТ регулюється системними та локальними чинниками, які включають гормони (паратгормон, кальцитонін, естрогени, андрогени, кортизол, гормон росту, вітамін D та його активні метаболіти). До біохімічних маркерів ремоделювання КТ належать маркери формування КТ – лужна фосфатаза (загальна й кісткова), остеокальцин і пропептиди проколагену I типу. До маркерів резорбції КТ відносять фермент тартратрезистентну кислоту фосфатазу та продукти деградації КТ: кальцій, гідроксипролін, піридинові поперечні зв'язки та телопептиди [8].

Методи оцінки функціонального стану КТ ґрунтуються на характеристиці кальцієво-фосфорного обміну, визначенні біохімічних маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини. Активність маркерів відображає швидкість кісткового метаболізму, визначає швидкість втрат кісткової маси [4]. Кальцій і фосфор беруть участь у регуляції низки фізіологічних процесів, у т. ч. і біосинтезі білка [6, 9, 10]. Підвищення рівня кальцію в крові активує виділення кальцитоніну – гормону, що знижує активність остеокластів і, відповідно, процеси резорбції [3]. Регулятором кальцієвого гомеостазу є вітамін D₃, який бере безпосередню участь у ремоделюванні кістки [2, 7].

Деструкція сполучної тканини не завжди чітко виражена, краще може бути зрозуміла з позицій органоспецифічних імунних реакцій. Відомо, що початковий сигнал каскаду реакцій

В-активації виходить при взаємодії антигену з рецептором Ig на поверхні В-клітин. Активаторами цього процесу можуть бути різні види колагену хряща й інших компонентів сполучної тканини. Про існування колагенчутливих В-клітин свідчить здатність лімфоїдних клітин продукувати антитіла до сполучнотканинних структур і колагену II типу [1].

У літературі не висвітлено питання щодо стану мінералізації кісток при поєднаній патології гастроудоденопанкреатичної зони і печінки та його лікування. Тому метою нашої роботи було вивчити зміни маркерів кісткового метаболізму, деструкції сполучної тканини у хворих з поєднаною патологією гастроудоденопанкреатичної зони і печінки та їх корекцію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням перебувало 62 хворих з поєднаною патологією гастроудоденопанкреатичної зони і печінки (хронічний гастроудоденіт (ХГД), хронічний панкреатит (ХП), хронічний гепатит (ХГ)) віком від 20 до 73 років без тяжкої супровідної патології, що могла б спричинити зміни в КТ. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Діагноз верифікували на основі загальноприйнятих клініко-лабораторних обстежень. Метаболізм сполучної тканини визначали за активністю оксипроліну (В.В. Меншиков, 1987) та румалончутливих антитіл (РмАт) (Е.В. Бененсон і співавт., 1992). Концентрацію кальцію, фосфору і активність загальної лужної фосфатази в сироватці крові визначали за допомогою наборів фірми "Lachema" (Чехія).

Відповідно до використаної програми лікування і ступеня остеодфіциту, хворі були поділені на 3 репрезентативні групи. Усі пацієнти

© Т.В. Лихацька, С.М. Андрейчин, 2007.

на тлі дієти 1, 5П (за Певзнером) за показаннями отримували загальноприйняте лікування (згідно з протоколами МОЗ України): антигелікобактерну терапію, ферменти, гепатопротектори. 13 хворих 1-ї групи (група порівняння) одержували загальноприйняту терапію. Хворим 2-ї групи (23 пацієнти, серед яких 12 обстежених з ХГД у поєднанні з ХП на тлі хронічного вірусного гепатиту (ХВГ) та 11 – на тлі неспецифічного реактивного гепатиту (НРГ)) з остеопенічним синдромом додатково до загальноприйнятої терапії включали кальцемін адванс у добовій дозі 2 таблетки впродовж 3 місяців з наступним призначенням кальцеміну по 1 таблетці 2 рази на день протягом ще 3 місяців. 3-тя група (12 хворих з остеопорозом) отримувала на тлі загальноприйнятої терапії кальцитонін лосося (мікальцик) по 50 МО через день внутрішньом'язово впродовж 2 місяців, наступний 1 місяць – по 200 МО на добу інтраназально. Паралельно пацієнти одержували кальцемін адванс і кальцемін за вищевказаною схемою.

