

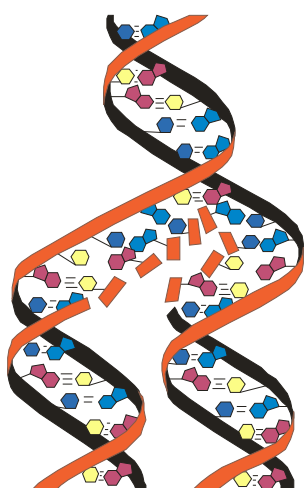
Академія медичних наук України

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

3 TOM 11
2009

- ❖ *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*

Ì ÅÄÈ×Í À Õ²Ì ²В

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.).

Рекомендовано до видання вченою радою Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (протокол № 5 від 29 вересня 2009 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) 43-49-56
(0352) 52-80-09
Fax: (0352) 52-41-83
<http://www.tdmu.edu.te.ua>

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

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

Зміст ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

<i>О.І. Басараба, Я.П. Бобак, Г.Ю. Шуваєва, С.М. Марченко, О.М. Маєвська, Н. Ігуменцева, Н.А. Володько, В.П. Бухман, Л.Б. Дробот</i> (Київ, Львів, Кардіфф) ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ АДАПТЕРНИХ БІЛКІВ RUK/CIN85 ТА CD2AP/CMS У ПУХЛИНАХ МАТКИ ЛЮДИНИ	9
<i>М.М. Корда, Т.Я. Ярошенко, С.М. Самборська, І.В. Корда</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ЛЕПТИНУ НА УТВОРЕННЯ NO, O ₂ ⁻ І ONOO ⁻ В ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ	13
<i>В.С. Журомський, Н. Шамро, І.Б. Грюк, О.Я. Склярів</i> (Львів, Рівне) ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ ВІТАМІНІВ Е ТА С У РЕГУЛЯЦІЇ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ШЛУНКА І ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА УМОВ СТРЕСУ	18
<i>В.В. Половинко, Г.І. Борщевський, І.В. Комаров</i> (Київ) ЕКСПРЕС-ІДЕНТИФІКАЦІЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНУ ТА ВИЯВЛЕННЯ В НЬОМУ ДОМІШКИ ГІПЕРСУЛЬФОВАНОГО ХОНДРОЇТИН СУЛЬФАТУ МЕТОДОМ ЯМР	21
<i>С.В. Павлов, І.Ф. Беленічев</i> (Запоріжжя) ВПЛИВ ЦЕРЕБРОКУРИНУ, ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА ЕМОКСИПІНУ НА ГЛУТАТІОНОВИЙ ЛАНЦЮГ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ	26
<i>Я.Б. Раєцька, Є.О. Торгалю, Л.І. Остапченко, Є.А. Строчька, О.О. Моргаєнко, С.Я. Мандрик</i> (Київ) АКТИВНІСТЬ ТИРОЗИНОВОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ ЗА УМОВ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ ПРИ ПУХЛИННОМУ ПРОЦЕСІ	34
<i>І.Л. Вовчук, Ю.В. Фурман</i> (Одеса, Курськ) ОНТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ В ЖІНОК З НОВОУТВОРЕННЯМИ ЕНДОМЕТРІЯ	37
<i>А.М. Манько, К.С. Непорада</i> (Полтава) РОЗВИТОК ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ІНГІБІТОРА ПРОТОННОЇ ПОМПИ	40
<i>Н.І. Волощук</i> (Вінниця) СТАТЕВІ ГОРМОНИ ЯК МОДУЛЯТОРИ СТАНУ ЗАХИСНИХ СИСТЕМ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ	43
<i>О.Я. Склярів, О.Б. Панчишин, І.О. Нектегаєв</i> (Львів) АКТИВНІСТЬ ПАНКРЕАТИЧНОЇ α-АМІЛАЗИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ L-АРГІНІНУ, АМІНОГУАНІДИНУ ТА БЛОКУВАННЯ ЦОГ-2 У ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ	47
<i>О.Ю. Кушнір</i> (Чернівці) ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ МЕЛАТОНІНУ НА РІВЕНЬ ПІРОВИНОГРАДНОЇ КИСЛОТИ У ПЛАЗМІ КРОВІ АЛОКСАНДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ	50
<i>О.З. Фоменко, Г.О. Ушакова</i> (Дніпропетровськ) РІВЕНЬ ГІАЛУРОНАТУ ТА ЗАГАЛЬНОЇ ГІАЛУРОНАТЗВ'ЯЗУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ БІЛКІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С	54

Contents ORIGINAL INVESTIGATIONS

<i>O.I. Basaraba, Ya.P. Bobak, H.Yu. Shuvayeva, S.M. Marchenko, O.M. Mayevska, N. Ihumentseva, N.A. Volodko, V.P. Bukhman, L.B. Drobot</i> (Kyiv, Lviv, Cardiff) STUDY OF ADAPTER PROTEINS RUK/CIN85 AND CD2AP/CMS EXPRESSION IN HUMAN UTERUS TUMORS	9
<i>M.M. Korda, T.Ya. Yaroshenko, S.M. Samborska, I.V. Korda</i> (Ternopil) THE EFFECT OF LEPTIN ON NO, O ₂ ⁻ AND ONOO ⁻ PRODUCTION IN ENDOTHELIAL CELLS	13
<i>V.S. Zhuromsky, N. Shamro, I.B. Hryuk, O.Ya. Sklyarov</i> (Lviv, Rivne) PECULIARITIES OF ACTION OF VITAMINS E AND C IN REGULATION OF NO-SYNTHASE SYSTEM IN THE MUCOUS MEMBRANES OF STOMACH AND LARGE INTESTINE UNDER CONDITIONS OF STRESS	18
<i>V.V. Polovynko, H.I. Borshchevsky, I.V. Komarov</i> (Kyiv) EXPRESS NMR IDENTIFICATION OF LOW-MOLECULAR HEPARIN AND ITS DETERMINATION OF IMPURITY, HYPERSULFATED CHONDROITIN SULFATE	21
<i>S.V. Pavlov, I.F. Belenichev</i> (Zaporizhzhya) INFLUENCE CEREBROCURIN, TIOTRIAZOLIN AND EMOXIPIN ON GLUTATIONOVOE LINK TIOL-DISULFIDNOJ OF SYSTEM OF THE BRAIN IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL INFRINGEMENT OF BRAIN BLOOD CIRCULATION	26
<i>Ya.B. Rayetska, Ye.O. Torhalo, L.I. Ostapchenko, Ye.A. Strotska, O.O. Morhayenko, S.Ya. Mandryk</i> (Kyiv) TYROSINE PROTEIN KINASE ACTIVITY UNDER CONDITIONS OF RADIATION INFLUENCE AT TUMOR PROCESS	34
<i>I.L. Vovchuk, Yu.V. Furman</i> (Odessa, Kursk) ONTOGENETIC FEATURES OF INTERACTION OF COMPONENTS OF PROTEOLYTIC SYSTEM AT WOMEN WITH TUMORS OF ENDOMETRIUM	37
<i>A.M. Manko, K.S. Naporada</i> (Poltava) DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN PERIODONTIUM TISSUES UNDER CONDITIONS OF LONG ADMINISTRATION OF PROTON PUMP INHIBITOR	40
<i>N.I. Voloschuk</i> (Vinnytsia) SEX HORMONES AS MODULATORS OF CONDITION OF RAT GASTRIC MUCOSAL PROTECTIVE SYSTEMS	43
<i>O.Ya. Sklyarov, O.B. Panchyshyn, I.O. Nektehayev</i> (Lviv) ACTIVITY OF PANCREATIC ALPHA-AMYLASE IN BLOOD PLASMA BLOOD UNDER THE EFFECT OF L-ARGININE AND AMINE GUANIDINE AND BLOCKING COX-2 IN RAT PANCREAS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS	47
<i>O.Yu. Kushnir</i> (Chernivtsi) THE EFFECT OF MELATONIN ON THE LEVEL OF PYRUVIC ACID IN ALLOXAN DIABETIC RATS WITH FOTOPERIOD CHANGES	50
<i>O.Z. Fomenko, H.O. Ushakova</i> (Dnipropetrovsk) THE LEVEL OF HYALURONATE AND TOTAL HYALURONATE-BINDING ACTIVITY OF PROTEINS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CHRONIC HEPATITIS C	54

<i>І.В. Машейко, О.З. Бразалук, А.О. Мірошниченко, О.В. Курята, А.О. Кулініч</i> (Дніпропетровськ) РІВЕНЬ α_2 -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕІНУ ТА ФРАГМЕНТІВ ФІБРОНЕКТИНУ В СЕЧІ ТА КРОВІ ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ	57	<i>I.V. Masheyko, O.Z. Brazaluk, A.O. Miroshnychenko, O.V. Kuryata, A.O. Kulnich</i> (Dnipropetrovsk) LEVEL OF α_2 -ACID GLYCOPROTEIN AND FRAGMENTS OF FIBRONECTIN IN URINE AND BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART INSUFFICIENCY
<i>В.В. Івчук, Т.М. Полішко, О.О. Сорочан, Н.І. Штеменко</i> (Дніпропетровськ) СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ РОЗВИТКУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ТА ГАЛЬМУВАННІ ЇЇ РОСТУ СПОЛУКАМИ РЕНІУМ	60	<i>V.V. Ivchuk, T.M. Polishko, O.O. Sorochan, N.I. Shtemenko</i> (Dnipropetrovsk) STATE OF RAT LIVER DURING DEVELOPMENT OF GUERIN CARCINOMA AND INHIBITION OF ITS GROWTH BY RHENIUM COMPOUNDS
<i>Л.М. Тарасенко, О.Є. Омельченко</i> (Полтава) ГЛЮКОКОРТИКОЇДНА ФУНКЦІЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ І СТАН СЛИЗОВОГО БАР'ЄРУ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ РЕАГУВАННЯ	65	<i>L.M. Tarasenko, O.Ye. Omelchenko</i> (Poltava) GLUCOCORTICOID FUNCTION OF ADRENAL GLANDS AND CONDITION OF STOMACH MUCOUS BARRIER DURING ACUTE STRESS IN RATS WITH DIFFERENT REACTING TYPE
<i>О.В. Устянська, О.В. Шварцова, С.А. Петров</i> (Одеса) ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ТІОЛВМІСНИХ СПОЛУК З КАТЕПСИНОМ L В ОРГАНАХ БІЛИХ ЩУРІВ	68	<i>O.V. Ustyanska, O.V. Shvartsova, S.A. Petrov</i> (Odessa) STUDY OF CATHEPSIN-L-THIOL-CONTAINED COMPOUNDS INTERACTION- IN WHITE RATS' ORGANS
<i>О.М. Бакурова, Ю.Д. Турсунова, Б.Г. Борзенко</i> (Донецьк) АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ ТА ПУРИНІВ В ЕРИТРОЦИТАХ ПАЦІЄНТІВ З ВИРАЗКОВОЮ ХВОРОБОЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ	71	<i>E.M. Bakurova, Yu.D. Tursunova, B.H. Borzenko</i> (Donetsk) AGE-RELATED ACTIVITY OF SOME ENZYMES OF CARBOHYDRATES AND PURINES METABOLISM IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH ULCEROUS DISEASE
<i>Ю.А. Гордієнко, А.О. Кулініч, Т.П. Ніколаєнко-Камишова, А.І. Шевцова</i> (Дніпропетровськ) АКТИВНІСТЬ ЖЕЛАТИНАЗ І ДЕГРАДАЦІЯ ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕННЯХ ТА ПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КРОВІ	74	<i>Yu.A. Hordiyenko, A.O. Kulnich, T.P. Nikolayenko-Kamyshova, A.I. Shevtsova</i> (Dnipropetrovsk) ACTIVITY OF GELATINASES AND DEGRADATION OF FIBRONECTIN DURING METABOLIC VIOLATIONS PROLIFERATIVE BLOOD DISEASES
<i>С.П. Пасевич, І.І. Заморський</i> (Чернівці) ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У НИРКАХ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ГІПОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ	77	<i>S.P. Pasevych, I.I. Zamorsky</i> (Chernivtsi) PROOXIDANT-ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS IN THE KIDNEYS OF RATS AT ACUTE RENAL INSUFFICIENCY UNDER CONDITIONS OF CHRONIC HYPOBARIC HYPOXIA INFLUENCE
<i>О.Є. Омельченко</i> (Полтава) РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ЗНИЖЕННІ ЗАХИСНОЇ ФУНКЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ	80	<i>O.Ye. Omelchenko</i> (Poltava) ROLE OF NITRIC OXIDE IN DECREASING OF PROTECTIVE FUNCTION OF GASTRIC MUCOSA DURING ACUTE STRESS AT RATS WITH DIFFERENT REACTING TYPE
<i>А.А. Сухомлин, К.С. Непорада</i> (Полтава) ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ОМЕПРАЗОЛУ НА ТКАНИНИ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ	83	<i>A.A. Sukhomlyn, K.S. Neporada</i> (Poltava) THE INFLUENCE OF LONG ADMINISTRATION OF OMEPRAZOLE ON THE TISSUES OF RAT SALIVARY GLANDS
<i>Х.М. Насадюк, О.Я. Склярів</i> (Львів) ВПЛИВ ПЕПТИДУ АРГІНІЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛІЗИЛ-ВАЛІЛ-ТИРОЗИЛ-АРГІНІНУ НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА	86	<i>Kh.M. Nasadyuk, O.Ya. Sklyarov</i> (Lviv) EFFECT OF PEPTIDE OF ARGINYL-ALPHA-ASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTHASE SYSTEM IN EXPERIMENTAL GASTRIC ULCER
<i>Л.І. Балінт, Л.М. Росток, І.М. Туряницья</i> (Ужгород) ВПЛИВ ЙОДВМІСНОЇ ГАРБУЗОВОЇ ОЛІЇ НА ПЕРЕБІГ ІХС У ЖИТЕЛІВ ЗАКАРПАТТЯ НА ФОНІ ЛІКУВАННЯ СИМВАСТАТИНОМ	89	<i>L.I. Balint, L.M. Rostoka, I.M. Turianytsia</i> (Uzhhorod) IMPACT OF IODINE-CONTAINING PUMPKIN OIL ON THE COURSE OF CARDIAC ISCHEMIA IN THE RESIDENTS OF ZACARPATTYA REGION AGAINST A BACKGROUND OF SIMVASTATIN TREATMENT
<i>Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, С.В. Заїка, Г.Б. Кравченко</i> (Харків) ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ВИНОГРАДУ НА СТАН І ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ГОСТРОГО ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ	93	<i>L.M. Voronina, A.L. Zahayko, S.V. Zaika, H.B. Kravchenko</i> (Kharkiv) INFLUENCE OF POLYPHENOL COMPLEXES FROM GRAPES ON CONDITION AND FUNCTION OF LIVER UNDER ACUTE PARACETAMOL HEPATITIS CONDITIONS
<i>Н.В. Мотрук, І.Л. Вовчук, В.В. Мосягін</i> (Одеса, Курськ) СТАН СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ЗА ОНКОПАТОЛОГІЇ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ЖІНОК РІЗНОГО ВІКУ	96	<i>N.V. Motruk, I.L. Vovchuk, V.V. Mosyahin</i> (Odessa, Kursk) CONDITION OF PROTEOLYTIC SYSTEM IN BREAST TUMOR AT WOMEN OF DIFFERENT AGE

<i>Л.О. Прімова (Суми) ПОБІЧНИЙ ПРОДУКТ ВИРОБНИЦТВА КАРОТИНУ – ВІТАДЕПС ЯК ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН</i>	99	<i>L.O. Primova (Sumy) BY-PRODUCT OF CAROTENE PRODUCTION – VITADEPS AS A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES</i>
<i>І.Р. Мисула, В.В. Лотоцький (Тернопіль) СТАН БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ТВАРИН ПРИ СПОЖИВАННІ ВОДНО-СОЛЬОВОГО РОЗЧИНУ З РІЗНИМИ КОНЦЕНТРАЦІЯМИ ІОНІВ НАТРІЮ І КАЛІЮ</i>	102	<i>I.R. Mysula, V.V. Lototsky (Ternopil) STATE OF PROTEIN EXCHANGE IN ANIMALS AT THE USE OF WATER-SALT SOLUTION WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS OF SODIUM AND POTASSIUM IONS</i>
<i>С.І. Яворська, Н.Є. Лісничук (Тернопіль) ДИНАМІКА ЗМІН ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ТОКСИЧНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ</i>	106	<i>S.I. Yavorska, N. Ye. Lisnychuk (Ternopil) DYNAMICS OF IMMUNE REACTIVITY CHANGES OF WHITE RATS AT THE EXPERIMENTAL TOXIC DAMAGE OF LIVER</i>
<i>І.Г. Кушнір, Т.М. Бойчук, Г.І. Кокошук, О.В. Кокошук, Л.Г. Доцюк (Київ, Чернівці) УЧАСТЬ АРГІНІН-ВАЗОПРЕСИНУ В МЕХАНІЗМАХ РЕГУЛЯЦІЇ ЦИРКАДІАННОГО РИТМУ ЕКСКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК</i>	109	<i>I.H. Kushnir, T.M. Boychuk, H.I. Kokoshchuk, O.V. Kokoshchuk, L.H. Dotsyuk (Kyiv, Chernivtsi) ROLE OF ARGININ-VASOPRESSINE IN MECHANISMS OF REGULATION CIRCADIAN RHYTHMS OF EXCRETORY FUNCTION OF KIDNEYS</i>
<i>Е.П. Пасічна, Г.В. Донченко, Р.П. Морозова (Київ) ЛІПІДИ КЛІТИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ</i>	113	<i>E.P. Pasichna, H.V. Donchenko, R.P. Morozova (Kyiv) LIPIDS OF BRAIN CELLS AT EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS</i>
<i>М.І. Коваль, Х.Ю. Недошитко, І.Б. Привроцька, О.С. Покотило (Тернопіль) СТАБІЛІЗАЦІЯ Ω-3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ БАД "АЛЬФА+ОМЕГА" ПРИРОДНИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ</i>	117	<i>M.I. Koval, Kh. Yu. Nedoshytko, I.B. Pryvrotska, O.S. Pokotylo (Ternopil) STABILIZATION OF THE Ω-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE DIETARY SUPPLEMENT "ALPHA+OMEGA" BY THE NATURAL ANTIOXIDANT</i>
<i>О.О. Кравченко, Я.С. Максимович, Я.С. Мандрик, О.В. Дробінська, Л.І. Остапченко (Київ) АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗИ ТА ВМІСТ АПОПТИЧНИХ БІЛКІВ В ЕПІТЕЛІОЦИТАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ КОЛІТАСОЦІЙОВАНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ</i>	120	<i>O.O. Kravchenko, Ya.S. Maksymovych, Ya.S. Mandryk, O.V. Drobinska, L.I. Ostapchenko (Kyiv) NO-SYNTASE ACTIVITY AND APOPTOTIC PROTEINS CONTENT IN MUCOUS EPITHELIOCYTES OF RAT COLON IN DYNAMICS OF COLITIS-ASSOCIATED CARCINOGENESIS DEVELOPMENT</i>
<i>Л.П. Драган, Н.Г. Ракша, Т.Р. Андрийчук (Київ) ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ТА РИБОКСИНУ НА СТАН СИСТЕМИ ПОЛІ-АДФ-РИБОЗИЛЮВАННЯ ЛІМФОЦИТІВ СЕЛЕЗИНКИ ЩУРІВ</i>	124	<i>L.P. Drahan, N.H. Raksha, T.R. Adriychuk (Kyiv) INFLUENCE OF IONIZING RADIATION AND RIBOXINE ON THE STATE OF POLY-ADP-RIBOSYLATION SYSTEM IN SPLEEN LYMPHOID CELLS OF RATS</i>
<i>В.В. Россіхін, А.М. Понукалін, М.Г. Яковенко (Харків) МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА ТА ЇХ КЛІНІКО-ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ</i>	127	<i>V.V. Rossihin, A.M. Ponukalin, M.G. Yakovenko (Kharkiv) MOLECULAR MARKERS OF URINARY BLADDER CANCER AND THEIR CLINICAL-PROGNOSTICAL IMPORTANCE</i>
<i>В.Р. Мачоган, О.В. Авдеев (Тернопіль) БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ</i>	130	<i>V.R. Machogan, O.V. Avdeev (Ternopil) BIOCHEMICAL INDEXES ARE IN FABRICS OF PARADONTIUM AT EXPERIMENTAL PARODONTITIS</i>
<i>В.С. Недзвєцький, С.В. Кириченко (Дніпропетровськ) МЕЛАТОНІН СПРІЯЄ ЗАХИСТУ ЦНС ЩУРІВ ВІД ІНТОКСИКАЦІЇ ПРОМИСЛОВИМИ РОЗЧИННИКАМИ</i>	133	<i>V.S. Nedzvetsky, S.V. Kirichenko (Dnipropetrovsk) MELATONIN PROMOTES FOR DEFENCE OF RAT CNS FROM INOXICATION WITH INDUSTRIAL SOLVENTS</i>
<i>Я.І. Гонський, М.І. Куліцька, С.Р. Підручна, П.І. Липка (Тернопіль) ВПЛИВ ІЗОЛЮОВАНИХ ГЕПАТОЦИТІВ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З КОМБІНОВАНИМ УРАЖЕННЯМ ОРГАНІЗМУ ХЛОРИДАМИ КАДМІЮ, СВИНЦЮ І НІТРИТОМ НАТРІЮ</i>	136	<i>Ya.I. Honsky, M.I. Kulitska, S.R. Pidruchna, P.I. Lypka (Ternopil) INFLUENCE OF ISOLATED HEPATOCYTES ON SOME INDEXES OF LIPID PEROXIDATION AND STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM AND ENDOGENIC INTOXICATION IN RATS WITH COMBINED INJURY OF ORGANISM BY CADMIUM CHLORIDE, LEAD CHLORIDE AND SODIUM NITRITE</i>
<i>С.М. Кобильник, О.В. Кулібаба, А.О. Янчукова, С.А. Петров (Одеса) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ЦТК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ</i>	142	<i>S.M. Kobylnyk, O.V. Kulibaba, A.O. Yanchukova, S.A. Petrov (Odessa) CYCLIC TRICARBONIC ACID ENZYMES ACTIVITY UNDER EMBRIONAL MUSCLE TISSUE TRANSPLANTATION</i>