Ефективність терапії оцінювали за динамікою клініко-лабораторних та інструментальних даних через 6 місяців після лікування. Побічної дії від застосування остеопротективних препаратів не спостерігалось.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проаналізовано вплив лікування на динаміку вмісту румалончутливих антитіл, оксипроліну, лужної фосфатази, кальцію, фосфору у хворих з поєднаною патологією гастродуоденопанкреатичної зони і печінки за умов застосування різних методів лікування (табл. 1).

Аналіз наведених у таблиці даних вказує на те, що застосування загальноприйнятої терапії суттєво не впливало на рівень загального

кальцію, фосфору, активність лужної фосфатази сироватки крові. Рівні маркерів деструкції сполучної тканини мали тенденцію до зниження. Так, рівень оксипроліну зменшився на 8,7 %, РмАт – на 8,9 % ($p > 0,05$). Застосування модифікованої терапії з кальцеміном у пацієнтів з остеопенією сприяло зниженню показників деструкції сполучної тканини у хворих на ХГД і ХП на тлі ХГ різної етіології ($p < 0,01$). На це вказувало зменшення рівня оксипроліну в 1,5 раза, РмАт – у 1,2 раза в обстежених з гепатитом вірусної етіології та в 1,4 і 1,3 раза за наявності НРГ ($p < 0,01$). Разом із тим, остеотропна терапія суттєво не вплинула на рівень загального кальцію, фосфору та активність лужної фосфатази ($p > 0,05$). У хворих на ХГД і ХП на тлі ХГ з остеопорозом за умов застосування модифікованої терапії з включенням кальцеміну адванс, кальцеміну та антирезорбента мікальцику відмічалось зниження рівня оксипроліну на 29,8 % та РмАт – на 13,1 % ($p < 0,001$). Рівень загального кальцію та фосфору в сироватці крові залишався без змін ($p > 0,05$). Підтримка рівнів кальцію, фосфору в крові, можливо, здійснювалась за рахунок руйнування кісткової тканини та посилення остеопорозу [5].

Таким чином, загальноприйнята терапія не усуває процесів порушення метаболізму КТ та деструкції сполучної тканини, які в даному випадку мають характер резорбції; призначення ж остеопротективної терапії сприяє позитивній динаміці показників, що вивчалися.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих з поєднаною патологією гастродуоденопанкреатичної зони і печінки під впливом адекватних доз остеопротективних препаратів відмічалось зменшення проявів деструкції сполучної тканини (зниження

Таблиця 1 – **Динаміка маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини у хворих на хронічний гастродуоденіт і хронічний панкреатит на тлі хронічних гепатитів під впливом різних лікувальних програм ($M \pm m$)**

| Група хворих | Метод лікування | Показник | | | | | |
|---|---|----------|----------------------|----------------------|-------------------|------------------|---------------------------|
| | | | Оксипролін, мкмоль/л | РмАт, од.опт. щільн. | Кальцій, мкмоль/л | Фосфор, мкмоль/л | Лужна фосфатаза, моль/с·л |
| Хворі на ХГД і ХП на тлі ХГ (n=13) | Загальноприйнята терапія | 1 | 64,67±2,14 | 49,69±1,57 | 2,36±0,05 | 1,12±0,05 | 1,46±0,08 |
| | | 2 | 59,05±2,51 | 45,29±1,63 | 2,25±0,05 | 1,10±0,04 | 1,62±0,09 |
| Хворі на ХГД і ХП на тлі ХВГ з остеопенією (n=11) | Модифікована терапія з кальцеміном | 1 | 68,30±1,30 | 51,10±1,20 | 2,39±0,08 | 1,18±0,08 | 1,50±0,13 |
| | | 2 | 46,90±1,30* | 41,30±1,40* | 2,44±0,06 | 1,31±0,07 | 1,41±0,11 |
| Хворі на ХГД і ХП на тлі НРГ з остеопенією (n=12) | Модифікована терапія з кальцеміном | 1 | 66,00±1,00 | 49,97±1,16 | 2,40±0,05 | 1,12±0,07 | 1,70±0,08 |
| | | 2 | 47,42±1,15* | 37,51±1,50* | 2,44±0,04 | 1,16±0,06 | 1,65±0,08 |
| Хворі на ХГД і ХП на тлі ХГ з остеопорозом (n=12) | Модифікована терапія з кальцеміном та мікальциком | 1 | 75,14±0,92 | 58,31±1,02 | 2,40±0,04 | 1,01±0,02 | 2,00±0,08 |
| | | 2 | 52,79±0,86 | 50,72±0,99 | 2,47±0,05 | 1,05±0,02 | 1,77±0,07* |

Примітка. 1 – значення показників до лікування; 2 – значення показників після лікування; 3 – достовірність різниці показників до і після лікування.