ОГЛЯДИ**REVIEWS**

Л.Б. Бондаренко, С.С. Таніна, Т.А. Карацуба, Г.Л. Гайдай
(Київ) ПРОТИПУХЛИННІ АНТИБІОТИКИ – БІОХІМІЧНІ
НАСЛІДКИ ЗАСТОСУВАННЯ

145

L.B. Bondarenko, S.S. Tanina, T.A. Karatsuba,
H.L. Hayday (Kyiv) ANTITUMOR ANTIBIOTICS –
BIOCHEMICAL CONSEQUENCES OF APPLICATION

С.Р. Підручна, І.С. Кулянда, О.І. Острівка, У.М. Захарчук,
С.О. Ястремська, М.І. Куліцька, О.М. Сопель,
Г.Г. Шершун (Тернопіль) ПАТОГЕНЕТИЧНЕ
ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ
КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ У КОРЕКЦІЇ ОПІКІВ НА
ТЛІ ПОЛІТРАВМИ

148

S.R. Pidruchna, I.S. Kulyanda, O.I. Ostrivka,
U.M. Zakharchuk, S.O. Yastremska, M.I. Kulitska,
O.M. Sopol, H.H. Shershun (Ternopil) PATHOGENETIC
SUBSTANTIATION OF XENODERMAL
TRANSPLANTS APPLICATION IN CORRECTION
OF BURNS AGAINST A BACKGROUND
OF POLYTRAUMA

ТЕЗИ КОНФЕРЕНЦІЇ

- О.П. Горобець, В.С. Гойдик, Б.А. Насібуллін (Одеса) ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ
ЗМІН НИРОК У ХВОРИХ НА СНІД 151
- І.Д. Попадюк, В.М. Пушкар'юв, М.Д. Тронько (Київ) ЗАЛЕЖНІСТЬ ВПЛИВУ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ
ТАКСОЛУ НА КЛІТИНИ АНАПЛАСТИЧНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ВІД ЙОГО КОНЦЕНТРАЦІЇ 151
- Є.С. Стужук, Н.Н. Фролова, Є.Г. Пихтєєва, Д.В. Большой (Одеса) МОНІТОРИНГ ВМІСТУ МЕТАЛІВ У КРОВІ ДІТЕЙ
З НЕФРОПАТІЄЮ 152
- Г.В. Ганусова, П.А. Каліман (Харків) АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПЕЧІНЦІ САМИЦЬ ЩУРІВ
ПРИ ВВЕДЕННІ ХЛОРИДУ РТУТІ 152
- О.В. Третьякова, Д.І. Леонова, О.М. Третьяков, Л.М. Шафран (Одеса) БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ТОКСИЧНОСТІ
ПРОДУКТІВ ГОРІННЯ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ 153
- Н.В. Заїчко, Т.М. Платонова, Т.М. Чернишенко (Вінниця, Київ) ВПЛИВ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА ЇХНІХ
ПОХІДНИХ НА ФАКТОРИ СИСТЕМИ ЗГОРТАННЯ КРОВІ 154
- К.О. Паливода, І.І. Гринюк, С.В. Прилуцька, С.М. Марченко, А.А. Самойленко, Л.Б. Дробот, О.П. Матишевська (Київ)
ЦИТОТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ ФОТОЗБУДЖЕНИХ ФУЛЕРЕНІВ C₆₀ НА ТРАНСФОРМОВАНІ Т-ЛІМФОЦИТИ 154
- О.Ю. Васильків (Івано-Франківськ) ВПЛИВ ІОНІВ CR³⁺ ТА CR⁶⁺ НА АКТИВНІСТЬ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ МОЗКУ,
ЕРИТРОЦИТІВ, ПЛАЗМИ ТА ПОКАЗНИКИ КРОВІ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО (CARASSIUS AURATUS L.) IN VIVO 155
- В.В. Черняшова (Тернопіль) ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ
ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПЕРИТОНІТІ 156
- А.А. Гудима, О.Я. Зятковська, Т.Я. Секела, В.М. Соколькова, О.І. Кріпка (Тернопіль) РОЛЬ МЕХАНІЧНОГО
ПОШКОДЖЕННЯ ШКІРИ У ПЕРЕБІГУ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ 157
- І.В. Чорна, І.Ю. Висоцький (Суми) ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА РІСТ, АПОПТОЗ ТА КІНЕТИКУ
РЕПАРАЦІЇ ПОШКОДЖЕНЬ ДНК У КЛІТИНАХ ЛІНІЇ K562 158
- Я.Г. Жебеленко, А.М. Вятоха, С.О. Зуйков (Донецьк) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ
ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ ШЛУНКА 158
- І.Б. Івануса, І.М. Кліщ (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ВВЕДЕННІ
ТВАРИНАМ СУМІШІ ЕТИНІЛЕСТРАДІОЛУ ТА ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛУ 159
- К.А. Посохова, А.С. Вольська (Тернопіль) ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ЇЇ УРАЖЕННІ
ПАРАЦЕТАМОЛОМ 160
- А.В. Шкаволяк (Львів) КІНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА HCO₃⁻ - АТФази ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРА ЗА ЗМІН
КОНЦЕНТРАЦІЙ ПОЗАКЛІТИННОГО ЛІТІУ 160
- О.В. Машевська (Вінниця) ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ГЛУТАТИОНОВОГО ТА МЕРКАПТУРАТНОГО ШЛЯХІВ
МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ НА ПЕРЕБІГ ЦИСПЛАТИНОВОГО, БРОМБЕНЗОЛОВОГО
ТА МІОГЛОБІНУРИЧНОГО УРАЖЕННЯ НИРОК У ЩУРІВ 161
- Н.В. Заїчко (Вінниця) ВПЛИВ НАВАНТАЖЕННЯ МЕТІОНІНОМ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗУ ЩУРІВ ТА ЙОГО
КОРЕКЦІЯ КОМПЛЕКСОМ ВІТАМІНІВ B₆, B₉, B₁₂ 162
- О.М. Мороз, К.П. Дудок, Н.М. Гринчишин, А.Л. Гуль (Львів) ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО КАЛЬЦІЮ ТА ГЕМОЛІЗАТУ
НА АТФази АКТИВНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА СИНДРОМУ ВІДМІНИ АЛКОГОЛЮ 162
- Л.П. Павлюст, І.Ю. Лерчук (Львів) ЗВ'ЯЗОК МІЖ ТРАНСПОРТУВАЛЬНИМИ ФУНКЦІЯМИ АНІОННИХ АТФази ТА
ОВАБАІН-РЕЗИСТЕНТНИМИ МЕХАНІЗМАМИ В ЕРИТРОЦИТАХ У ХВОРИХ НА СУДИННІ ДЕМЕНЦІЇ 163

<i>А.Л. Гуль (Львів) УЧАСТЬ ДВОХ ІЗОМЕРІВ ІОН-ТРАНСПОРТУВАЛЬНИХ МЕХАНІЗМІВ, ЯКІ ЗДІЙСНЮЮТЬ ПРОТИТРАНСПОРТ ІОНІВ НАТРІЮ ТА ЛІТІУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЛЮДИНИ</i>	164
<i>В.В. Половинко, Г.І. Борщевський, І.В. Комаров (Київ) ЕКСПРЕС-ІДЕНТИФІКАЦІЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНУ ТА ВИЯВЛЕННЯ В НЬОМУ ДОМІШКИ ГІПЕРСУЛЬФОВАНОГО ХОНДРОІТИН СУЛЬФАТУ МЕТОДОМ ЯМР</i>	164
<i>К.А. Посохова, О.З. Яремчук (Тернопіль) СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ ТА ПРИЗНАЧЕННІ L-АРГІНІНУ І РЕКСОДУ</i>	165
<i>І.Р. Бекус, І.М. Кліщ, М.В. Чорна, Н.А. Василюшин (Тернопіль) ВПЛИВ ЕНТЕРОСОРБЕНТУ “АЛЬГІГЕЛЬ” ТА КАРНІТИНУ ХЛОРИДУ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ТВАРИН З ГОСТРИМ АЛКОГОЛЬНИМ ОТРУЄННЯМ НА ТЛІ ІНТОКСИКАЦІЇ КАДМІЮ ХЛОРИДОМ ТА СВИНЦЮ АЦЕТАТОМ</i>	166
<i>Н.О. Замкова (Харків) КОНЦЕНТРАЦІЇ ДЕЯКИХ ГОСТРОФАЗНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЖІНОК РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ЛЕГКИХ І ТЯЖКИХ ФОРМАХ ПЕРЕБІГУ ГОСТРОГО АПЕНДИЦИТУ</i>	166
<i>В.В. Файфура, Л.М. Сас, Н.Я. Потіха, П.А. Сас (Тернопіль) НЕГАТИВНО-ХРОНОТРОПНИЙ ЕФЕКТ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТУ В КОНТРОЛЬНИХ І ГІПЕРТИРЕОЇДНИХ ЩУРІВ</i>	167
<i>С.В. Митрофанова (Харків) ВПЛИВ ДИСТИЛЬОВАНОЇ ВОДИ НА ФУНКЦІЮ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ</i>	168
<i>М.Р. Хара, Г.С. Сатурська, П.А. Сас, С.В. Дзига (Тернопіль) ВМІСТ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ СЕРЦЯ НА ТЛІ НАЛОКСОНУ</i>	168
<i>В.В. Файфура, С.М. Чарнош, О.Р. Вербовецька (Тернопіль) ВМІСТ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЗА УМОВ НАСИЧЕННЯ ОРГАНІЗМУ ХОЛІНОМ В КОНТРОЛІ ТА ПРИ ГІПОТИРЕОЗІ</i>	169
<i>О.М. Олещук, К.А. Посохова (Тернопіль) ПРОТЕКТИВНА РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ПРИСТОСУВАННІ ПЕЧІНКИ ДО ІШЕМІЇ</i>	169
<i>О.І. Штатько (Вінниця) ВПЛИВ ГОСТРОГО НАВАНТАЖЕННЯ МЕТІОНІНОМ ТА ЦИСТЕЇНОМ НА ПОВЕДІНКУ ЩУРІВ В УМОВАХ “ВІДКРИТОГО ПОЛЯ”</i>	170
<i>А.В. Мельник (Вінниця) ВПЛИВ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА РЕГУЛЯЦІЮ ФУНКЦІЙ НИРОК У ЩУРІВ</i>	170
<i>Н.Я. Трубич (Тернопіль) ВПЛИВ ПАРАЦЕТАМОЛУ НА СТАН МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ НА ФОНІ ТРИВАЛОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ</i>	171
<i>Д.З. Воробець, І.І. Горпинченко, З.Д. Воробець (Львів, Київ) УЧАСТЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РЕГУЛЯЦІЇ ЕРЕКТИЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ</i>	172
<i>Н.Я. Трубич (Тернопіль) ВПЛИВ ПАРАЦЕТАМОЛУ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ БІЛИХ ЩУРІВ</i>	172
<i>Н.С. Гутор (Тернопіль) ДІЯ ФЛУПЕТСАЛІУ НА ТКАНИНИ ПЕРІОДОНТА В ЕКСПЕРИМЕНТІ</i>	173

**МАТЕРІАЛИ
ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ**

**“ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ
БІОХІМІЇ”**

**8-9 жовтня 2009 року
м. Тернопіль**

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ АДАПТЕРНИХ БІЛКІВ RUK/CIN85 ТА CD2AP/CMS У ПУХЛИНАХ МАТКИ ЛЮДИНИ

О.І. Басараба¹, Я.П. Бобак², Г.Ю. Шуваєва², С.М. Марченко¹, О.М. Маєвська²,
Н. Ігуменцева², Н.А. Володько³, В.П. Бухман⁴, Л.Б. Дробот¹
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМЕНІ О.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ¹, КИЇВ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ², ЛЬВІВ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО³
КАРДІФФСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ⁴, КАРДІФФ, ВЕЛИКА БРИТАНІЯ

Ruk/CIN85 та його ортолог CD2AP/CMS є адаптерними білками, залученими до регулювання низки важливих сигнальних процесів, які зазнають змін під час злоякісної трансформації клітин. У цій роботі представлено дані стосовно особливостей експресії Ruk/CIN85 та CD2AP/CMS на рівні як мРНК-транскриптів, так і білкових продуктів у зразках раку тіла матки людини. Методом Нозерн-блот аналізу продемонстровано переважне зростання рівня експресії мРНК транскрипту повнорозмірної форми Ruk/CIN85 у пухлинних зразках порівняно з навколишніми нормальними тканинами. Водночас дані імуноблот аналізу свідчать як про підвищення експресії Ruk/CIN85 та CD2AP/CMS у досліджених зразках аденокарцином, так і зміни профілю експресії множинних молекулярних форм Ruk/CIN85. Виявлені нами специфічні закономірності експресії множинних форм Ruk/CIN85 та CD2AP у зразках раку тіла матки можуть свідчити про їх роль у молекулярних механізмах канцерогенезу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: канцерогенез, адаптерні білки, Ruk/CIN85, CD2AP/CMS, рак матки.

ВСТУП. Дослідження з інтерактоміки продемонстрували важливу роль адаптерних білків в організації та функціонуванні регуляторних мереж клітини. Завдяки наявності функціональних доменів, здатних зв'язувати молекули-партнери, адаптерні білки виступають своєрідною платформою для збирання молекулярних комплексів, забезпечуючи просторове зближення та регулювання активності їх компонентів у просторово-часовий спосіб. Порушення функціонування адаптерних білків призводить до розвитку низки захворювань, зокрема онкологічних [2].

Амінокислотні послідовності білків Ruk/CIN85 та CMS/CD2AP є на 39 % ідентичними та на 54 % гомологічними. Ці білки включають три SH3 домени, що зв'язуються з пролін-багатими мотивами інших білків, пролін-багату ділянку, що є сайтом розпізнавання для SH3 доменів, ділянки, багаті на залишки серину та треоніну, що можуть бути потенційними сайтами фосфорилування, актин-зв'язувальні сай-

ти та С-кінцеву суперспіралізовану ділянку, що є важливою для гомо- та гетероолігомеризації білків [3]. Для Ruk/CIN85 у порівнянні з CD2AP/CMS характерними є більша кількість сайтів фосфорилування, наявність PEST мотиву, здатність до автоінгібування шляхом внутрішньомолекулярної взаємодії та наявність молекулярних форм [3].

Ruk/CIN85 та CD2AP/CMS взаємодіють з низкою білків-партнерів і формують мультимерні комплекси, залучені до контролю апоптозу, клатрин-опосередкованого ендоцитозу рецепторних тирозинових кіназ, внутрішньоклітинного транспорту везикул, динамічних перебудов актинового цитоскелета, адгезивних властивостей й інвазії клітин, мітогенного сигналювання, інфікування клітин вірусом простого герпесу [3, 6, 8, 11, 12].

За частотою захворюваності і смертності рак шийки матки займає друге місце після раку грудної залози. У пухлинах матки виявлені численні порушення у функціонуванні специфічних сигнальних шляхів (PI3K-ПКВ/Акт, Ras/Erk1,2 і ін.), до функціонування яких можуть бути залучені адаптерні білки Ruk/CIN85 та CD2AP/CMS [4, 10].

© О.І. Басараба, Я.П. Бобак, Г.Ю. Шуваєва, С.М. Марченко, О.М. Маєвська, Н. Ігуменцева, Н.А. Володько, В.П. Бухман, Л.Б. Дробот, 2009.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як матеріал для досліджень використовували зразки раку тіла матки людини (n=13) та зразки умовно нормальної тканини матки (n=4). Зразки пухлин були надані в рамках співпраці з кафедрою онкології та медичної радіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Усі пацієнти були попереджені про дослідження та дали свою поінформовану згоду на участь у їх проведенні. Тотальну РНК для Нозерн-блот аналізу виділяли гуанідинтіоціанатним методом [1]. Як зонд для Нозерн-блот гібридизації використовували ³²P-мічений клон 3E7 кДНК гена *ruk*. Рівень специфічних сигналів у відповідних зразках вимірювали відносно експресії 18S рРНК. Вміст *Ruk/CIN85* та *CD2AP/CMS* досліджували в SDS-розчинній фракції загального білка інтерфази після екстракції РНК у буфері (4 М гуанідинтіоціанат, 25 мМ цитрат натрію (рН 7,0), 0,5 % N-лаурилсаркозин, 0,1 М β-меркаптоетанол). Для імуноблот аналізу білків білки розділяли електрофорезом у градієнтному 5-18 % ПААГ у буферній системі Леммлі за присутності SDS [7] і переносили на полівінілдіфторидну (PVDF) мембрану. Вільні центри зв'язування на мембрані блокували протягом 2 год у забуференому фосфатному розчині (ЗФР, 137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 4,3 мМ Na₂HPO₄, 1,7 мМ KH₂PO₄, рН 7,3), що містив 5 % сухого молока та 0,1 % твіну-20. Детекцію повнорозмірної форми білка *Ruk/CIN85* проводили за допомогою моноклонального анти-SH3A антитіла [9], а множинних молекулярних форм за допомогою поліклональних анти-CC антитіл до С-кінцевої ділянки *Ruk/CIN85*, спільної для всіх ізоформ. Детекцію *CD2AP/CMS* проводили за допомогою поліклональних анти-*CD2AP* антитіл ("Santa Cruz Biotechnology", США). Як другі антитіла використовували антимишачі або антикролячі IgG, кон'юговані з пероксидазою хрому ("Promega", США). Імунореактивні смуги виявляли за допомогою набору фірми "Amersham" для посиленої хемілюмінесценції.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У зразках тотальної РНК, виділеної з тканин матки, виявлено мРНК-транскрипт гена *ruk/cin85* розміром 3,5 тпн (рис. 1), який кодує повнорозмірну форму білка з молекулярною масою 85 кДа.

У проаналізованих зразках матки людини рівень експресії транскриптів *ruk/cin85* розміром 4.5 тпн, 2.5 тпн і 1.5 тпн був значно нижчий у порівнянні з рівнем експресії *ruk/cin85*. Незважа-

ючи на поліморфізм у рівні експресії *ruk/cin85* як в пухлинних, так і в контрольних тканинах, необхідно відмітити тенденцію до його зростання в аденокарциномах порівняно з навколишньою умовно нормальною тканиною.

Оскільки експресія специфічних генів не завжди супроводжується синтезом функціональних білкових продуктів, на наступному етапі досліджень ми проаналізували експресію *Ruk/CIN85* на рівні білка методом імуноблотингу.

Використання моноклонального анти-SH3A антитіла, що розпізнає повнорозмірну форму *Ruk/CIN85*, дозволило виявити у контрольних зразках та зразках пухлин матки людини імунореактивну смугу з молекулярною масою 85 кДа (p85), що відповідає повнорозмірному продукту гена *Ruk/CIN85* (рис. 1). При порівнянні рівня експресії p85 у зразках умовно нормальної тканини і зразках пухлин матки у більшості випадків ми виявили зростання рівня експресії повнорозмірної форми досліджуваного адаптерного білка, що, очевидно, залежить від індивідуальних особливостей пацієнтів (рис. 1).

Відомо, що множинні молекулярні форми *Ruk/CIN85* можуть диференційно експресуватися залежно від типу тканини та стадії онтогенезу і, відповідно, виконувати дещо відмінні функції в клітині [5]. Для аналізу множинних молекулярних форм *Ruk/CIN85* були використані поліклональні анти-CC антитіла, які впізнають всі форми білка з інтактним С-кінцевим доменом. Як видно з рис. 1, характерною особливістю умовно нормальних тканин матки людини є високий вміст імунореактивних смуг, що відповідають білкам з молекулярними масами 140, 130, 100, 85 і 50 кДа (рис. 1). Як видно з рис. 1, у більшості зразків раку тіла матки були детектовані p130, p85, p70, p50, p40 та p34. Таким чином, зразки нормальної тканини матки характеризуються високим рівнем експресії високомолекулярних форм (p140, p130, p100). Тоді як зразки пухлин матки характеризуються високим рівнем експресії низькомолекулярних форм (p70, p40, p34) (рис. 1).

ВИСНОВОК. Виявлені нами закономірності експресії множинних форм *Ruk/CIN85* і *CD2AP* в пухлинах людини можуть свідчити про зміни у функціонуванні сигнальних шляхів, контроль яких здійснюється з участю множинних молекулярних форм адаптерного білка *Ruk/CIN85*, як на рівні транскрипції, так і трансляції.

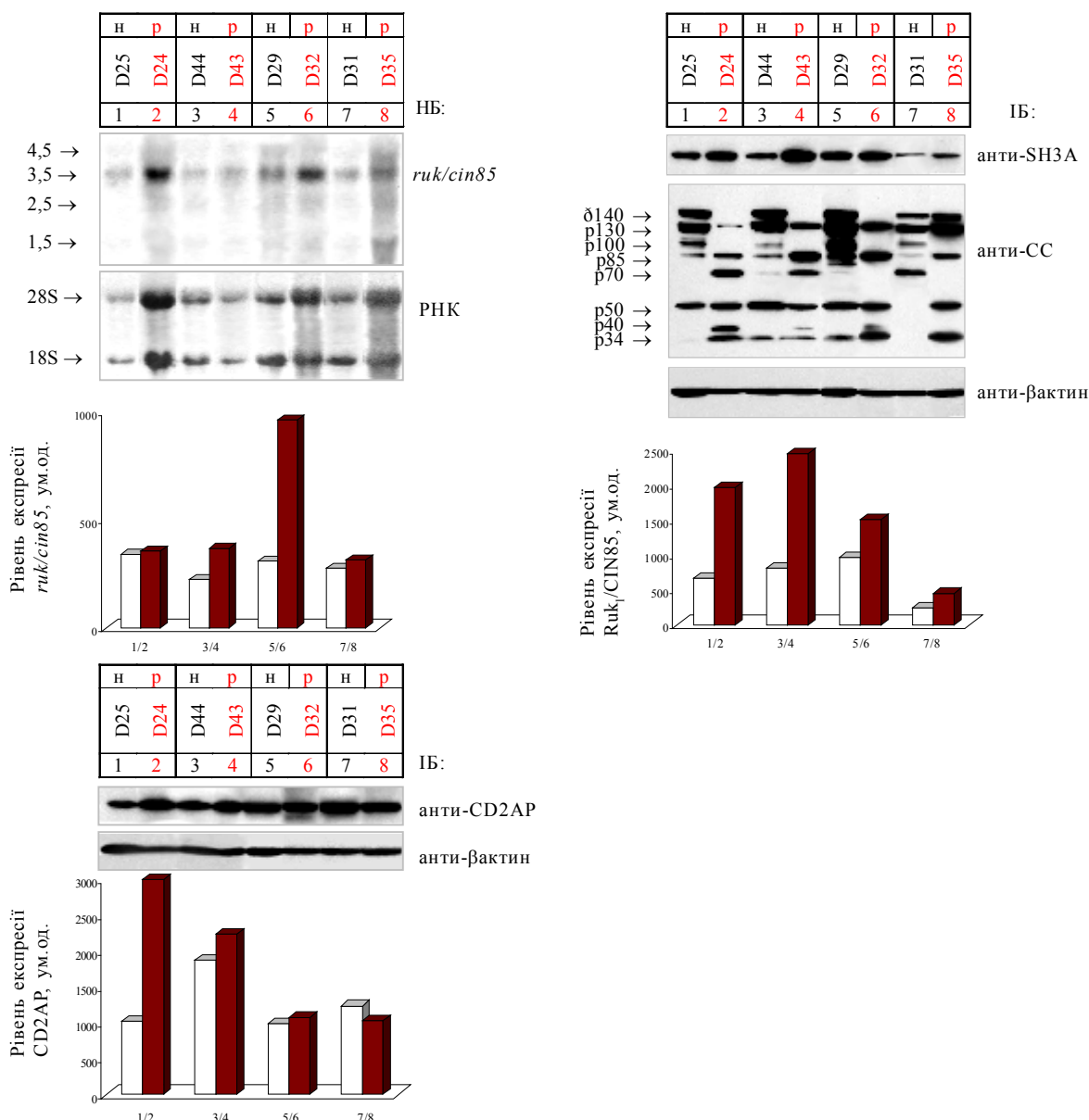


Рис. 1. Аналіз експресії Ruk/CIN85 та CD2AP на рівні мРНК (Нозерн-блот аналіз (НБ) тотальної РНК) і на рівні білка (імуноблот аналіз (ІБ)). Умовно нормальна тканина (н), рак тіла матки (р).

ЛІТЕРАТУРА

1. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* – 1987. – **162**, № 1. – P. 156-159.
2. Crosetto N., Tikkanen R., Dikic I. Oncogenic breakdowns in endocytic adaptor proteins // *FEBS Lett.* – 2005. – **579**, № 15. – P. 3231-3238.
3. Dikic I. CIN85/CMS family of adaptor molecules // *FEBS Lett.* – 2002. – **529**, № 1. – P. 110-115.
4. Gadducci A., Tana R., Cosio S., Fanucchi A., Genazzani A.R. Molecular target therapies in endometrial cancer: from the basic research to the clinic // *Gynecol. Endocrinol.* – 2008. – **24**, № 5. – P. 239-249.
5. Gout I., Middleton G., Adu J., Ninkina N.N., Drobot L.B., Filonenko V., Matsuka G., Davies A.M., Waterfield M., Buchman V.L. Negative regulation of PI 3-kinase by Ruk, a novel adaptor protein // *EMBO J.* – 2000. – **19**, № 15. – P. 4015-4025.
6. Hutchings N.J., Clarkson N., Chalkley R., Barclay A. Neil, Marion H. Brown Linking the T-Cell Surface Protein CD2 to the Actin-capping Protein CAPZ via CMS and CIN85 // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**, № 25. – P. 22396-22403.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – **227**, № 5259. – P. 680-685.

8. Liang Y., Kurakin A., Roizman B. Herpes simplex virus 1 infected cell protein 0 forms a complex with CIN85 and Cbl and mediates the degradation of EGF receptor from cell surfaces // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – **102**, № 16. – P. 5838-5843.

9. Mayevska O., Shuvayeva H., Igmentseva N., Havrylov S., Basaraba O., Bobak Ya., Barska M., Volod'ko N., Baranska J., Buchman V., Drobot L. Expression of adaptor protein Ruk/CIN85 isoforms in cell lines of various tissue origins and human melanoma // Exp. Oncol. – 2006. – **28**, № 4. – P. 275-281.

10. Mizumoto Y., Kyo S., Mori N., Sakaguchi J., Ohno S., Maida Y., Hashimoto M., Takakura M., Inoue M.

Activation of ERK1/2 occurs independently of KRAS or BRAF status in endometrial cancer and is associated with favorable prognosis // Cancer Sci. – 2007. – **98**, № 5. – P. 652-658.

11. Sakakibara T., Nemoto Y., Nukiwa T., Takeshima H. Identification and characterization of a novel Rho GTPase activating protein implicated in receptor-mediated endocytosis // FEBS Lett. – 2004. – **566**. – P. 294-300.

12. Schmidt M.H., Chen B., Randazzo L.M., Bogler O. SETA/CIN85/Ruk and its binding partner AIP1 associate with diverse cytoskeletal elements, including FAKs, and modulate cell adhesion // J. Cell Sci. – 2003. – **116**, № 14. – P. 2845-2855.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ АДАПТЕРНЫХ БЕЛКОВ RUK/CIN85 И CD2AP/CMS В ОПУХОЛЯХ МАТКИ ЧЕЛОВЕКА

О.И. Басараба¹, Я.П. Бобак², Г.Ю. Шуваева², С.Н. Марченко¹, О.М. Маевская², Н. Игуменцева², Н.А. Володько³, В.П. Бухман⁴, Л.Б. Дробот¹

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ², ЛЬВОВ
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО³
КАРДИФФСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ⁴, КАРДИФФ, ВЕЛИКОБРИТАНИЯ

Резюме

Ruk/CIN85 и его ортолог CD2AP/CMS являются адаптерными белками, которые вовлечены в регуляцию ряда важных сигнальных процессов и изменяются во время злокачественной трансформации клеток. В этой работе представлены данные относительно особенностей экспрессии Ruk/CIN85 и CD2AP/CMS на уровне как мРНК-транскриптов, так и белковых продуктов в образцах злокачественных опухолей тела матки человека. Методом Нозерн-блот анализа мы продемонстрировали повышение уровня экспрессии мРНК транскрипта полноразмерной формы Ruk/CIN85 в опухолевых образцах в сравнении с окружающими условно нормальными тканями. В то же время данные иммуноблот анализа свидетельствуют как о повышении экспрессии Ruk/CIN85 и CD2AP/CMS в исследованных образцах аденокарцином, так и об изменении профиля экспрессии множественных молекулярных форм Ruk/CIN85. Обнаруженные нами специфические закономерности экспрессии множественных форм Ruk/CIN85 и CD2AP в образцах злокачественных опухолей тела матки могут свидетельствовать об их роли в молекулярных механизмах канцерогенеза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **канцерогенез, адаптерные белки, Ruk/CIN85, CD2AP/CMS, опухоли тела матки.**

STUDY OF ADAPTER PROTEINS RUK/CIN85 AND CD2AP/CMS EXPRESSION IN HUMAN UTERUS TUMORS

O.I. Basaraba¹, Ya.P. Bobak², H.Yu. Shuvayeva², S.M. Marchenko¹, O.M. Mayevska², N. Ihumentseva², N.A. Volodko³, V.P. Bukhman⁴, L.B. Drobot¹

INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.V. PALLADIN NAS OF UKRAINE¹, KYIV
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY NAS OF UKRAINE², LVIV
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY³
CARDIFF UNIVERSITY⁴, CARDIFF, UK

Summary

Ruk/CIN85 and its ortholog CD2AP/CMS are adaptor proteins involved into regulation of a number of important signal processes that are modified during the malignant transformation of cells. The data concerning differential expression of Ruk/CIN85 and CD2AP/CMS both on the level of mRNA-transcripts and protein products in human uterus cancer samples are presented in our study. It was shown by Northern-blot and Western-blot analyses that Ruk/CIN85 expression is up-regulated in uterus cancer samples in comparison with conditionally normal tissues. Specific changes in expression level of Ruk/CIN85 multiple molecular forms as well as CD2AP, that were revealed in our study, may indicate their important role in the process of carcinogenesis.

KEY WORDS: **carcinogenesis, adapter proteins, Ruk/CIN85, CD2AP/CMS, uterus cancer.**

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: О.І. Басараба, Інститут біохімії імені О.В. Палладіна, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна.

І ааè-îà öïï ÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

ВПЛИВ ЛЕПТИНУ НА УТВОРЕННЯ NO , O_2^- І ONOO^- В ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ

М.М. Корда, Т.Я. Ярошенко, С.М. Самборська, І.В. Корда
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
 ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Відомо, що гормон лептин може впливати на тонус судин. Ми припустили, що хронічна гіперлептинемія, яка завжди супроводжує ожиріння, може модифікувати ендотеліальний метаболізм $\text{NO/O}_2^-/\text{ONOO}^-$ і викликати дисфункцію ендотелію. Показано, що тривала (12 год) експозиція ендотеліальних клітин до лептину призводить до значного зниження продукції NO при одночасному підвищенні утворення O_2^- і ONOO^- . Зроблено висновок, що зниження біодоступності NO при ожирінні, ймовірно, є наслідком дезінтеграції eNOS, викликаного хронічною гіперлептинемією.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ожиріння, лептин, ендотелій, NO , O_2^- , ONOO^- .

ВСТУП. Сьогодні можна говорити про епідемію ожиріння у світі – приблизно третина населення індустріальних країн потерпає від надлишкової маси. Ожиріння асоціюється з рядом метаболічних проблем, а також є одним з ключових факторів ризику васкулярних розладів [1]. Основною причиною судинних розладів при ожирінні є дисфункція ендотелію, яка визначається як зниження біодоступності оксиду азоту (NO) внаслідок патології системи “L-аргінін/ NO синтаза” в ендотеліальних клітинах [2]. Доступність NO визначається як баланс між продукцією NO і його утилізацією в реакції з активними радикалами кисню, зокрема із супероксидом (O_2^-). Недавно було показано, що гіперлептинемія може відігравати важливу роль в патогенезі гіпертензії, асоційованої з ожирінням [3]. Відомо, що секреція лептину жировою тканиною пропорційна ступеню ожиріння [4]. Було також встановлено, що на поверхні ендотеліальних клітин судин знаходяться рецептори до лептину (Ob-R) [5]. В попередній роботі ми показали, що експресія ендотеліальної синтази NO (eNOS) суттєво підвищується при інкубації ендотеліальних клітин з лептином [6]. В той же час концентрація L-аргініну в клітинах мала тенденцію до зниження. Було висунуто припущення, що така невідповідність може бути причиною роз’єднання функціонування eNOS і дисфункції ендотелію при ожирінні. Метою даної роботи

було підтвердити вищенаведену гіпотезу шляхом вивчення впливу експозиції ендотеліальних клітин до лептину на утворення в них NO , O_2^- і ONOO^- .

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ендотеліальні клітини умбілікальної вени людини (HUVEC) вирощували в середовищі MCDB-131. Після набуття клітинами конфлюентності середовище MCDB-131 заміняли Мінімальним Необхідним Середовищем Eagle без сироватки крові і клітини інкубували протягом 2 або 12 год з 0.01, 0.1, 1 або 10 $\mu\text{g/ml}$ лептину.

Наносенсори для виявлення NO , O_2^- і ONOO^- були виготовлені, як описано в роботі [7, 8, 9]. Вимірювання здійснювали, використовуючи трьохелектродну систему, що складалася з робочого наносенсора, платинового каунтер електрода і електрода порівняння (срібло/хлорид срібла). Планшет з інкубованими клітинами поміщали на штатив мікроскопа Olympus IX 71, каунтер і електрод порівняння позиціювали в ячейці з клітинами, робочий електрод опускали під контролем мікроскопа і за допомогою мікроманіпулятора PatchMan NP 2, Eppendorf на поверхню клітинних мембран. Щоб оцінити максимальну продукцію NO , O_2^- і ONOO^- клітинами, 10 μl рецептор-незалежного агоніста eNOS кальцій іонофору (CaI) A23187 впорскували за допомогою наноінжектора на поверхню клітинних мембран, щоб досягти кінцевої концентрації в середовищі 1 $\mu\text{mol/l}$. Вимірювали підвищення сили струму порівняно з базовим

рівнем. Концентрації NO, O_2^- і ONOO $^-$ розраховували за допомогою калібрувального графіка. Дані обробляли, використовуючи вольтаметричний аналізатор PAR (EG&G Princeton Applied Research) і комп'ютерну програму Research Electrochemistry Software, Ver. 4.30 (EG&G Princeton Applied Research).

Результати виражали як середнє±SEM з 6 експериментів. Зміни $p < 0,05$ розглядали як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи ANOVA і критерій t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При стимуляції HUVEC чистим лептином генерації NO, O_2^- і ONOO $^-$ не спостерігалось. В той же час після впорскування на поверхню клітин Cal мало місце швидке звільнення NO, O_2^- і ONOO $^-$ як інтактними клітинами, так і клітинами, які попередньо інкубували з лептином.

Щоб дослідити вплив концентрації лептину і часу його експозиції на функціональний стан eNOS, ми вимірювали продукцію NO, O_2^- і ONOO $^-$ Cal-стимульованими HUVEC, які інкубували з різними концентраціями гормону протягом різного часу (рис. 1). Експозиція клітин до лептину протягом 2 і 12 год призводила до дозозалежного підвищення Cal-стимульованого піку концентрацій NO, O_2^- і ONOO $^-$ (рис. 1A, 1C, 1D). Як видно з рисунка, плато на графіку було досягнуто при концентрації лептину приблизно 100 нг/мл. Цікаво відмітити, що інкубація HUVEC з лептином протягом 2 год підвищувала продукцію NO у більшому ступені, ніж протягом 12 год. Так, двогодинна експозиція клітин до 100 нг/мл лептину призводила до стимуляції продукції NO в 1,6 раза ((820±70) нмоль/л) порівняно з базовими умовами ((502±30) нмоль/л), тоді як така сама концентрація гормону, що діяла на клітини протягом 12 год, викликала підвищення пікового звільнення NO тільки в 1,3 раза ((625±62) нмоль/л) порівняно з базовим станом ((462±34) нмоль/л). На відміну від NO, Cal-стимульована продукція O_2^- і ONOO $^-$ була вищою в HUVEC, експонованих до лептину протягом 12 год, порівняно з клітинами, що інкубувалися з гормоном протягом 2 год (рис. 1C, 1D).

Аналіз часової залежності ефекту лептину на Cal-стимульовану продукцію NO показав швидке зростання концентрації NO під час першої години експозиції HUVEC до гормону

(рис. 2B). Концентрація NO досягала плато ((815±65) нмоль/л) після першої години інкубації, а після двох годин інкубації спостерігалось повільне зниження NO. На відміну від NO, плато концентрацій O_2^- і ONOO $^-$ спостерігалось після чотирьох годин експозиції HUVEC до лептину (рис. 1E, 1F).

Співвідношення концентрації NO до концентрації ONOO $^-$ ($K = [NO]/[ONOO^-]$), що відображає біодоступність NO, було значно вищим в HUVEC, що інкубувалися з лептином протягом 2 год, порівняно з таким у контрольних клітин. В той же час величина K для клітин, інкубованих з гормоном протягом 12 год, була нижчою, ніж в контролі (рис. 2).

Наша робота чітко демонструє вплив лептину на функцію ендотелію. Гостра експозиція клітин до лептину покращує ендотеліальну функцію, значно підвищуючи продукцію NO і баланс $[NO]/[ONOO^-]$. Проте тривала експозиція ендотелію до лептину призводить до суттєвого пригнічення утворення NO з одночасним зростанням рівнів O_2^- і ONOO $^-$ і несприятливих змін балансу між біоактивним NO і цитотоксичним ONOO $^-$. При низькому співвідношенні NO до ONOO $^-$ функціонування ендотелію різко погіршується [4].

В попередній роботі ми показали, що інкубація HUVEC з лептином призводить до значного підвищення експресії ендотеліальної синтази NO [6]. Таке підвищення повинно потенційно покращувати функцію ендотелію і сприяти продукції NO. Парадоксально, але як видно з представлених у цій роботі результатів, лептин при тривалій дії викликає дисфункцію ендотелію. Це можна пояснити даними, також отриманими у нашій попередній роботі. Ми спостерігали зниження в ендотелії, інкубованому з лептином, рівня субстрату для eNOS – L-аргініну [6]. L-аргінін є також необхідним для стабілізації (спряження) димерної форми eNOS. Тому зниження концентрації L-аргініну в ендотелії призводить до дезінтеграції eNOS. Такий роз'єднаний фермент відновлює кисень одним електроном з утворенням супероксидного радикала. В результаті NO моментально реагує з O_2^- з утворенням ONOO $^-$. Тобто роз'єднана eNOS може бути ефективним генератором цитотоксичного ONOO $^-$. Швидке витрачання NO у реакції з O_2^- суттєво знижує концентрацію біодоступного NO. В результаті зменшується дифузія NO в гладкі м'язи судини і пригнічується їх релаксація.