вмісту оксипроліну крові та румалончутливих антитіл).

2. Маркер кісткового метаболізму – лужна фосфатаза – зменшувався у хворих з остеопорозом лише після курсу антирезорбтивної терапії.

3. Визначення вмісту кальцію, фосфору у пацієнтів з поєднаною патологією гастроуденопанкреатичної зони і печінки не є інформативним для вивчення інтенсивності кісткоутворення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бененсон Е.В., Масаидов А.Т., Цай Е.Г. Антигенспецифическая В-клеточная активация при ревматоидном артрите и артрозе // Ревматология. – 1992. – № 1. – С. 19-21.
2. Бурчинська М.К. Метаболізм кістки та вік // Журн. практичного лікаря. – 2005. – № 6. – С. 53-55.
3. Дедух Н.В., Данищук З.Н., Никольченко О.А. Морфология костной ткани и суставного хряща при алиментарном остеопорозе // Укр. морфолог. альм. – 2005. – № 1. – С. 110.
4. Клубова А.Ф., Гавриленко Т.И., Дейкун А.И. Апоптоз и остеопороз // Укр. ревматол. журн. – 2000. – № 1. – С. 19-22.
5. Ковальчук Л.Я., Рузібаєв Р.Ю., Венгер І.К. та ін. Остеопороз: Сучасний стан проблеми при захворюваннях шлунково-кишкового тракту і печінки // Вісник наукових досліджень. – 2005. – № 1. – С. 79-81.
6. Насонов Е.Л. Остеопороз: стандарты диаг-

ности и лечения // Consilium Medicum. – 2001. – № 9. – С. 3.

7. Нейко Є.М., Головач І.Ю., Митник З.М. Сучасні методи оцінки стану кісткової тканини та діагностики її порушень при остеопорозі // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2001. – № 4. – С. 107-113.

8. Поворознюк В.В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини // Лаб. діагностика. – 2002. – № 1. – С. 53-61.

9. Симоненко В.Б., Волков Б.Е., Берестовая Н.А. Остеопороз: современные подходы и новые возможности в профилактике и лечении // Клин. медицина. – 2006. – № 9. – С. 4-7.

10. Сміян С.І., Барладин О.Р., Ясніцька М.Я. та ін. Кальцемін в лікуванні остеопенічного синдрому у хворих бронхіальною астмою // Пробл. остеології. – 2003. – 6, № 1-2. – С. 120-122.

НАРУШЕНИЯ МАРКЕРОВ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА И ДЕСТРУКЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ГАСТРОДУОДЕНОПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЗОНЫ И ПЕЧЕНИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Т.В. Лихацкая, С.М. Андрейчин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В работе приведены данные об изменении маркеров костного метаболизма и деструкции соединительной ткани у больных с сочетанной патологией гастроуденопанкреатической зоны и печени и их коррекции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический гастроуденит, хронический панкреатит, хронический гепатит, щелочная фосфатаза, кальций, фосфор, кальцемин адванс, кальцитонин.

DISORDERS OF THE BONE METABOLISM MARKERS AND DESTRUCTION OF THE CONNECTIVE TISSUE IN PATIENTS WITH COMBINED PATHOLOGY OF GASTRODUODENOPANCREATIC AREA AND LIVER AND THEIR CORRECTION

T.V. Lykhatska, S.M. Andreychyn

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article contains data about changes of the bone metabolism markers and destruction of the connective tissue in patients with combined pathology of gastroduodenopancreatic area and liver and their correction.

KEY WORDS: chronic gastroduodenitis, chronic pancreatitis, chronic hepatitis, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, calcemin advans, calcitonin.

Адреса для листування: Т.В. Лихацька, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.