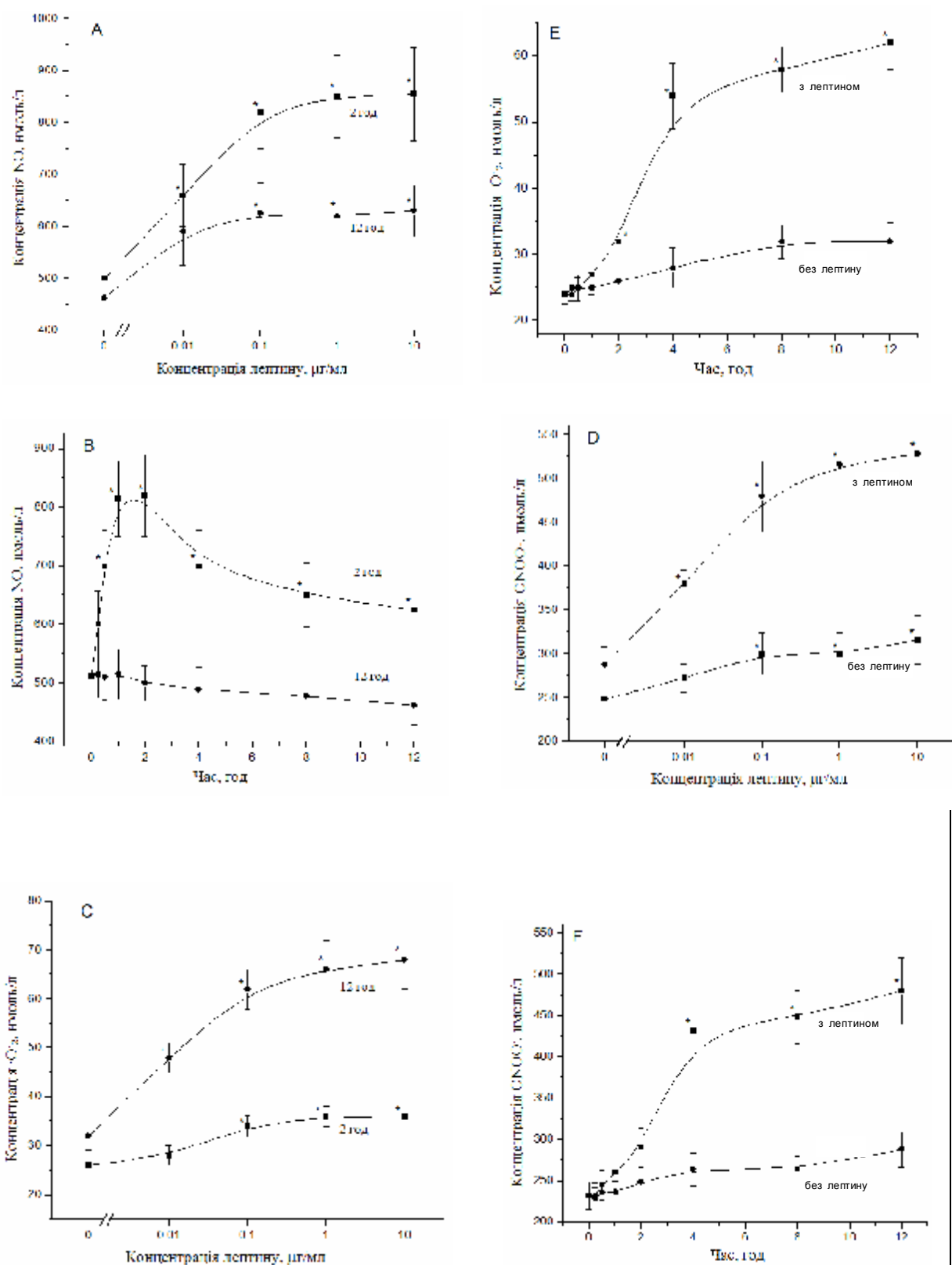


Рис. 1. Вплив різних концентрацій лептину на Cal-стимульовану продукцію NO (A), O₂⁻ (C) і ONOO⁻ (D) в HUVEC.

Часова залежність ефекту постійної концентрації лептину (100 нг/мл) на Cal-стимульовану продукцію NO (B), O₂⁻ (E) і ONOO⁻ (F) в HUVEC.

* – p < 0,05 проти контролю (без лептину).

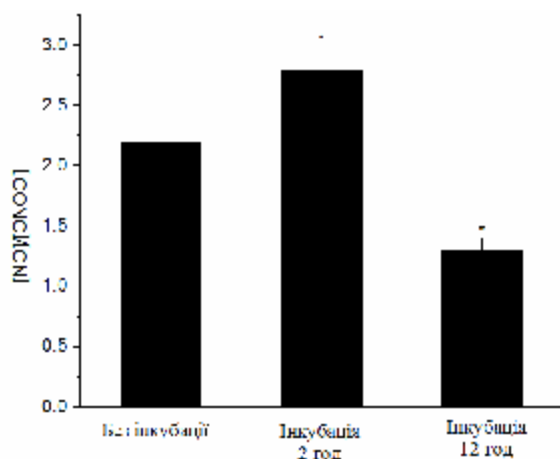


Рис. 2. Співвідношення між концентрацією NO і ONOO⁻. Утворення NO і ONOO⁻ стимулювали Cal (A23187, 1 ммоль/л) в HUVEC перед інкубацією і після інкубації з 100 нг/мл лептину протягом 2 і 12 год.

* – $p < 0,05$ проти неінкубованих клітин.

ВИСНОВОК. В даній роботі ми навели прямий доказ того, що гормон лептин впливає на утворення NO і O₂⁻ ендотеліальною синтазою NO. Із збільшенням часу експозиції лептину до ендотеліальних клітин різко зростає продукція O₂⁻, що призводить до утворення потенційно небезпечного оксиданта ONOO⁻ і значного зниження біодоступності NO. Збільшення продукції O₂⁻/ONOO⁻ відбувається, найбільш ймовірно, завдяки невідповідності між підвищеним рівнем eNOS і зниженою внутрішньоклітинною концентрацією L-аргініну. Таким чином, тривала експозиція ендотелію до лептину може дестабілізувати eNOS і призвести до нітросуоксидативного стресу. Враховуючи, що рівень лептину в крові прямо пропорційний до кількості жирової тканини, показані нами механізми можуть бути однією з патогенетичних ланок розвитку кардіоваскулярних захворювань при ожирінні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Montani J.P., Antic V., Yang Z. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 2002. – **26**, Suppl 2. – S.28-38.
2. Harrison D.G. Cellular and Molecular Mechanisms of Endothelial Cell Dysfunction // *J. Clin. Invest.* – 1997. – **100**, № 9. – P. 2153-2157.
3. Aizawa-Abe M., Ogawa Y., Masuzaki H. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension // *J. Clin. Invest.* – 2000. – **105**, № 9. – P. 1243-1252.
4. Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans // *N. Engl. J. Med.* – 1996. – **334**, № 5. – P. 292-295.
5. Bouloumie A., Drexler H.C., Lafontan M., Busse R. Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis // *Circ. Res.* – 1998. – **83**. – P. 1059-1066.
6. Корда М.М., Ярошенко Т.Я., Самборська С.М., Корда І.В. Вплив лептину на експресію NO-синтази в ендотеліальних клітинах // *Мед. хім.* – 2009. – № 1. – С. 135-138.
7. Malinski T., Taha Z. Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic based microsensor // *Nature.* – 1992. – **358**. – P. 676-8.
8. Mesáros S., Vankova Z., Grunfeld S., Mesárosova A., Malinski T. Preparation and optimization of superoxide microbiosensor // *Anal. Chim. Acta.* – 1998. – **358**. – P. 27-33.
9. Xue J., Ying X., Chen J., Xian Y. Amperometric ultramicrosensors for peroxynitrite detection and its application toward single myocardial cells // *Anal. Chem.* – 2000. – **72**. – P. 5313-21.

ВЛИЯНИЕ ЛЕПТИНА НА ОБРАЗОВАНИЕ NO, O₂⁻ И ONOO⁻ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

М.М. Корда, Т.Я. Ярошенко, С.М. Самборская, И.В. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Известно, что гормон лептин может влиять на тонус сосудов. Мы предположили, что хроническая гиперлептинемия, которая всегда сопровождает ожирение, способна модифицировать эндотелиальный метаболизм NO/O₂⁻/ONOO⁻ и вызывать дисфункцию эндотелия. Показано, что длительная (12 часов) экс-

позиция эндотелиальных клеток к лептину приводит к значительному снижению продукции NO с одновременным повышением образования O_2^- и ONOO⁻. Сделан вывод, что снижение биодоступности NO при ожирении, вероятно, является следствием дезинтеграции eNOS, вызванной хронической гиперлептинемией.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ожирение, лептин, эндотелий, NO, O_2^- , ONOO⁻.**

THE EFFECT OF LEPTIN ON NO, O_2^- AND ONOO⁻ PRODUCTION IN ENDOTHELIAL CELLS

M.M. Korda, T.Ya. Yaroshenko, S.M. Samborska, I.V. Korda
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It has been shown that hormone leptin may affect the vascular tone. We hypothesized that chronic hyperleptinemia accompanying obesity can modify the endothelial NO/ O_2^- /ONOO⁻ metabolism and cause endothelial dysfunction. A long term (12 hrs) exposure of endothelial cells to leptin resulted in marked reduction of NO production with simultaneous increase in O_2^- and ONOO⁻ production. It has been concluded that the decrease of NO bioavailability in obesity can be the consequence of eNOS disintegration caused by chronic hyperleptinemia.

KEY WORDS: **obesity, leptin, endothelium, NO, O_2^- , ONOO⁻.**

Отримано 17.09.2009 р.

Адреса для листування: М.М. Корда, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ ВІТАМІНІВ Е ТА С У РЕГУЛЯЦІЇ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ШЛУНКА І ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА УМОВ СТРЕСУ

В.С. Журомський¹, Н. Шамро, І.Б. Грюк, О.Я. Скляр²

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ КОЛЕДЖ ІМЕНІ АНДРЕЯ КРУПИНСЬКОГО¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО²
РІВНЕНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ГУМАНІТАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

В експериментах на щурах показано, що за умов стресу, викликаного введенням адреналіну, самостійна дія вітамінів Е та С призводила до зменшення активності NO-синтаз, переважно за рахунок iNOS, вмісту NO порівняно з впливом адреналіну, зміни концентрації L-аргініну в плазмі крові залежали від активності NO-синтаз. Введення вітаміну С зумовлювало зростання концентрації L-аргініну в плазмі крові. Поєднана дія вітамінів С та Е проявляла тенденцію до посилення гальмування активності NO-синтаз і зниження вмісту нітрогену оксиду в слизових оболонках шлунка і товстої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: активність NOS, нітрогену оксид, L-аргінін, стрес, слизові оболонки шлунка і товстої кишки.

ВСТУП. У підтримці антиоксидантного статусу клітин організму значну роль відіграють вітаміни Е та С. Стрес є одним із факторів, що призводять до виникнення ульцерогенних пошкоджень слизової оболонки шлунка (СОШ) та ульцерогенного коліту [3, 13]. Дія стресу викликає зростання рівня процесів ліпопероксидації та змінює активність NO-синтаз у слизових оболонках шлунка і товстої кишки, що призводить до розвитку патологічних процесів [11]. Вітаміни Е та С беруть участь в антиоксидантних та цитопротекторних механізмах СОШ та слизової оболонки товстої кишки (СОТК), при цьому їх дія має прямий та опосередкований антиоксидантний ефект, який включає вплив на систему L-аргінін/NO-синтаза/NO [9]. Метою дослідження було визначення самостійного і поєданого впливу вітамінів С та Е на активність NO-синтаз, вміст нітрогену оксиду в СОШ і СОТК та концентрацію L-аргініну в плазмі крові при стресі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 56 щурах згідно з міжнародними умовами проведення експериментів на лабораторних тваринах. Стрес моделювали шляхом введення адреналіну (2 мг/кг) [2]. Забір матеріалу для досліджень здійснювали під уретановим наркозом (1,1 мг/кг). Проведено 4 серії дослідів: у першій серії визначали дію

адреналіну; в другій – вплив вітаміну С (віт. С) на фоні стресу; в третій – вплив вітаміну Е (віт. Е) на фоні стресу; в четвертій – поєднану дію вітамінів Е та С на фоні стресу. В СОШ та СОТК визначали активність NO-синтаз за [12]; нітрогену оксиду (NO) за [5], L-аргініну в плазмі крові [1]. Досліджували самостійну і поєднану дію віт. С (200 мг/кг) та віт. Е (150 мг/кг), які вводили за 15 хв до дії адреналіну. Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дія адреналіну призводила до виникнення деструктивних пошкоджень СОШ у вигляді ерозій, виразок, крововиливів, при цьому відбувалось різке зростання вмісту NO у СОШ – на 96 % ($p < 0,01$). Активність NO-синтаз змінювалась таким чином: загальна активність NO-синтаз зростала у 3,6 раза ($p < 0,01$), активність eNOS підвищувалась на 86 % ($p < 0,01$), активність iNOS – у 12 разів ($p < 0,001$). У СОТК інтактних тварин активність NO-синтаз була дещо більшою, ніж у СОШ. У СОТК загальна активність NO-синтаз підвищувалась на 70 %, активність eNOS знижувалась на 48 % ($p < 0,01$), активність iNOS зростала у 7 разів ($p < 0,001$).

Введення віт. Е в дозі 150 мг/кг на фоні стресу призводило у СОШ до зменшення вмісту NO на 14 %, загальної активності NO-синтаз – на 25 % ($p < 0,05$), iNOS – на 38 % ($p < 0,05$), eNOS – на 39 % ($p < 0,05$). У СОТК при

© В.С. Журомський, Н. Шамро, І.Б. Грюк, О.Я. Скляр, 2009.

І аае:іа оіі іу – 0.11, ¹ 3, 2009

дії віт. Е на фоні стресу загальна активність NO-синтаз знижувалась на 17 %, iNOS – на 41 % ($p < 0,05$), активність eNOS зростала на 50 % ($p < 0,05$), вміст NO зменшувався на 30 % порівняно з впливом адреналіну.

За умов введення віт. С, на фоні виразкового пошкодження СОШ, відзначали зменшення вмісту NO на 36 %, при цьому загальна активність NO-синтаз знижувалась на 16 %, активність iNOS – на 50 % ($p < 0,05$), активність eNOS змінювалось незначно. У СОТК вплив віт. С призводив до зменшення вмісту NO на 40 % ($p < 0,05$), загальної активності NO-синтаз – на 24 %, активності iNOS – на 38 % ($p < 0,05$), активність eNOS зростала на 19 % ($p < 0,05$) порівняно з впливом адреналіну. Поєднана дія віт. Е та С зумовлювала зменшення вмісту NO у СОШ на 23 % ($p < 0,05$) порівняно з впливом адреналіну, на 13 % – порівняно з дією віт. Е, на 18 % – порівняно з впливом віт. С. Подібний напрямок змін вмісту NO спостерігався у СОТК за умов поєднаної дії віт. Е та С.

Концентрація L-аргініну в плазмі крові за умов стресу зменшувалась на 26 % ($p < 0,05$). Введення віт. Е на фоні адреналіну призводило до зростання концентрації L-аргініну, а дія віт. С спричиняла різке підвищення концентрації L-аргініну в плазмі крові – на 63 % ($p < 0,05$) порівняно з впливом адреналіну.

Зменшення активності NO-синтаз і, відповідно, вмісту NO в СОШ та СОТК при дії віт. С може бути пов'язане із зв'язуванням ним пероксинітриду та супероксидного радикала, попередженням інфільтрації нейтрофілів СОШ та зростання концентрації цитокінів [4, 8, 10]. Непрямий антиоксидантний ефект дії віт. С полягає в активації ним експресії mRNA анти-

оксидантних ензимів – супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази. Протизапальна дія віт. С зумовлена зниженням експресії iNOS, інгібуванням циклооксигеназою-2 стимульованої продукції простагландину Е (ПГЕ), а також зменшенням у СОТК експресії mRNA прозапальних цитокінів – інтерлейкіну-1 β та фактора некрозу пухлин α [7, 9]. Віт. Е проявляє антиоксидантний вплив шляхом розриву ланцюга окисних процесів у мембранах клітин та зв'язування активних форм кисню. У попередніх дослідженнях було відзначено, що віт. Е на фоні ульцерогенних пошкоджень СОШ, викликаних аспірином, призводив до значного зниження ульцерогенних пошкоджень, вмісту малонового діальдегіду, ПГЕ₂ та секреції кислоти [6].

Таким чином, поєднаний вплив віт. С та Е на фоні стресу, викликаного адреналіном, проявив тенденцію до посилення гальмування активності NO-синтаз і, відповідно, нітрогену оксиду в СОШ та СОТК, що зумовлено їх антиоксидантною та протизапальною діями.

ВИСНОВКИ. Дія стресу викликала односпрямовані зміни активності NO-синтаз і вмісту NO у СОШ та СОТК, при цьому різко підвищувалась активність iNOS та паралельно зменшувалась у крові концентрація L-аргініну. Самостійна дія вітамінів Е та С призводила до зниження активності iNOS, вмісту NO у СОШ та СОТК і зростання концентрації L-аргініну в крові. Поєднана дія цих вітамінів мала тенденцію до посилення їх гальмівного ефекту в регуляції синтезу NO та активності NO-синтаз, що зумовлено антиоксидантним і протизапальним впливом вітамінів Е та С.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии. – М.: Медицина, 2000. – 128 с.
2. Белостоцкий Н.И. Язвеобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов // Патол. физиол. и эксперим. мед. – 1988. – № 1. – С. 24-27.
3. Веремченко К.Н., Голобродько О.П., Кипсим А.И. Протеолиз в норме і при патології. К.: Здоров'я, 1988. – 198 с.
4. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Мандрик Ю.В., Червінська М.Є. Периферійні механізми регуляції процесів цитопротекції у слизовій оболонці шлунка. – Львів, 2007. – 159 с.
5. Dwenger A., Funk M., Lueken B. et al. Effect of ascorbic acid on neutrophil functions and hypoxanthine/

- xanthine oxidase-generated, oxygen-derived radicals. // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1992. – **30**. – P. 187-191.
6. Green L.C., David A.W. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P. 131-138.
7. Jaarin K., Gapor M.T., Nafeeza M.I. et al. Effect of various doses of palm vitamin E and tocopherol on aspirin-induced gastric lesions in rats // Int. J. Exp. Pathol. – 2002. – **83**, № 6. – P. 295-302.
8. Jiang Q., Elson-Schwab I., Courtemanche C. et al. Gammatocopherol and its major metabolite, in contrast to alpha-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2000. – **97**. – P. 11494-11499.
9. Kamiya Y., Ohta Y., Imai Y. et al. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute

gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats // World J. Gastroenterol. – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324-1330.

10. Konturek P.C., Kania J., Gessner U. et al. Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric mucosal damage before and after Helicobacter pylori eradication therapy // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – **506**, № 2. – P. 169-177.

11. Konturek P.C., Kania J., Hahn E.G. et al. Ascorbic acid attenuates aspirin-induced gastric damage: role of inducible nitric oxide synthase // J. Physiol. Pharmacol. – 2006. – **57**, suppl. 5. – P. 125-136.

12. Ohta Y., Kamiya Y., Imai Y. et al. Role of gastric mucosal ascorbic acid in gastric mucosal lesion development in rats with water immersion restraint stress // Inflammopharmacology. – 2005. – **13**, № 1-3. – P. 249-259.

13. Omura T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsoms // J. Biol. Chem. – 1964. – **239**. – P. 2379-2385.

14. Scaldaferrri F., Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: progress and current concepts of etiopathogenesis // J. Dig. Dis. – 2007. – **8**. – P. 171-178.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНОВ E И C В РЕГУЛЯЦИИ NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ В СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧКАХ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ СТРЕССЕ

В.С. Журомский¹, Н. Шамро, И.Б. Грюк, А.Я. Скляр²

Львовский государственный медицинский колледж имени Андрея Крупинского¹

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого²

Ровенский государственный гуманитарный университет

Резюме

В экспериментах, проведенных на крысах, показано, что при стрессе, вызванном введением адреналина, самостоятельное действие витаминов E и C приводило к уменьшению активности NO-синтаз, в основном за счет iNOS, содержания NO по сравнению с влиянием адреналина, изменения концентрации L-аргинина в плазме крови зависели от активности NO-синтаз. Введение витамина C обуславливало возрастание концентрации L-аргинина в плазме крови. Совместное действие витаминов E и C проявило тенденцию к усилению торможения активности NO-синтаз и снижению содержания нитрогена оксида в слизистых оболочках желудка и толстой кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: активность NOS, нитрогена оксид, L-аргинин, стресс, слизистая оболочка желудка и толстой кишки.

PECULIARITIES OF ACTION OF VITAMINS E AND C IN REGULATION OF NO-SYNTASE SYSTEM IN THE MUCOUS MEMBRANES OF STOMACH AND LARGE INTESTINE UNDER CONDITIONS OF STRESS

V.S. Zhuromsky¹, N. Shamro, I.B. Hryuk, O.Ya. Sklyarov²

STATE MEDICAL COLLEGE BY ANDREY KRUPYNSKYI¹,

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKYI²

RIVNE STATE HUMANITIES UNIVERSITY

Summary

In the experiments on rats it has been shown that under conditions of stress, caused by injection of adrenaline, separate action of vitamins E and C causes the reduction of NO-synthase activity, mostly in the account of iNOS, decrease of NO content versus the effect exerted by adrenaline, and changes of L-arginine concentration in blood plasma related to the activity of NO-synthases. Under the effect of vitamin C the concentration of L-arginine in blood plasma increased. Combined action of vitamins C and E tended to enhancement of inhibition of the activity of NO-synthases and, respectively, to the decrease of nitrogen oxide content in gastric and large intestinal mucosa.

KEY WORDS: activity of NOS, nitrogen oxide, L-arginine, stress, mucous membranes of stomach and large intestine.

Отримано 8.09.2009 р.

Адреса для листування: О.Я. Скляр², Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

ЕКСПРЕС-ІДЕНТИФІКАЦІЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНУ ТА ВИЯВЛЕННЯ В НЬОМУ ДОМІШКИ ГІПЕРСУЛЬФОВАНОГО ХОНДРОЇТИН СУЛЬФАТУ МЕТОДОМ ЯМР

В.В. Половинко, Г.І. Борщевський, І.В. Комаров

БАТ "ФАРМАК", КИЇВ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

Розроблено зручну й ефективну експрес-методику ідентифікації низькомолекулярного гепарину та виявлення в ньому домішки гіперсульфованого хондроїтин сульфату за допомогою двовимірної методики COSY (з переднасищенням сигналу HOD). Перевага методики полягає в тому, що аналіз можна провести з невеликою кількістю зразка (близько 20 мг), швидко (протягом 40-60 хв) та на приладах ЯМР з порівняно невеликою робочою частотою.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: низькомолекулярний гепарин, гіперсульфований хондроїтин сульфат, ядерний магнітний резонанс, двовимірна методика COSY.

ВСТУП. Гепарин – це природний біологічно активний глікозаміноглікан, що проявляє антикоагулювальну і тромболітичну активність. Він добувається з природних джерел і є полімером з молекулярною масою від 3 до 50 Кда, середня молекулярна маса більшості комер-

ційно доступних препаратів гепарину коливається від 12 до 15 Кда. Молекули гепарину складаються з дисахаридних залишків, різною мірою сульфованих; будова залишку, що зустрічається найчастіше в полімерних молекулах гепарину, показана на рисунку 1А.

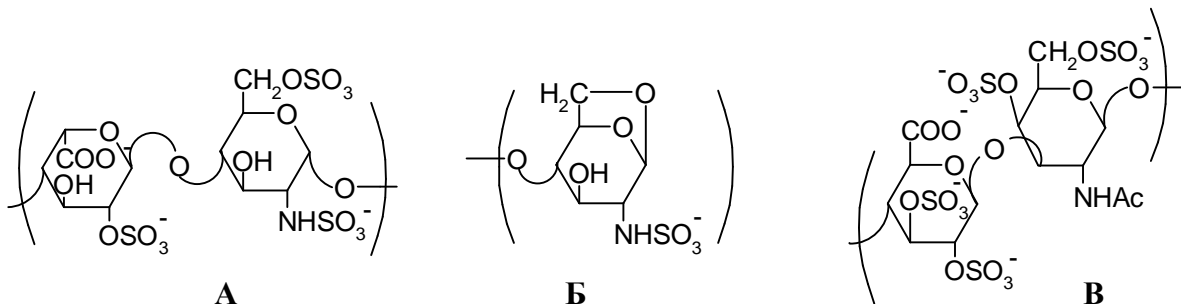


Рис. 1. А – будова залишку, що найчастіше зустрічається в складі олігосахаридних похідних гепарину; Б – "1,6-ангідро"-фрагмент; В – фрагмент, що найчастіше зустрічається в складі гіперсульфованого хондроїтин сульфату.

препарати на основі гепарину дуже часто використовують у сучасній медичній практиці, перш за все для профілактики і лікування тромбозів, а також як антикоагулянт при хірургічному втручанні, гемодіалізі [1,2,4]. Однак частіше застосовують не сам гепарин, а продукти його часткової деполімеризації – так званий низькомолекулярний гепарин (НМГ). Для одержання НМГ гепарин піддають гідролізу в лужних умовах або за присутності ен-

зимів – гепариназ. У результаті отримують суміш олігосахаридів, ланцюги яких мають середню молекулярну масу близько 5 Кда. НМГ проявляє таку саму антикоагулювальну і тромболітичну активність, що й природний (нефракціонований) гепарин, але має кращий терапевтичний індекс і дозволяє регулювати процес коагуляції більш ефективно, ніж нефракціонований гепарин.

У процесі виробництва НМГ, зокрема при лужному гідролізі бензилового естеру гепарину зі слизової оболонки кишечника свиней,

відбувається 6-О-десульфування залишків глікозаміну в тих молекулах, полімерні ланцюги яких закінчуються 6-О-сульфованими глікозаміновими залишками. У результаті десульфування утворюються так звані "1,6-ангідро"-похідні олігосахаридів, які містять фрагмент, схематично зображений на рисунку 1 Б. За різними даними, зразки НМГ можуть містити від 15 до 20 мольних відсотків сполук, що мають "1,6-ангідро"-фрагменти на відновлювальних кінцях їх ланцюгів [6].

Останнім часом медики і науковці, які мають справу з гепарином, стурбовані наявністю в деяких зразках домішок, що при певному їх вмісті можуть викликати вкрай небезпечну реакцію в пацієнтів. Інтенсивні дослідження дозволили ідентифікувати ці домішки і встановити, з якими з них можуть бути пов'язані небажані явища. Зокрема встановлено, що небезпечні алергічні реакції в пацієнтів викликані домішкою гіперсульфованого хондроїтин сульфату – іншого глікозаміноглікану, будова якого характеризується наявністю тетрасульфованого дисахаридного залишку, що складається із залишку глюкуронової кислоти, з'єднаної з N-ацетилгалактозаміном (рис. 1В).

Таким чином, НМГ є складною сумішшю різних сполук, у тому числі похідних олігосахаридів, які в медичних препаратах є небажаними і повинні бути виявлені в НМГ перед його використанням. З огляду на це, зрозуміло, що розробка ефективних методів ідентифікації НМГ, виявлення небажаних домішок в ньому є надзвичайно актуальним завданням. Однак склад НМГ, олігомерна будова його компонентів роблять аналіз дуже непростим. Метою даної роботи була адаптація доступного і швидкого методу дослідження – ЯМР – до вирішення завдання з ідентифікації НМГ та виявлення в ньому небажаної домішки гіперсульфованого хондроїтин сульфату.

Аналіз літератури показав, що чистота зразків гепарину або наявність у ньому домішки гіперсульфованого хондроїтин сульфату може бути підтверджена методом ЯМР [3, 5]. Зокрема, характеристичними є хімічні зсуви сигналів ацетильних груп у спектрах ПМР: для НМГ спостерігали синглет у ділянці 2,04 м.ч., а домішка гіперсульфованого хондроїтин сульфату давала в спектрі ПМР сигнал при 2,16 м.ч. Відрізнялись також хімічні зсуви сигналів ацетильних груп НМГ та домішки в спектрі ^{13}C -ЯМР. Особливо показовими та характеристичними були кореляційні піки у двовимірних спектрах HSQC і HMBC. Хоча вказані відмінності в спектральних характеристиках НМГ та домішки в

ньому є достатніми для виявлення забруднених зразків, аналітичні методики не можна назвати ідеальними та зручними для експрес-аналізів. Спектри реєструють в оксиді дейтерію (D_2O), і через наявність сольватаційних ефектів та складність стандартизації шкали значення хімічних зсувів сигналів ацетильних груп може варіюватися, а це може призвести до хибних висновків про чистоту препаратів. Реєстрація спектрів ^{13}C -ЯМР, а тим більше двовимірних спектрів HSQC та HMBC, є тривалою (5-12 год), вона потребує значної кількості зразків (30-100 мг) та використання потужних приладів ЯМР (з робочою частотою не нижче 600 МГц для протонів). З огляду на це, ми вирішили перевірити ефективність двовимірної методики COSY-90 (з переднасиченням сигналу HOD) для ідентифікації НМГ та виявлення в ньому домішок гіперсульфованого хондроїтин сульфату. Перевага даної методики полягає в тому, що вона є чутливою, і, на відміну від експериментів, спектри HSQC та HMBC можна отримати навіть на спектрометрах з порівняно низькою робочою частотою і дуже швидко (протягом 40-50 хв). Саме таку різновидність COSY було вибрано, тому що вона дозволяє пригнічувати інтенсивний сигнал HOD, який неминуче присутній у спектрах, знятих в D_2O .

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для дослідження було взято зразок діючої речовини препарату "Фленокс" – еноксапарин натрію сс.S20070501, S20070502, S20070504 (виробник ВАР "Фармак"). Як стандартний препарат використовували стандарт низькомолекулярного гепарину ВР СRS #H0185000 с.5. Гіперсульфований хондроїтин сульфат отримано хімічним шляхом за описаною в літературі методикою [3]. Кожний зразок у кількості 20 мг розчиняли в 0,5 мл дейтерооксиду (98 ат. %D), та знімали одно- і двовимірні спектри ЯМР, застосовуючи стандартний набір програм, на спектрометрі Bruker Avance 500 з робочою частотою 499,9 МГц для протонів при 25 °С. Хімічні зсуви реєстрували в м.ч. відносно сигналу ^1H -ЯМР CHD_2OD як стандарту. Обробку спектрів проводили з використанням пакета програм TOPSPIN.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нарисунку 2 наведено спектри ПМР стандартного зразка НМГ, діючої речовини препарату "Фленокс" та зразка гіперсульфованого хондроїтин сульфату.

В опублікованій науковій літературі запропоновано використовувати спектри ПМР для

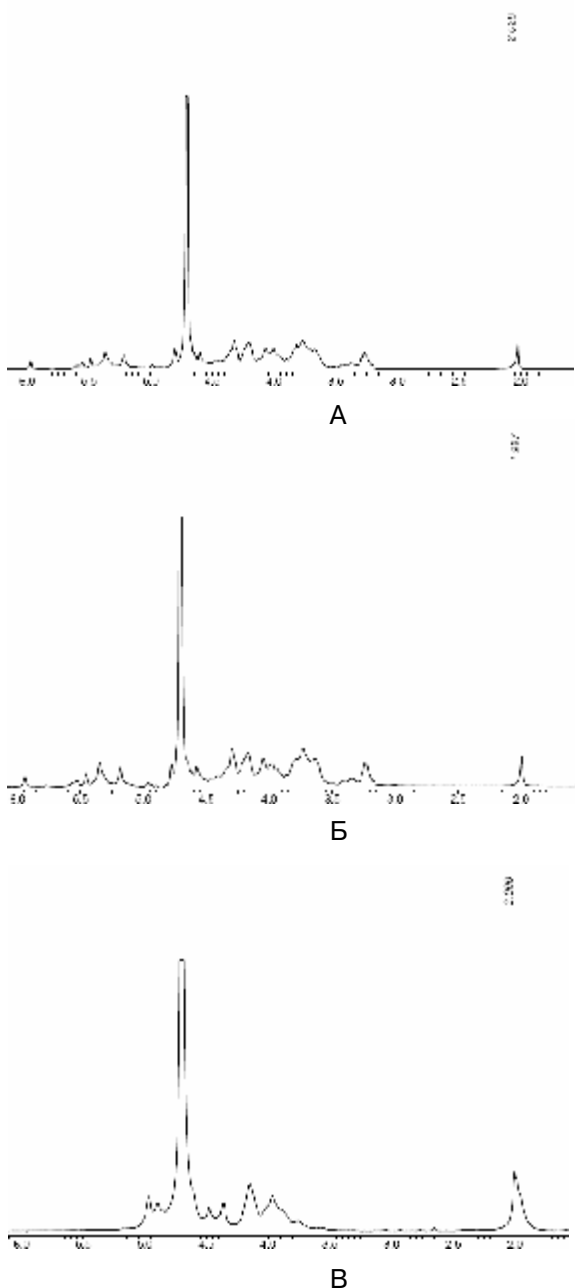


Рис. 2. А – спектр ПМР стандартного зразка НМГ; Б – спектр ПМР діючої речовини препарату “Фленокс”; В – спектр ПМР зразка гіперсульфованого хондроїтин сульфату.

ідентифікації НМГ, а домішку в ньому гіперсульфованого хондроїтин сульфату виявляти за характерним для нього сигналом ацетильних груп [3]. Літературні дослідження проводили на приладі з високою робочою частотою (600 МГц для протонів). Як видно зі спектрів ПМР, наведених на рисунку 2, знятих на приладі з меншою робочою частотою (400 МГц), зробити висновок про те, чи є домішка гіперсульфованого хондроїтин сульфату, скажімо, у діючій речовині препарату “Фленокс”, важ-

ко, оскільки сигнали ацетильних груп (~2 м.ч.) обох зразків знаходяться близько. Це наслідок того, що спектри зняті на приладі з порівняно низькою робочою частотою, а сигнали досить широкі. Очевидною є необхідність розробки методики, адаптованої до приладів з низькою робочою частотою, доступніших в Україні. Тому нами були проведені експерименти COSY-90 з переднасищенням сигналу HOD всіх зразків, а також зразка, приготовленого шляхом змішування діючої речовини препарату “Фленокс” та гіперсульфованого хондроїтин сульфату. Вимірювання спектра COSY-90 є таким же простим у виконанні й невимогливим до часу та кількості зразка, як і вимірювання звичайного спектра ПМР. Отримані спектри зображено на рисунку 3. По-перше, слід зауважити, що спектр COSY-90 стандартного зразка (не показаний) та спектр діючої речовини препарату “Фленокс” (рис. 3А) є ідентичними, що дозволяє ідентифікувати останній. По-друге, аналіз спектра COSY-90 гіперсульфованого хондроїтин сульфату (рис. 3Б) дає можливість виявити групу кореляційних піків, розміщених у ділянці, в якій немає кореляційних піків у спектрі COSY-90 діючої речовини препарату “Фленокс” (рис. 3А) і стандартного зразка НМГ. Це кореляції 4,4-5,0 м.ч. (показані стрілочкою на рисунку 3Б), які, згідно з літературними даними, відповідають протонам GlcрA H-1/H-2, GlcрA H-2/H-3 та GlcрA H-3/H-4. Важливо, що піки є достатньо інтенсивними, тому саме їх ми пропонуємо використовувати в аналізі зразків НМГ з метою виявлення домішки гіперсульфованого хондроїтин сульфату. Ефективність саме такого аналізу демонструє спектр COSY-90 суміші діючої речовини препарату “Фленокс” та гіперсульфованого хондроїтин сульфату у ваговому співвідношенні 5:1 (рис. 3В). Відповідні кореляції добре видно у спектрі (показані стрілочкою), що дозволяє однозначно зробити висновок про забрудненість зразка НМГ гіперсульфованим хондроїтин сульфатом. Якщо використати стандартні зразки НМГ та гіперсульфованого хондроїтин сульфату для калібрування інтегральних інтенсивностей піків, то застосування методики COSY-90 дасть змогу кількісно оцінити вміст домішки в зразках НМГ промислового виробництва.

ВИСНОВОК. Двовимірна методика COSY-90 з переднасищенням сигналу HOD є швидким і ефективним методом ідентифікації НМГ та виявлення в ньому домішки гіперсульфованого хондроїтин сульфату.

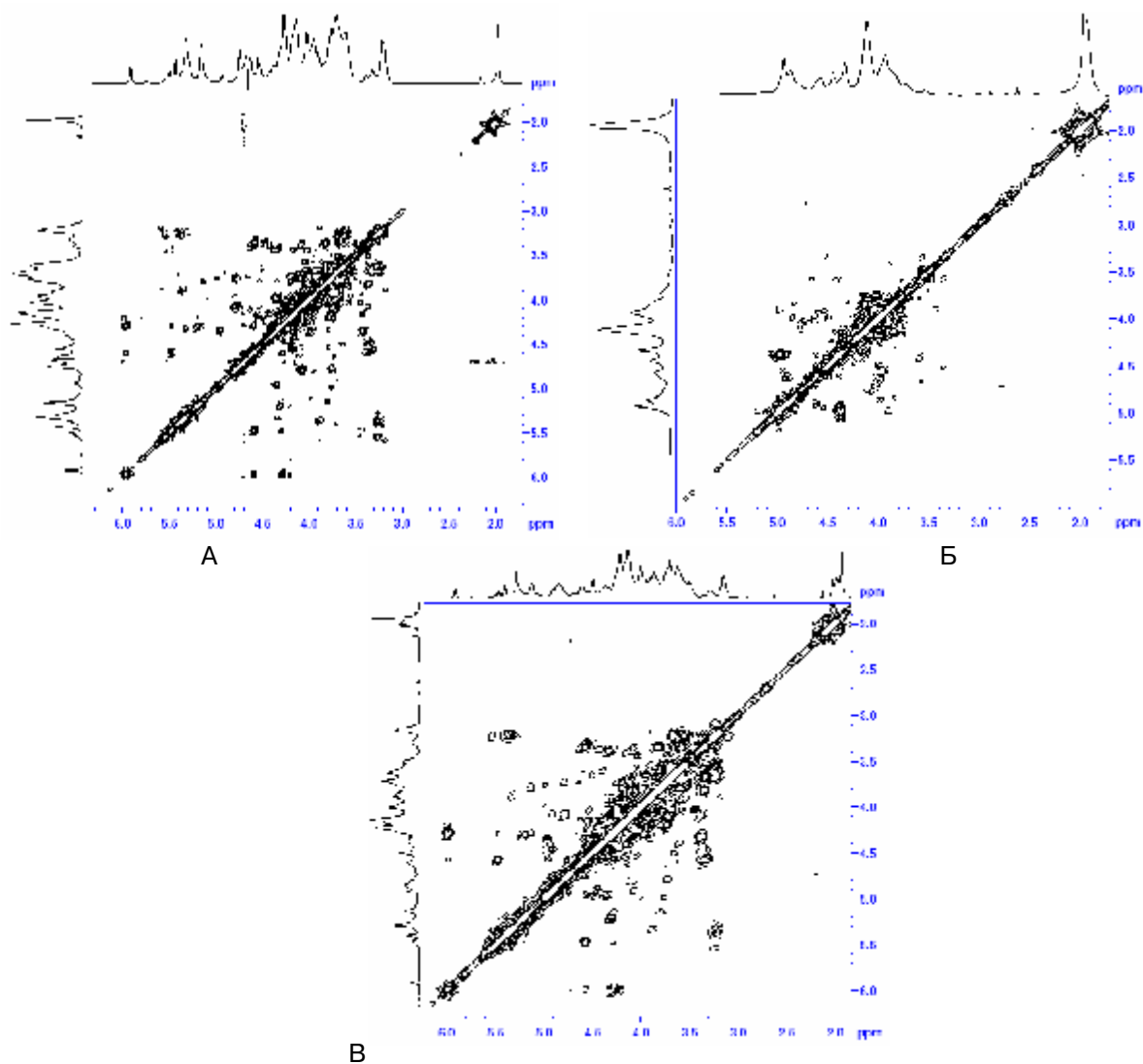


Рис. 3. Спектри COSY-90 з переднасищенням сигналу HOD: А – розчин діючої речовини препарату “Фленокс”; Б – розчин гіперсульфованого хондритин сульфату; В – розчин суміші діючої речовини препарату “Фленокс” та гіперсульфованого хондритин сульфату (у ваговому співвідношенні 5:1).

ЛІТЕРАТУРА

1. Boda Z., Laslo P., Reito L. et al. Low molecular weight heparin as thromboprophylaxis in familial thrombophilia during the whole period of pregnancy // *Thromb. Haemost.* – 1996. – **76**, № 1. – P. 128-131.
2. Fischer K.G. Essentials of anticoagulation in hemodialysis // *Hemodial. Int.* – 2007. – **11**. – P. 178-189.
3. Guerrini M., Beccati D., Shriver Z. et al. Oversulfated chondroitin sulfate is a contaminant in heparin associated with adverse clinical events // *Nature Biotechnology.* – 2008. – **26**. – P. 669-675.
4. Lepor N.E. Anticoagulation for acute coronary syndromes: from heparin to direct thrombin inhibitors // *Rev. Cardiovasc. Med.* – 2007. – **8** (suppl. 3). – P. S9-S17.
5. Maruyama T., Toida T., Imanari T. et al. Conformational changes and anticoagulant activity of chondroitin sulfate following its O-sulfonation // *Carbohydr. Res.* – 1998. – **306**. – P. 35-43.
6. Method for quantitatively determining specific constituting heparins or low molecular weight heparins using HPLC // *International Patent Application WO/2005/090409.*

ЭКСПРЕСС-ИДЕНТИФИКАЦИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНА И ОБНАРУЖЕНИЕ В НЕМ ПРИМЕСИ ГИПЕРСУЛЬФИРОВАННОГО ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТА МЕТОДОМ ЯМР

В.В. Половинко, Г.И. Борщевский, И.В. Комаров

ОАО "ФАРМАК", КИЕВ
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

Резюме

Разработана удобная и эффективная экспресс-методика идентификации низкомолекулярного гепарина и обнаружения в нем примеси гиперсульфированного хондроитин сульфата с помощью двумерной методики COSY (с преднасыщением сигнала HOD). Преимущество методики состоит в том, что анализ можно проводить с небольшим количеством образца (примерно 20 мг), быстро (анализ длится 40-60 мин) и на приборах с относительно низким значением рабочей частоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: низкомолекулярный гепарин, гиперсульфированный хондроитин сульфат, ядерный магнитный резонанс, двумерная методика COSY.

EXPRESS NMR IDENTIFICATION OF LOW-MOLECULAR HEPARIN AND ITS DETERMINATION OF IMPURITY, HYPERSULFATED CHONDROITIN SULFATE

V.V. Polovynko, H.I. Borshchovsky, I.V. Komarov

IE "FARMAK", KYIV
KYIV NATIONAL UNIVERSITY BY TARAS SHEVCHENKO

Summary

An efficient and convenient procedure for expedient identification of low-molecular heparin and its impurity, hypersulfated chondroitin sulfate, by two-dimensional technique COSY was developed. Advantages of the procedure consist in low quantity of the sample used for the analysis (approximately 20 mg), short overall time (40-60 min) and possibility to carry out the analysis on spectrometers with relatively low working frequency.

KEY WORDS: low-molecular heparin, hypoversulfated chondroitin sulfate, nuclear magnetic resonance, two-dimensional technique COSY.

Отримано 3.09.2009 р.

Адреса для листування: В.В. Половинко, ВАТ "Фармак", вул. Фрунзе, 63, Київ, 04080, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Журнал "Хімія та фармація" – т. 11, ¹ 3, 2009

25

ВПЛИВ ЦЕРЕБРОКУРИНУ, ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА ЕМОКСИПІНУ НА ГЛУТАТІОНОВИЙ ЛАНЦЮГ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

С.В. Павлов, І.Ф. Беленічев

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті автори на підставі власних експериментальних даних показали здатність глутатіонової системи в умовах ішемії головного мозку пригнічувати формування мітохондріальної дисфункції, а також динаміку змін показників тіол-дисульфідної системи в різні строки ішемії. Продемонстровано здатність тіотриазоліну, емоксипіну та цереброкуруину позитивно впливати на патобіохімічні зміни в головному мозку ішемізованих тварин, що проявляється у збільшенні активності ферментів антиоксидантної та тіол-дисульфідної систем, встановленні тіол-дисульфідної рівноваги та запобіганні розвитку мітохондріальної дисфункції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемія головного мозку, тіол-дисульфідна система, мітохондріальна дисфункція, нейропротектори.

ВСТУП. Дослідження молекулярних аспектів розвитку церебральної ішемії, а також розробка ефективних методів фармакологічної корекції цього патологічного стану не втрачають своєї актуальності. Відомо, що нейродеструкція ішемічного генезу супроводжується розвитком патобіохімічних каскадів у нейроні, а саме: інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення, дисбалансу тіол-дисульфідної системи, енергетичного дефіциту [6, 9]. За деякими даними, співвідношення показників тіол-дисульфідної системи в умовах ішемії головного мозку є визначальними факторами в розвитку мітохондріальної дисфункції та, як наслідок, загибелі клітини. Однак отримані дані не систематизовані, деякі аспекти суперечливі [5, 10].

На сьогодні як нейропротектори з антиоксидантним механізмом дії широко застосовують тіотриазолін та емоксипін [2, 14]. Останнім часом з'явилися дані про високу нейропротекторну, антиоксидантну та нейрорегулюючу активність пептидних лікарських засобів, особливим успіхом серед них користується вітчизняний препарат "Цереброкурин" [7, 16].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Порухнення мозкового кровообігу моделювали шляхом перев'язки сонної артерії у монгольських пісчанок (*Meriones unculatus*) масою 65-70 г. Досліджували препарати вводили внутрішньоочере-

винно 1 раз на добу протягом всього експерименту в таких концентраціях: тіотриазолін – 100 мг/кг; емоксипін – 50 мг/кг; цереброкурин – 0,01 мл/кг [2, 7, 14].

Біохімічні дослідження головного мозку проводили через 12, 24 год та 4 доби після операції. Виділення мітохондріальної та цитоплазматичної фракцій мозку здійснювали методом диференційного центрифугування за Мак-Ільвейном і Роднайтом [15]. Досліджували такі показники: рівень активності ключового ферменту антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (СОД); активність ензимів глутатіонового циклу – глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГПР). Стан глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи вивчали за концентрацією відновленого (Глут. в) та окисненого (Глут. о) глутатіону, а також цистеїну (Cys), метіоніну (Met); відновлених SH-груп та окиснених тіолів [8, 17]. Крім того, визначали концентрацію маркерів окисного пошкодження білків – альдегідфенілгідрозонів (АФГ), кетонфенілгідрозонів (КФГ) та нітротирозину [11].

Функціональну активність мітохондрій фіксували за реєстрацією відкриття мітохондріальної пори при 540 нм (A_{540}), а також за збереженням заряду мітохондрій, виділених з головного мозку експериментальних тварин, у різні строки ішемії [3].

Від'ємність між групами визначали статистично з використанням параметричного t-критерію Стьюдента за допомогою програми

“Biostat” та MS Excell, вірогідність від’ємностей – із застосуванням критерію χ^2 . Вірогідними вважали такі, рівень значимості яких був більшим 95 % ($p \leq 0,05$) [12].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході проведення експериментальних досліджень встановлено, що через 12 год експериментальної ішемії спостерігається статистично вірогідне, в середньому на 10 %, підвищення активності СОД та, в середньому на 25 %, ГР і ГПР як у цитозольній, так і в мітохондріальній фракціях (табл. 1).

Починаючи з 24 год експерименту, спостерігається зниження активності вищезазначених ферментів з максимальними значеннями, які реєструють на 4 добу ішемії (табл. 1). Має місце суттєвіше пригнічення СОД порівняно з більш резистентними ферментами глутатіонового циклу. Також реєструють зміни глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи за рахунок зменшення її відновлених інтермедіатів (значно знижується рівень цитозольного та мітохондріального глутатіону, цистеїну, метіоніну) та зростання окиснених –S-S-груп, окисненого глутатіону та гомоцистеїну.

Як відомо, глутатіон відіграє важливу роль в забезпеченні антиоксидантного захисту нейрона, бере участь в убіквітиніліруванні клітин, що дегенерують, та інактивації цитотоксичних карбонільних дериватів. Крім того, проявляє антиапоптичну дію, а також є нейротрансмітером, модулюючи активність NMDA-рецепторів, обмежує їх гіперполяризацію за рахунок протекції SH-груп останніх [1, 4, 13]. Таким чином, отримані дані свідчать про компенсаторну активацію ферментів глутатіонового циклу через 12 год після оклюзії сонної артерії на тлі первинного дефіциту глутатіону та інших інтермедіатів тіол-дисульфідної системи. Напруженість цих процесів досить велика, оскільки в ці терміни реєструють накопичення маркерів окисного стресу: АФГ – на 50 %, КФГ – 60 %, нітротирозину – на 45 % (табл. 2). На тлі максимального вираження ішемічних змін в мозку суттєво проявляється дефіцит мітохондріального і цитозольного глутатіону та інших відновлених тіолів на фоні збільшення сполук, які мають –S-S-групи, окисненого глутатіону й, особливо, гомоцистеїну. Ці процеси реєструють при паралельному зниженні активності ГПР і ГР у середньому на 50 %. Підвищення рівня гомоцистеїну в тканинах головного мозку експериментальних тварин на 24 год та, особливо, на 4 добу ішемії призводить до посилення окисного та нітрозуючого стресу, збільшення метилування нуклеїнових кислот, зниження

трансляційної активності мітохондрій, посилення апоптозу, модифікації глутамінових рецепторів [4].

Біохімічний аналіз мітохондріальної фракції показав, що мітохондрії більш стійкі до окисного стресу, що пояснюється вищою активністю системи мітохондріальних ферментів антиоксидантного захисту (СОД, ГР, ГПР) та наявністю двох “ліній оборони” від АФК. З таблиці 2 видно, що на 12 год ішемії в мітохондріальній фракції не відбувається статистично вірогідних змін окисненого глутатіону, АФГ, КФГ та нітротирозину.

Генерація АФК з дефіцитом такого важливого компонента тіол-дисульфідної системи, як глутатіон, на початковому етапі призводить до окиснення білків дихального ланцюга за рахунок окиснення NADH коензимом Q під дією ферменту NADH-KoQ-редуктази із супутнім утворенням супероксиду. На цьому етапі внаслідок підвищення активності СОД, ГР та ГПР на 12 год експерименту мітохондрії позбавляються від АФК, які потрапили в матрикс. У подальшому, зі збільшенням концентрації АФК, відбувається окиснення SH-груп АТФ/ADP-антипортера, білка внутрішньої мембрани мітохондрій, що призводить до перетворення цього переносника аденіннуклеотидів у неспецифічний канал, проникний для низькомолекулярних сполук. Утворюється мітохондріальна пора. З рисунка 1 видно, що на 24 год та 4 добу експерименту спостерігаються відкриття мітохондріальної пори і зменшення мітохондріального заряду. Відкриття пори перетворює мітохондрії з “електростанції” у “топку” субстратів окиснення без утворення АТФ. У зв’язку з відкриттям пори, мітохондрія стає проникною для іонів K^+ та Cl^- , і тільки білки зумовлюють її осмотичний тиск. Внаслідок цього матрикс набухає, гребені внутрішньої мембрани “розправляються”, а зовнішня мембрана, площа якої менша площі внутрішньої, розривається, і в цитозоль виходять білки апоптозу, розвивається так званий “мітоптоз”, який ініціює апоптичну загибель всієї нейрональної клітини [4, 18].

Крім того, зменшення заряду мітохондрії (рис. 1) робить неможливим імпорт мітохондрію білків-попередників, що синтезуються в цитозолі, оскільки цей процес являє собою електрофоретичне переміщення позитивно зарядженої лідерної послідовності білка з цитозолу у матрикс, який заряджений негативно.

Пригнічення мітохондріального дихання призводить до зменшення заряду мітохондрій, що може ініціювати апоптичний процес.

Суттєве зниження активності СОД, починаючи з 12 год після розвитку ішемії мозку,

Таблиця 1 – Вплив тіотриазоліну, емоксипіну, цереброкуруину на активність ферментів антиоксидантної та тіол-дисульфідної систем

Показник	Група тварин				
	Інтакт	Контроль	ТТЗ	ЦРК	Емокс
12 год					
СОД цит, ум. од./хв · г тканини	148,7±0,15	166,8±0,17*	174,2±0,23*	168,7±0,19*	172,7±0,18*
СОД mit, ум. од./хв · г тканини	163,4±0,2	182,3±0,16*	187,4±0,11*	180,3±0,18*	186,2±0,17*
Кат цит, ум. од./хв · г тканини	15,8±0,67	18,8±0,43*	19,0±0,6*	19,2±0,4*	18,1±0,22*
Кат mit, ум. од./хв · г тканини	16,8±0,21	21,5±0,23*	22,4±0,52*	22,9±0,26*	22,2±0,34*
ГР цит, ум. од./хв · г тканини	15,3±0,76	20,7±0,13*	23,4±0,2*	22,6±0,16*	23,6±0,16*
ГР mit, ум. од./хв · г тканини	19,8±0,6	25,2±0,13*	26,7±0,14*	25,8±0,11*	26,3±0,15*
ГПР цит, ум. од./хв · г тканини	60,3±1,8	73,5±1,3*	72,8±1,1*	74,3±0,9*	73,6±1,7*
ГПР mit, ум. од./хв · г тканини	66,7±1,4	78,6±1,2*	77,6±0,19*	76,8±0,16*	78,1±1,1*
24 год					
СОД цит, ум. од./хв · г тканини	151,5±0,17	123,2±0,2	137,8±0,14	146,8±0,11**	140,5±0,24·
СОД mit, ум. од./хв · г тканини	167,2±0,32	137,3±0,31	148,9±0,24	153,2±0,12**	146,8±0,41·
Кат цит, ум. од./хв · г тканини	15,3±0,12	9,2±0,14	13,1±0,2	15,8±0,3**	3,6±0,17
Кат mit, ум. од./хв · г тканини	16,5±0,19	12,1±0,13	14,6±0,23	15,5±0,3**	14,8±0,13
ГР цит, ум. од./хв · г тканини	16,3±0,44	8,1±0,2	14,0±0,12	15,6±0,17**	14,2±0,12
ГР mit, ум. од./хв · г тканини	20,2±0,3	14,4±0,12	17,8±0,2	18,8±0,14**	17,0±0,13
ГПР цит, ум. од./хв · г тканини	62,6±1,3	37,2±1,7	53,2±1,4	57,1±1,3**	54,2±1,3
ГПР mit, ум. од./хв · г тканини	66,8±2,3	30,6±1,8	56,9±1,6	62,1±1,3**	57,8±1,4
4 доба					
СОД цит, ум. од./хв · г тканини	150,6±0,12	68,9±0,92	*91,1±1,6	134,2±1,1**	110,5±0,78
СОД mit, ум. од./хв · г тканини	164,7±0,16	76,4±0,56	118,8±0,67	145,8±0,43**	129,9±0,27
Кат цит, ум. од./хв · г тканини	15,0±0,23	6,2±0,11	9,1±0,11	13,4±0,15**	11,1±0,17
Кат mit, ум. од./хв · г тканини	16,6±0,2	7,3±0,16	12,2±0,13	15,1±0,1**	13,9±0,18
ГР цит, ум. од./хв · г тканини	16,8±0,27	6,2±0,21	8,7±0,25	14,8±0,26**	12,2±0,12
ГР mit, ум. од./хв · г тканини	19,7±0,7	8,3±0,26	12,2±0,19	17,4±0,21**	15,5±0,16
ГПР цит, ум. од./хв · г тканини	61,8±1,1	27,3±1,4	45,8±1,6	55,3±1,2**	50,5±1,1
ГПР mit, ум. од./хв · г тканини	65,3±1,8	31,2±1,4	53,9±1,8	60,8±1,5**	56,6±1,6

Примітка. Тут і в наступній таблиці: цит – цитозольна фракція; mit – мітохондріальна фракція; ТТЗ – тіотриазолін; ЦРК – цереброкуруин; Емокс – емоксипін; * – $p \leq 0,05$ відносно інтакту; ** – $p \leq 0,05$ відносно тіотриазоліну та емоксипіну.

Таблиця 2 – Вплив тіотриазоліну, емоксипіну, цереброкуруину на деякі показники тіол-дисульфідної системи

Показник	Група тварин				
	Інтакт	Контроль	ТТЗ	ЦРК	Емокс
12 годин					
1	2	3	4	5	6
Глутатіон відн. цит, мкм/г тканини	2,4±0,11	1,6±0,13	1,87±0,14	2,0±0,12	1,7±0,13*
Глутатіон відн. mit, мкм/г тканини	3,5±0,2	2,9±0,11	3,0±0,14	3,2±0,14	2,9±0,11
Глутатіон окисн. цит, мкм/г тканини	0,11±0,17	0,16±0,13	0,17±0,18	0,13±0,1	0,14±0,18
Глутатіон окисн. mit, мкм/г тканини	0,085±0,06	0,11±0,1	0,1±0,045	0,09±0,02	0,11±0,03
Cis цит, мкм/г тканини	40,2±1,2	34,2±1,8	35,2±2,4	38,4±1,6	35,2±1,2
Cis mit, мкм/г тканини	47,2±1,6	41,1±1,4	42,2±1,6	43,5±1,7	42,2±1,5
Met цит, мкм/г тканини	31,6±1,1	25,6±1,5	26,4±1,3	28,2±1,7	25,8±1,5
Met mit, мкм/г тканини	35,7±1,12	31,8±1,8	32,6±1,3	35,4±1,7	33,2±1,2
Gcis цит, мкм/г тканини	6,7±0,21	8,7±0,18	8,3±0,12	7,6±0,17	8,2±0,16
Gcis mit, мкм/г тканини	4,3±0,17	6,1±0,12	5,8±0,15	5,1±0,11	5,7±0,13
SH цит, мм/г білка	16,1±0,13	12,1±0,15	13,4±0,11	14,7±0,9	12,8±0,52
SH mit, мм/г білка	19,8±0,11	14,8±0,23	15,6±0,13	17,4±0,45	14,9±0,23
SS цит, мм/г білка	4,1±0,21	6,7±0,11	5,6±0,24	4,8±0,17	5,3±0,1
SS mit, мм/г білка	3,2±0,14	5,8±0,13	5,3±0,2	4,7±0,13	5,0±0,21
АФГ цит, ум. од./г білка	7,1±0,15	9,6±0,2	8,5±0,18	7,7±0,2	8,2±0,14
АФГ mit, ум. од./г білка	4,6±0,14	5,8±0,25	5,2±0,1	4,9±0,13	5,4±0,18
КФГ цит, ум. од./г білка	2,1±0,18	3,6±0,15	3,3±0,11	3,0±0,18	3,4±0,13
КФГ mit, ум. од./г білка	0,65±0,087	0,7±0,056	0,68±0,034	0,66±0,033	0,69±0,046
Нітротирозин цит, нмоль/мл	0,34±0,12	0,41±0,16	0,36±0,11	0,33±0,17	0,37±0,13
Нітротирозин mit, нмоль/мл	0,29±0,087	0,31±0,1	0,32±0,14	0,3±0,079	0,33±0,16
24 год					
Глутатіон відн. цит, мкм/г тканини	2,8±0,12	1,1±0,12	1,7±0,15	2,0±0,17**	1,9±0,11
Глутатіон відн. mit, мкм/г тканини	3,9±0,17	1,89±0,16	2,4±0,11	3,2±0,12**	2,8±0,12
Глутатіон окисн. цит, мкм/г тканини	0,17±0,15	0,36±0,18	0,3±0,12	0,24±0,16**	0,27±0,13
Глутатіон окисн. mit, мкм/г тканини	0,091±0,04	0,21±0,14	0,16±0,13	0,1±0,16**	0,14±0,18
Cis цит, мкм/г тканини	41,7±1,6	20,2±1,3	28,6±1,45	35,2±1,67**	30,7±1,2
Cis mit, мкм/г тканини	48,9±1,54	24,9±1,33	33,3±1,6	40,5±1,32**	37,8±1,88
Met цит, мкм/г тканини	30,2±1,3	12,7±1,2	21,7±1,25	26,5±1,24**	23,8±1,45
Met mit, мкм/г тканини	38,3±1,6	18,9±1,3	26,8±1,4	31,6±1,5**	28,2±1,11

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

1	2	3	4	5	6
Gcis цит, мкм/г тканини	5,6±0,18	12,8±0,13	8,4±0,22	6,8±0,1**	7,8±0,17
Gcis mit мкм/г тканини	4,7±0,13	9,8±0,15	7,6±0,23	7,2±0,18	7,5±0,16
SH цит, мм/г білка	15,8±0,12	8,9±0,18	11,8±0,3	13,2±0,11**	12,1±0,2
SH mit, мм/г білка	19,3±0,21	10,8±0,27	13,6±0,13	16,7±0,26**	14,6±0,17
SS цит, мм/г білка	3,7±0,25	8,9±0,15	6,7±0,23	4,8±0,2**	5,7±0,26
SS mit, мм/г білка	2,9±0,17	6,4±0,11	5,3±0,17	4,2±0,14**	5,0±0,13
АФГ цит, ум. од./г білка	7,4±0,21	15,4±0,23	13,8±0,19	10,5±0,27**	12,9±0,2
АФГ mit, ум. од./г білка	5,7±0,18	11,8±0,23	9,1±0,2	7,4±0,15**	8,6±0,11
КФГ цит, ум. од./г білка	1,8±0,17	5,9±0,12	4,5±0,17	3,2±0,13**	4,0±0,19
КФГ mit, ум. од./г білка	0,76±0,065 7	1,4±0,11	1,2±0,089	0,89±0,068**	0,98±0,034
Нітротирозин цит, нмоль/мл	0,39±0,15	0,47±0,18	0,44±0,1	0,41±0,13**	0,45±0,15
Нітротирозин mit, нмоль/мл	0,31±0,12	0,42±0,18	0,36±0,14	0,33±0,12**	0,35±0,13
4 доба					
Глутатіон відн. цит, мкм/г тканини	2,6±0,14	0,78±0,065	1,1±0,078	1,8±0,12**	1,5±0,17
Глутатіон відн. mit, мкм/г тканини	3,6±0,12	1,1±0,11	1,6±0,15	2,1±0,13**	1,8±0,11
Глутатіон окисн. цит, мкм/г тканини	0,15±0,13	0,47±0,15	0,34±0,21	0,23±0,18**	0,3±0,2
Глутатіон окисн. mit, мкм/г тканини	0,1±0,21	0,62±0,27	0,45±0,15	0,32±0,2**	0,37±0,24
Cis цит, мкм/г тканини	38,3±1,4	10,8±1,34	18,7±1,24	26,7±1,4**	20,8±1,35
Cis mit, мкм/г тканини	45,6±1,31	12,6±1,16	21,8±1,54	31,2±1,61**	24,8±1,41
Met цит, мкм/г тканини	33,6±1,17	8,6±0,58	18,9±0,76	24,8±1,13**	19,7±0,88
Met mit, мкм/г /тканини	39,8±1,51	15,8±1,16	21,5±0,98	30,0±1,25**	26,8±0,69
Gcis цит, мкм/г тканини	4,9±0,13	20,6±0,68	14,8±0,45	9,8±0,45**	13,3±0,11
Gcis mit, мкм/г тканини	4,6±0,17	18,6±0,5	12,2±0,34	7,8±0,16**	10,8±0,2
SH цит, мм/г білка	16,2±0,27	5,6±0,14	10,4±0,54	14,2±0,13**	11,8±0,2
SH mit, мм/г білка	18,1±0,18	7,6±0,45	12,5±0,23	16,1±0,1**	13,2±0,43
SS цит, мм/г білка	3,5±0,18	15,3±0,23	10,4±0,2	7,4±0,17**	9,5±0,21
SS mit, мм/г білка	2,7±0,12	12,3±0,19	8,7±0,43	5,2±0,32**	7,4±0,2
АФГ цит, ум. од./г білка	7,3±0,18	21,6±0,45	17,3±0,33	12,1±0,23**	15,4±0,41
АФГ mit, ум. од./г білка	4,8±0,16	18,5±0,31	14,3±0,2	8,9±0,65	11,8±0,28
КФГ цит, ум. од./г білка	1,76±0,12	8,9±0,32	6,5±0,18	3,8±0,32	5,2±0,23
КФГ mit, ум. од./г білка	0,89±0,068	4,7±0,21	2,1±0,15	1,8±0,13	2,3±0,16
Нітротирозин цит, нмоль/мл	0,32±0,18	0,65±0,21	0,5±0,21	0,41±0,19**	0,49±0,2
Нітротирозин mit, нмоль/мл	0,25±0,13	0,51±0,24	0,46±0,18	0,31±0,16**	0,4±0,25

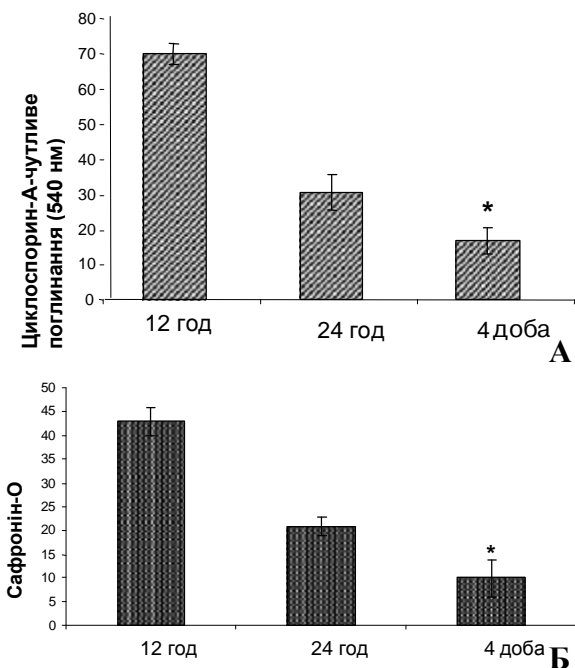


Рис. 1. Відкриття циклоспорин-А-чутливої пори (А) та зміна заряду мітохондрії (Б) у різні строки експерименту.

можливо, зумовлене здатністю пероксонітриду значно пригнічувати активність Cu-Zn-SOD та Mn-SOD за рахунок нітрування її тирозинового залишку, а також зв'язування з міддю та зміни її валентності [4].

Пероксонітрид, який є специфічним агентом, пригнічує мітохондріальне дихання при ішемії, взаємодіє із залізом активних центрів ключових ферментів, а також нітрузує по S-, N-, O-елементах тіольні, фенольні, гідроксильні та аміногрупи білкової частини цих ферментів, а при більш вираженому прояві нітрузуючого стресу призводить до їх незворотного окиснення.

Таким чином, в умовах ішемії антиоксидантні ферменти другого ешелону захисту нейрона – ферменти глутатіонової системи – є більш стійкими до окисного стресу і, ймовірно, відіграють ключову роль в запобіганні розвитку мітохондріальної дисфункції.

Призначення досліджуваних сполук призводило до підвищення активності SOD, GP та GPR. З таблиці 1 видно, що найактивнішим препаратом був цереброкурин, який підвищував активність SOD на 24 год експерименту більш ніж на 34 % у мітохондріальній фракції та на 47 % у цитозольній фракції; GP – на 24 і 53 % відповідно.

Позитивний вплив досліджуваних препаратів відмічено і на стан компонентів глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи, що проявлялось у підвищенні кількості відновленого глутатіону, цистеїну, метіоніну та зниженні вмісту гомоцистеїну, АФГ, КФГ, нітротирозину в головному мозку тварин з порушенням моз-

кового кровообігу на 24 год та 4 добу експерименту. Дія всіх досліджуваних препаратів була односпрямованою, однак активність цереброкуруину була найвищою.

Такий вплив досліджуваних препаратів на показники глутатіонового ланцюга цитозольної та мітохондріальної фракцій ішемізованого мозку пояснює їх мітопротекторну дію. Так, тіотриазолін, емоксипін та цереброкурин знижували відкриття циклоспорин-А-чутливої пори як на 24 год, так і на 4 добу експерименту, а також сприяли збереженню заряду в суспензії мітохондрій (рис. 2).

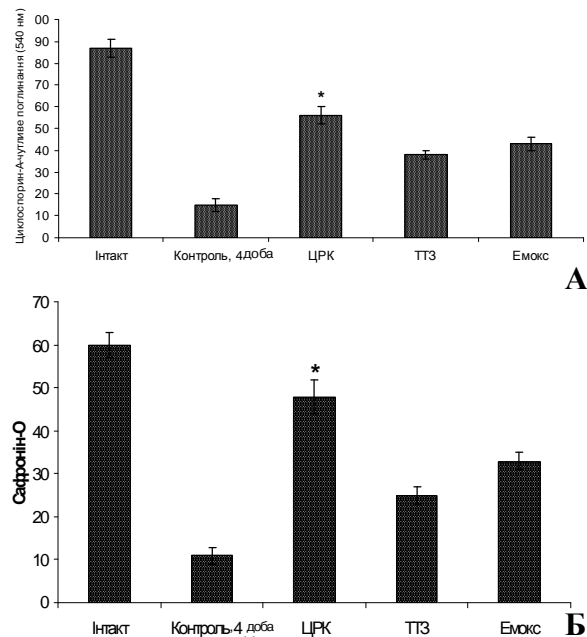


Рис. 2. Вплив досліджуваних препаратів на відкриття мітохондріальної пори (А), збереження заряду мітохондрій (Б) на 4 добу гострого порушення мозкового кровообігу.

Примітка: ЦРК – цереброкурин; ТТЗ – тіотриазолін; Емокс – емоксипін; * – $p \leq 0,05$ відносно тіотриазоліну та емоксипіну.

Виявлена нами активність тіотриазоліну в умовах церебральної ішемії пояснюється наявністю в його хімічній структурі тіольної групи, яка, на нашу думку, конкурує із SH-групами цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій за АФК та пероксонітрид, утворює з останнім стійкі комплекси [2, 4]. Це дозволяє запобігти відкриттю мітохондріальної пори в умовах окисного та нітрузуючого стресу.

Емоксипін є "пасткою" АФК, пригнічує активність індукційної NO-синтази, зменшує утворення нітротирозину [4, 14]. Крім того, підвищення відновленого глутатіону зумовлене стимулювальним впливом емоксипіну на мітохондріальне дихання в тканинах головного мозку, накопиченням у клітині НАДФ-Н та

інших макроергів, необхідних для синтезу відновленого глутатіону, та позитивним впливом на активність ГПО.

Механізм дії цереброкуруину, на нашу думку, пов'язаний з його здатністю впливати на геном клітини в умовах ішемії, зокрема препарат підвищує експресію глобального фактора транскрипції AP-1, підсилює синтез ключових ферментів антиоксидантного захисту – каталази і СОД. Крім того, за деякими даними, що збігаються з результатами наших попередніх досліджень, цереброкуруин модулює активність мітохондріальної NO-синтази, обмежуючи нітрозуючий стрес, внаслідок чого зменшує прояв мітохондріальної дисфункції [4, 7].

ВИСНОВКИ. 1. Глутатіонова система є важливим ланцюгом тіол-дисульфідної системи

мозку, більш стійка до окисного стресу, в зв'язку з чим здатна регулювати активність мітохондрій, а в умовах ішемії – пригнічувати формування мітохондріальної дисфункції.

2. Нейропротектори (цереброкуруин, тіотриазолін, емоксипін) з різним механізмом дії (антиоксидантний, енерготропний, нейрорегуляторний) здатні різною мірою забезпечувати стійкість деяких показників глутатіонової системи мозку до ішемії, впливаючи тим самим на формування мітохондріальної дисфункції.

3. Цереброкуруин – нейропротектор з вираженою нейрорегуляторною дією, що забезпечує найбільш повне відновлення активності глутатіонової системи та тіол-дисульфідної рівноваги, зменшуючи вираження мітохондріальної дисфункції, проявляє найбільш виражений нейропротекторний ефект.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. α -липоевая – дегидролипоевая кислота – активная биоантиоксидантная и биорегуляторная система // Укр біохім. журн. – 2005. – **77**, № 3. – С. 19-26.

2. Беленичев И.Ф. Фармакокоррекция патобиохимических нарушений мозговой ткани в период моделирования острой ишемии и реперфузии мозговой ткани некоторыми производными 1,2,4-триазола // Акт. питання фармац. та мед. науки і практ. – Запоріжжя. – 1998. – Вип. 2. – **2**. – С. 10-16.

3. Беленичев И.Ф., Колесник Ю.М., Павлов С.В. и др. Митохондриальная дисфункция при церебральной патологии. Нейропротекция Цереброкуруином // Международный неврологический журнал. – 2008. – № 4 (20). – С. 23-29.

4. Беленичев И.Ф., Черний В.И., Колесник Ю.М., Павлов С.В. Рациональная нейропротекция. – Донецк: Издательский дом Заславский, 2009. – 260 с.

5. Беленичев И.Ф., Губський Ю.І., Левицький Є.Л. та ін. Антиоксидантна система захисту організму (огляд літератури) // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 3. – С. 24-31.

6. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России // Инсульт. – 2003. – № 9. – С. 3-7.

7. Ена Л.М., Кузнецова С.М., Кузнецов В.Н. и др. Материалы экспериментальных и клинических испытаний препарата "Цереброкуруин®". – К., 1997. – 115 с.

8. Захарова Н.Б., Рубин В.И. Тонкослойная хромотография нуклеотидов эритроцитов на пластинках "Силуфол" // Лаб. дело. – 1980. – № 12. – С. 735-738.

9. Зозуля І.С., Боброва В.І. Гострі порушення мозкового кровообігу як критичні стани в невропатології // Укр. неврол. журн. – 2006. – № 1. – С. 5-8.

10. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Саприн А.Н. Участие тио-, перокси- и глутаредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах // Успехи биологической химии. – 2008. – **48**. – С. 319-358.

11. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: Медпресс-информ, 2004. – 329 с.

12. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабиц П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К.: МОРИОН, 2002. – 640 с.

13. Лю Б.Н. Кислородно-перекисная концепция апоптоза и возможные варианты его механизма // Усп. совр. биологии. – 2001. – **121**, № 5. – С. 488-501.

14. Полевик И.В. Церебропротективные эффекты эмоксипина при моделировании мозговых сосудистых расстройств // Фармакол. вісн. – 1999. – № 5. – С. 29-33.

15. Прохорова М.И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.

16. Сергиенко А.Н. Применение препарата "Цереброкуруин®" при лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний сетчатки // Новости медицины и фармации. – 2001. – № 12 (97). – С. 8.

17. Чевари Сьюб Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах в клетке и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678-681.

18. Carmody R.J., Cotter T.G. Signalling apoptosis a radical approach // Redox Rep. – 2001. – № 6. – P. 77-90.

ВЛИЯНИЕ ЦЕРЕБРОКУРИНА, ТИОТРИАЗОЛИНА И ЭМОКСИПИНА НА ГЛУТАТИОНОВОЕ ЗВЕНО ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

С.В. Павлов, И.Ф. Беленичев
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В статье авторы на основании собственных экспериментальных данных показали способность глутатионовой системы в условиях ишемии головного мозга блокировать формирование митохондриальной дисфункции, а также динамику изменений показателей тиол-дисульфидной системы в различные сроки ишемии. Продемонстрирована способность тiotриазолина, эмоксипина, цереброкурина позитивно влиять на патобioхимические изменения в головном мозге ишемизированных животных, что проявляется в повышении активности ферментов антиоксидантной и тиол-дисульфидной систем, восстановлении тиол-дисульфидного равновесия, предупреждении развития митохондриальной дисфункции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемия головного мозга, тиол-дисульфидная система, митохондриальная дисфункция, нейропротекторы.

INFLUENCE CEREBROCURIN, TIOTRIAZOLIN AND EMOXIPIN ON GLUTATIONOVOE LINK TIOL-DISULFIDNOJ OF SYSTEM OF THE BRAIN IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL INFRINGEMENT OF BRAIN BLOOD CIRCULATION

S.V. Pavlov, I.F. Belenichev
ZAPOROZHYE STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

In article by authors on the basis of own experimental researches ability glutation systems in the conditions of a brain ischemia is shown to block formation mitochondrial a time. By the spent biochemical researches dynamics of changes of indicators tiol-disulfid systems in various terms of an ischemia is shown. Ability Tiotriazolina, Enoxipina is shown, Cerebrocurina positively to influence on patobiochemical changes in a brain ischemic animals that is shown in increase of activity of enzymes antioxidants and tiol-disulfidn systems and restoration tiol-disulfid balance.

KEY WORDS: a brain ischemia, tiol-disulfidnaja system, mitochondrial dysfunction, neuroprotection.

Отримано 21.09.2009 р.

Адреса для листування: С.В. Павлов, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Історія публікації – 11, 1 3, 2009

АКТИВНІСТЬ ТИРОЗИНОВОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ ЗА УМОВ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ ПРИ ПУХЛИННОМУ ПРОЦЕСІ

Я.Б. Раєцька, Є.О. Торгалю, Л.І. Остапченко, Є.А. Строщка,
О.О. Моргаєнко, С.Я. Мандрюк
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

Ефект опромінення на активність тирозинової кіннази був найбільш вираженим саме в пухлинних клітинах, де її рівень був мінімальним порівняно з селезінкою та тимусом. Можна припустити, що радіотерапія пухлини є ефективною для корекції аномально високого рівня тирозинкіназної активності в злоякісних клітинах, а також у лімфоїдних органах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тирозинава протеїнкінназа, рентгенівське опромінення, карцинома Герена.

ВСТУП. В аспекті наших досліджень особливу увагу привертає тирозинава протеїнкінназа. Рецепторні тирозинові протеїнкіннази являють собою ключову ланку сигнальної трансдукції епідермального ростового фактора (ЕРФ) – одного з найбільш відомих цитокінів, із широко показаними онкогенними властивостями. Незважаючи на те, що в клітинах гематопоетичного ряду було виявлено експресію цитокінів родини ЕРФ та їх рецепторів, роль ЕРФ у цих клітинах за умов онкологічного процесу не є ще досконально вивченою. Крім цього, виявлено суттєві зміни у функціонуванні тирозинних протеїнкінназ у лімфоїдних клітинах за впливу опромінення [6]. Дослідження цих ферментів викликає певний інтерес, тому що тирозинні протеїнкіннази залучені до таких важливих метаболічних процесів, як регуляція ростових функцій, передачі внутрішньоклітинних сигналів, імунної відповіді тощо [10]. Активність тирозинних протеїнкінназ дуже часто асоціюється з проліферацією пухлин [8]. Встановлено, що тирозинкіназна активність у клітинах зростає під час пухлинного процесу [3, 9].

Отже, доцільно дослідити активність тирозинової протеїнкіннази за умов пухлинного процесу при дії опромінення – з метою встановлення, чи є радіотерапія ефективною для корекції аномального рівня активності цього ферменту. Причому цікаво визначити активність тирозинової кіннази як у пухлинних

клітинах, так і в клітинах здорових органів щурів, зокрема лімфоцитах селезінки і тимуса. У попередніх дослідженнях нашої лабораторії доведено, що вплив опромінення на тирозинкіназну активність був найбільш вираженим саме в цих клітинах [4].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В досліді використували білих лабораторних щурів-самців масою (130±10) г (розведення віварію УНДІОР), яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Тваринам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20 % суспензії пухлинних клітин на 0,9 % розчині NaCl, отриманих від щура-донора за методикою [1, 5]. При дослідженні молекулярних механізмів трансдукції сигналу пухлину на 8-му добу після прищеплення піддавали локальному рентгенівському опроміненню в терапевтичних дозах на апараті РУМ-17 за таких умов: напруга - 180 кВ, сила струму - 10 мА, фільтри - 0,5 мм Cu +1,0 мм Al, потужність дози - 123 Р/хв, шкірнофокусна відстань - 25 см. Тварин декапітували через 1, 3 та 7 діб після локального опромінення. Визначення активності тирозинних протеїнкінназ проводили за рекомендаціями [7]. Активність досліджуваних протеїнкінназ визначали за включенням $^{32}\text{P}_n$ із (γ - ^{32}P /-АТФ) до білкових субстратів фосфатрансферазної реакції. Радіоактивність вимірювали в толуольному сцинтиляторі ЖС-107, на лічильнику "Delta-300" (США). Питому активність ферментів виражали в пмоль $^{32}\text{P}_n$ за 1 хв на 1 мг білка.

© Я.Б. Раєцька, Є.О. Торгалю, Л.І. Остапченко, Є.А. Строщка, О.О. Моргаєнко, С.Я. Мандрюк, 2009.

І ааè-іà öïï іÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

Експериментальні дані обробляли загально-прийнятими методами статистики [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У зв'язку з викладеним вище викликає зацікавленість дослідження тирозинової протеїнкінази при пухлинному процесі за дії опромінення. Активність тирозинової протеїнкінази в досліджуваних тканинах підвищувалась за відсутності опромінення і знижувалась за його дії, що показано на рисунку 1.

Так, у селезінці активність знижувалась поступово, і на 7 добу після опромінення вона зменшилась у 2 рази. У тканинах тимуса активність тирозинової кінази зазнавала зменшення після опромінення, і її рівень був мінімальним на 7 добу (зменшився в 2,5 рази). У пухлинній тканині вона знизилась у 2 рази порівняно з контролем, знижувалась поступово, що було найбільш вираженим на 7 добу (зменшилась в 4 рази).

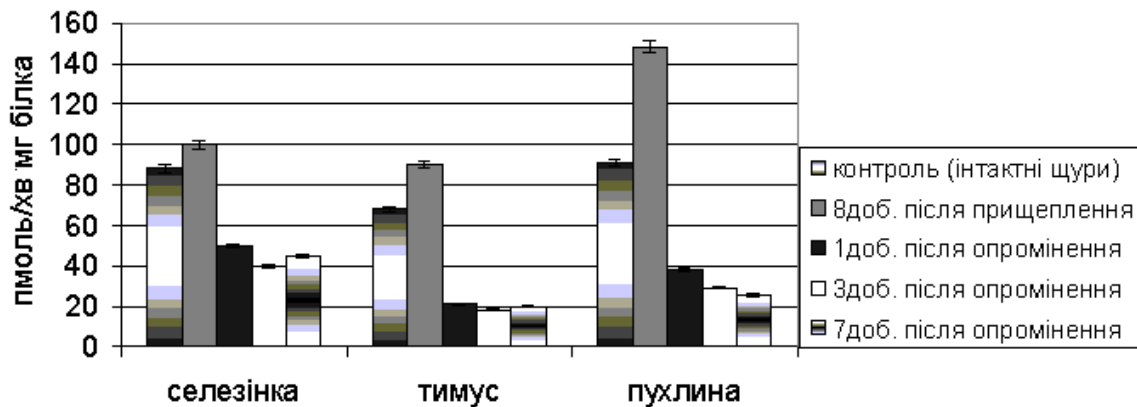


Рис. 1. Активність тирозинової протеїнкінази в тканинах селезінки, тимуса, пухлини щурів до і після опромінення пухлини.

Особливий інтерес викликають дані стосовно активності тирозинової протеїнкінази за умов радіаційного впливу при пухлинному процесі. В усіх досліджуваних клітинах активність цього ферменту після прищеплення карциноми Герена зростала, що було найбільш вираженим саме у пухлинних клітинах. Отримані нами дані корелюють із даними літератури про збільшення тирозинкіназної активності за умов пухлинного процесу [3]. Після опромінення тирозинкіназна активність зазнавала різкого зменшення як по відношен-

ню до інтактних тварин, так і стосовно неопромінених тварин із пухлиною.

ВИСНОВКИ. Отже, ефект опромінення на активність тирозинової кінази був найбільш вираженим саме в пухлинних клітинах, де її рівень був мінімальним порівняно з селезінкою та тимусом. Можна припустити, що радіотерапія пухлини є ефективною для корекції аномально високого рівня тирозинкіназної активності в злоякісних клітинах, а також у лімфоїдних органах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Пероксидное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. – 256 с.
2. Брандт З. Статистические методы анализа наблюдений. – М.: Мир, 1975. – 312 с.
3. Кірпенко Т.О., Остапченко Л.І., Кучеренко М.Є. Вплив опромінення на активність тирозинових протеїнкіназ в лімфоїдних клітинах селезінки та тимуса щурів // Доповіді НАН України. – 1999. – № 6. – С. 173-176.

4. Кірпенко Т.О., Остапченко Л.І., Шаповал І.М. Вивчення фосфорилування білкових субстратів тирозинними протеїнкіназами лімфоцитів селезінки щурів під впливом променевого й онкологічного факторів // Вісник КУ. – 1999. – № 29. – С. 32-34.
5. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, Б.В. Западнюк, Е.А. Захария и др. – К.: Вища шк., 1983. – 383 с.

6. Apweiler R., Attwood T.K., Bairoch A., et al. The InterPro database, an integrated documentation resource for protein families, domains and functional sites // Nucleic Acids Res. – 2001. – **29**. – P. 37-40.

7. Boutin J. C. Tyrosine protein kinase assays // J. Chromatogr. – 1996. – **684**. – P. 179-199.

8. Grayson C., Reid S.N.M., Ellis J.A., Rutherford A., Sowden J.C., Yates J.R.W., Farber D.B., Trump D. Retinoschisin, the X-linked retinoschisis protein, is a

secreted photoreceptor protein, and is expressed and secreted by differentiated Weri cells // Human Mol. Genet. – 2000. – **9**. – P. 1873-1879.

9. Haverkamp S, Wassle H. Immunocytochemical analysis of the mouse retina // J. Comp. Neurol. – 2000. – **424**. – P. 1-23.

10. Marin O., Yaron A., Bagri A., Tessier-Lavigne M., Rubenstein J.L.R. Sorting of striatal and cortical interneurons regulated by semaphorin-neuropilin interactions. // Science. – 2001. – **293**. – P. 872-875.

АКТИВНОСТЬ ТИРОЗИНОВОЙ ПРОТЕИНКИНАЗЫ В УСЛОВИЯХ РАДИАЦИОННОГО ВЛИЯНИЯ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ ПРОЦЕССЕ

Я.Б. Раецкая, Е.А. Торгалo, Л.И. Остапченко, Е.А. Стрoцкая, А.А. Моргаенко, С.Я. Мандрьк
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

Резюме

Эффект облучения на активность тирозинoвой киназы был наиболее выраженным именно в опухолевых клетках, где ее уровень был минимальным сравнительно с селезенкой и тимусом. Можно допустить, что радиотерапия опухоли является эффективной для коррекции аномально высокого уровня тирозинкиназной активности в злокачественных клетках, а также в лимфоидных органах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тирозинoвая протеинкиназа, рентгеновское облучение, карцинома Герена.

TYROSINE PROTEIN KINASE ACTIVITY UNDER CONDITIONS OF RADIATION INFLUENCE AT TUMOR PROCESS

Ya.B. Rayetska, Ye.O. Torhalo, L.I. Ostapchenko, Ye.A. Strotska, O.O. Morhayenko, S.Ya. Mandryk

KYIV NATIONAL UNIVERSITY BY TARAS SHEVCHENKO

Summary

Radiation effect on tyrosine kinase activity was the most significant in tumor cells, in which its level was the lowest in comparing with spleen and thymus. We can suggest that tumor radiotherapy is effective for correction of abnormally high level of tyrosine kinase activity in tumor cells and lymphoid organs.

KEY WORDS: tyrosine protein kinase, X-radiation, Gurin's carcinoma.

Отримано 17.09.2009 р.

Адреса для листування: Я.Б. Раецька, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, просп. Глушкова, 12/2, Київ, Україна.

ОНТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ В ЖІНОК З НОВОУТВОРЕННЯМИ ЕНДОМЕТРІЯ

І.Л. Вовчук¹, Ю.В. Фурман²
 ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА¹
 КУРСЬКИЙ ІНСТИТУТ СОЦІАЛЬНОЇ ОСВІТИ²

Досліджували активність протеолітичних ферментів та їх інгібіторів у зразках ендометрія жінок. Встановлено, що за онкопроцесу збільшується позитивний зв'язок між активністю ферментів та віком жінок і достеменно змінюється характер взаємозв'язку між ферментами ендометрія.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протеолітичні ферменти, інгібітор трипсину, ендометрій, пухлина.

ВСТУП. Здатність пухлинних клітин до інвазії реалізується завдяки протеолітичним ферментам: цистеїновим [15], сериновим [17, 18], аспарагіновим [11, 12, 14], металопротеїназам [7, 10] та пептидазам [7], які деградують сполучнотканинні білки. Агресивність пухлинних клітин новоутворень різного походження та їх здатність до метастазування характеризуються підвищенням активності протеаз, рівень яких регулюється специфічними ендогенними інгібіторами [10–12, 14, 15, 18].

Метою дослідження було вивчення онтогенетичних особливостей взаємодії компонентів системи протеолізу за онкопатології ендометрія у жінок.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували гомогенати неураженої тканини та зразки ново-

утворень ендометрія, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування. У супернатанті тканини визначали активність катепсинів D [6], B [4, 9] та L [2, 5], трипсиноподібної протеїнази (ТП) [1, 13] та її ендогенного інгібітора (ІТ) [13], матриксної металопротеїнази-2 (ММП-2) [8], карбоксипептидази А (КА) [8], карбоксипептидази В (КВ) [8] та вміст білка [16]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою критерію Стьюдента та кореляційного аналізу [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено (табл. 1), що у жінок без ураження ендометрія підвищення активності ММП-2 ($r=0,89$) та КА ($r=0,99$) і зниження активності ІТ позитивно корелюють з віком ($r=-0,77$).

Таблиця 1 – Онтогенетичні особливості та взаємозв'язок компонентів системи протеолізу в ендометрії у жінок без новоутворень

Параметр	Вік	Катепсин D	Катепсин L	Катепсин B	ТП	ІТ	ММП-2	КА	КВ
Вік									
Катепсин D	0,00								
Катепсин L	0,04	0,66							
Катепсин B	-0,06	0,65	-0,14						
ТП	-0,14	0,92	0,88	0,32					
ІТ	-0,77	0,58	0,54	0,23	0,73				
ММП-2	0,89	-0,32	-0,41	-0,03	-0,53	-0,96			
КА	0,99	-0,15	0,00	-0,21	-0,24	-0,83	0,90		
КВ	0,55	-0,73	-0,77	-0,19	-0,90	-0,95	0,85	0,61	

Високий коефіцієнт кореляції між ММП-2 та КА і КВ ($r=0,90$ та $r=0,85$) може свідчити про

© І.Л. Вовчук, Ю.В. Фурман, 2009.

сумісну дію цих ферментів. Встановлено негативний взаємозв'язок ІТ з ММП-2 ($r=-0,96$), КА ($r=-0,83$), КВ ($r=-0,96$), ММП-2 з КА ($r=-0,53$) та ТП ($r=-0,90$). Ці результати не підтверджу-

Історія дослідження – 11, 13, 2009

ють гіпотезу про участь трипсиноподібних протеїназ у регуляції активності даних ферментів та можуть вказувати на тканиноспецифічність. Між лізосомальним катепсином D та катепсинами B і L існує позитивний зв'язок ($r = 0,66$ і $r = 0,65$) та негативний – з KB ($r = -0,73$).

За злорякісного процесу значно підвищився коефіцієнт кореляції між віком жінок та активністю ТП (з $r = -0,14$ у жінок без новоутворень до $r = 0,57$). Порівняно з неураженим ендометрієм взаємозв'язок активності катепсинів D, L, B з віком мав позитивний характер (табл. 2).

Таблиця 2 – **Онтогенетичні особливості та взаємозв'язок компонентів системи протеолізу в ендометрії жінок з новоутвореннями**

Параметр	Вік	Катепсин D	Катепсин L	Катепсин B	ТП	ІТ	ММП-2	КА	KB
Вік									
Катепсин D	0,26								
Катепсин L	-0,44	0,74							
Катепсин B	0,69	0,57	-0,06						
ТП	0,67	0,73	0,12	0,98					
ІТ	-0,86	-0,72	-0,08	-0,79	-0,86				
ММП-2	-0,34	0,80	0,91	0,26	0,40	-0,17			
КА	-0,02	0,16	-0,03	0,64	0,55	-0,05	0,37		
KB	-0,38	0,59	0,68	0,38	0,43	-0,02	0,91	0,71	

За наявності пухлинного процесу взаємозв'язок між ТП та віком змінився з негативного на позитивний ($r = -0,14$ та $r = 0,67$), а взаємозв'язок між ММП-2, КА, KB та віком, навпаки, змінився з позитивного на негативний. У даному випадку отримані результати підтверджують гіпотезу про центральну роль трипсиноподібних протеїназ у процесі активації зимогенів та концепцію каскадної активації протеаз.

Порівняно з неураженою тканиною за злорякісного процесу в ендометрії змінився характер взаємодії досліджуваних ферментів (табл. 2).

Так, негативний характер взаємозв'язку ІТ з катепсинами D, L, B та ТП змінився на позитивний (табл. 2). Навпаки, взаємозв'язок ТП з ММП-2, КА та KB з негативного змінився на позитивний. Взаємодія ТП та ІТ змінилася з позитивної на негативну, а катепсину L з ММП-2 та KB – з негативної на позитивну.

ВИСНОВОК. Кореляційний аналіз взаємодії компонентів системи протеолізу свідчить про достеменні зміни у взаємозв'язку ферментів ендометрія жінок без новоутворень та за наявності злорякісних новоутворень ендометрія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы в клинической диагностике // Ферменты в лабораторной диагностике. – М, 1973. – **1**. – С. 37-39.
2. Вовчук И.Л., Чернадчук С.С. Активность тканевых катепсин-L-подобных протеиназ у женщин с онкопатологией тела матки // Укр. биохим. журн. – 2004. – № 2. – С. 56-60.
3. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1967. – 326 с.
4. Чернадчук С.С., Вовчук И.Л. Активность катепсина B в опухолевой ткани репродуктивных органов женщин // Ученые записки Таврического национального университета. Серия: "Биология". – 2003. – **16** (55), № 2 – С. 202-207.
5. Черная В.И., Рева А.Д. Активность катепсина H в мозге и опухолях мозга человека // Укр. биохим. журн. – 1989. – **61**, № 5. – С. 47-50.
6. Anson M.L., Mirsky A.E. The estimation of pepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. – 1932. – **16**, № 1. – P. 59-67.
7. Arolas J.L., Vendrell J., Aviles F.X., Fricker L.D. Metalloproteinases: emerging drug targets in biomedicine // Curr. Pharm. Des. – 2007. – **13**, № 4. – P. 349-366.
8. Bradshaw R.S., Ericsson L.H., Walsh K.A., Neurath H. The amino acid sequence of bovine carboxypeptidase A // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1969. – **63**, № 4. – P. 1389-1394.

9. Erlanger B.F., Kokowsky N., Cohen W. The preparation endopeptidases of two new chromogenic substrates of trypsin // Arch. Biochem. Biophys. – 1961. – № 95. – P. 271-278.
10. Graesslin O., Cortez A., Fauvet R. et al. Metalloproteinase-2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: a clinical-pathological correlation study // Ann. Oncol. – 2006. – **17**, № 4. – P. 637-645.
11. Ikeguchi M., Fukuda K., Oka S. et al. Clinicopathological significance of cathepsin D expression in gastric adenocarcinoma // Oncology. – 2001. – **61**, № 1. – P. 71-78.
12. Kanber Y., Demirbag N.R., Sam A.D., Aydin N. Cathepsin D expression in colorectal adenocarcinomas and adenomas // Int. J. Biol. Markers. – 2002. – **17**, № 3. – P. 165-168.
13. Kunitz M.I. The determination of kaseine in the blood and urine // Biol. Chem. – 1946. – **164**. – P. 563-571.
14. Leto G., Tumminello F.M., Crescimanno M. Cathepsin D expression levels in nongynecological solid tumors: clinical and therapeutic implications // Clin. Exp. Metastasis. – 2004. – **21**, № 2. – P. 91-106.
15. Liu J., Guo Q., Chen B. Cathepsin B and its interacting proteins, bikunin and TSRC1, correlate with TNF-induced apoptosis of ovarian cancer cells OV-90 // FEBS Lett. – 2006. – **9**, № 580. – P. 245-250.
16. Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Fan A.Z., Randol R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265-275.
17. Nyberg P., Moilanen M., Paju A. MMP-9 activation by tumor trypsin-2 enhances in vivo invasion of human tongue carcinoma cells // J. Dent. Res. – 2002. – **81**, № 12. – P. 831-835.
18. Paju A., Vartiainen J., Haglund C. Expression of trypsinogen-1, trypsinogen-2 and tumor-associated trypsin inhibitor in ovarian cancer: prognostic study on tissue // Clin. Cancer Res. – 2004. – **10**, № 14. – P. 4761-4768.

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА У ЖЕНЩИН С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ

И.Л. Вовчук¹, Ю.В. Фурман²

ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.И. МЕЧНИКОВА¹
КУРСКИЙ ИНСТИТУТ СОЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ²

Резюме

Исследовали активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в образцах эндометрия женщин. Установлено, что при онкопроцессе увеличивается положительная связь между активностью ферментов и возрастом женщин и коренным образом изменяется характер взаимосвязи между ферментами эндометрия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеолитические ферменты, ингибитор трипсина, эндометрий, опухоль.

ONTOGENETIC FEATURES OF INTERACTION OF COMPONENTS OF PROTEOLYTIC SYSTEM AT WOMEN WITH TUMORS OF ENDOMETRIUM

I.L. Vovchuk¹, Yu.V. Furman²

ODESSA NATIONAL UNIVERSITY BY I.I. MECHNYKOV¹
KURSK INSTITUTE OF SOCIAL EDUCATION²

Summary

The activity of proteolytic enzymes and their inhibitors in endometrial samples of women has been investigated. It has established that the positive communication between activity of enzymes and age of women increases at the oncoprocess and character of interrelation between endometrial enzymes radically changes.

KEY WORDS: proteolytic enzymes, inhibitor of trypsin, endometrium, tumor.

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: І.Л. Вовчук, Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, пров. Шампанський, 2, Одеса, 65058, Україна.

І ааè-íà òï ÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

РОЗВИТОК ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ІНГІБІТОРА ПРОТОННОЇ ПОМПИ

А.М. Манько, К.С. Непорада

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

Омепразоліндукована гіпергастринемія призводить до таких патологічних змін: підсилення окисної модифікації білків, збільшення колагенолітичної активності, рівня оксипроліну та середніх молекул.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонт, омепразол, гіпергастринемія.

ВСТУП. Серед класичних гормонів шлунково-кишкового тракту гастрин є одним із найважливіших регуляторних пептидів [6, 13]. Його відносять до пептидів так званої APUD-системи (Amines Precursors Uptake and Decarboxylation). У наш час їх нараховується близько 30. Клітини APUD-системи розміщені дифузно у слизовій оболонці шлунка, тонкої кишки, підшлункової залози і є навіть у нейронах. Гастрин належить до класичних гормонів шлунково-кишкового тракту поряд із секретинном та холецистокініном [11]. Як відомо, він синтезується G-клітинами пілоруса шлунка [12, 17] у вигляді прогормону прогастрину (під впливом соляної кислоти трансформується у гастрин) та у невеликій кількості синтезується у слизовій оболонці тонкої кишки [8], володіє циркулюючим транспортом та чинить вплив на секрецію соляної кислоти, моторику шлунка і трофіку [3, 4, 16]. Гастрин являє собою найбільш сильний стимулятор парієтальних і, меншою мірою, головних клітин [1]. Синтезується під впливом медіатора ацетилхоліну [15] і чинить свій регулюючий вплив на секреторні процеси двома шляхами – прямим та опосередкованим [10]. Гастрин стимулює синтез та виділення пепсиногенів головними клітинами і слизу – додатковими. Вплив на ці клітини також проявляється двома формами відповіді: швидкою та повільною. Швидка відповідь полягає у стимуляції процесу секреції, а повільна – синтезу. Останній шлях призводить до поступового збільшення виходу протеаз і закінчується до 6-ї год. Гастрин стимулює також оновлення слизової оболонки шлунка (так проявляється його вплив на тро-

фіку) [14]. Утворення самого гастрину, крім вагуса, стимулюється під впливом продуктів гідролізу білків, алкоголю, екстрактивних речовин їжі.

Загальновідомим є зв'язок розвитку патологічних змін у тканинах пародонта за умов захворювань шлунково-кишкового тракту [9]. Інгібітори протонної помпи застосовують для лікування кислотозалежних захворювань, таких, як виразкова хвороба шлунка, гастро-езофагеальна рефлюксна хвороба та ін. Основним механізмом дії цих препаратів є блокування кінцевого етапу шлункової секреції, зокрема пригнічення активності H^+/K^+ -АТФ-ази. Довготривале використання даних препаратів має недолік, оскільки викликає пригнічення секреції хлористоводневої кислоти, що спричиняє підвищення вмісту гастрину. Відкритим залишається питання, які зміни виникають в органах порожнини рота, зокрема в тканинах пародонта, за умов гіпергастринемії.

Метою дослідження було вивчити вплив омепразоліндукованої гіпергастринемії на тканини пародонта у щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 27 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин було поділено на 2 групи. Щури 1-ї групи слугували контролем. Їм упродовж 28 днів вводили 0,2 мл води для ін'єкцій (плацебо). У щурів 2-ї групи вивчали вплив 28-денного введення тваринам омепразолу ("Sigma", USA) в дозі 14 мг/кг внутрішньоочеревинно. Препарат розчиняли в 0,2 мл води для ін'єкцій. У тканинах пародонта визначали активність

© А.М. Манько, К.С. Непорада, 2009.

матричної металопротеїнази-I (ММП-I, істинна колагеназа) за методом I. Mandl. et al. (1953), окисну модифікацію білків [5], вміст вільного оксипроліну [7] та молекул середньої маси [2]. Евтаназію тварин здійснювали під уретановим наркозом. Після завершення експерименту робили забір крові для визначення концентрації гастрину в плазмі крові радіоімунологічним методом із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, UC" (USA). Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи склав (59±3,5) пг/мг порівняно з досліджуваними тваринами, яким вводили протягом 28 днів омепразол, – (170±90,7) пг/мг. Таким чином, тривале введення омепразолу викликає гіпергастринемію.

Отримані результати досліджень проаналізовано з використанням методів варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Основа тканин пародонта – сполучна тканина, фібрилярним компонентом якої є колаген. Індикатором колагенолізу є вільний оксипролін, оскільки гідроксильовання відбувається посттрансляційно. Нами встановлено, що під дією омепразоліндукованої гіпергастринемії відбувалося вірогідне зростання в 1,1 раза ($p < 0,05$) вільного оксипроліну в м'яких тканинах пародонта щурів порівняно з контролем (табл. 1). Отже, мала місце деструкція колагену сполучної тканини пародонта за умов гіпергастринемії. Як відомо, широкого спектра протеїнази не катаболізують колагенові білки. Головною протеїназою деструкції колагену є ММП-1. Нами встановлено, що за умов 28-денного введення омепразолу достовірно зростала в 1,07 раза ($p < 0,05$) активність ММП-1 в м'яких тканинах пародонта порівняно з контрольною групою тварин (табл. 1).

Таблиця 1 – Колагенолітична активність та вміст вільного оксипроліну в тканинах пародонта за умов тривалого введення омепразолу ($M \pm m$)

Показник	Група тварин	
	1. Контроль, (n=10)	2. Дослідна група, (n=17)
Колагенолітична активність, мкмоль/г/хв	2,59±0,04	2,76±0,04
p_{1-2}	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Вміст оксипроліну, мкмоль/г	5,63±0,12	6,15±0,20
p_{1-2}	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Таким чином, під дією гіпергастринемії в м'яких тканинах пародонта відбувалась деструкція колагенових білків за рахунок зростання активності ММП-1.

Універсальним механізмом пошкодження тканин під дією різних чинників є посилення вільнорадикального окиснення, яке призводить до окисної модифікації протеїнів. Нами

встановлено, що за умов омепразоліндукованої гіпергастринемії вміст окисномодифікованих протеїнів у м'яких тканинах пародонта зростає у 3,6 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин (табл. 2). Збільшення вмісту молекул середньої маси ($M_r = 500-5000$ Da) в 1,06 раза ($p < 0,05$) в тканинах пародонта свідчило про розвиток ендотоксемії (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст окисномодифікованих білків та молекул середньої маси в тканинах пародонта за умов довготривалого введення омепразолу ($M \pm m$)

Показник	Група тварин	
	1. Контроль, (n=10)	2. Дослідна група, (n=17)
Вміст окисномодифікованих білків, ум.од.	0,059±0,008	0,211±0,007
p_{1-2}	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Вміст молекул середньої маси, ум.од.	0,174±0,002	0,185±0,004
p_{1-2}	$p < 0,05$	$p < 0,05$

ВИСНОВОК. Під дією гіпергастринемії в тканинах пародонта виникають патологічні зміни, а саме: активація ММП-1, деструкція колагенових білків, посилення вільнорадикально-

го окиснення, про що свідчить зростання вмісту окисномодифікованих білків, а також збільшення кількості молекул середньої маси.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Смирнов В.М. Нормальная физиология: Учебник для студентов медицинских вузов. – М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2007. – 520 с.
2. Габриэлен Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 131-140.
3. Ганонг В.Ф. Физиология людини: Пер. з англ. – Львів: Бак, 2002. – 755 с.
4. Гжегоцький М.Р., Філімонов В.І., Петришин Ю.С. та ін. Физиология людини – К.: Книга Плюс, 2005. – 495 с.
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. и др. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Вопр. мед. хим. – 1995. – **41**, № 1. – С. 24-26.
6. Климов П.К. Пептиды и пищеварительная система. – Л.: Наука, 1983. – 272 с.
7. Непорада К.С. Спільні механізми розвитку патологічних змін в окремих відділах системи травлення: Автореф. ... дис. д-ра мед. наук. – К., 2004. – 36 с.
8. Судаков К.В. Нормальная физиология. – М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. – 920 с.
9. Тетянець С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1985. – № 1. – С. 61-62.
10. Філімонов В.І. Физиология людини в запитаннях і відповідях: Навчальний посібник: Пер. з укр. – Вінниця: Нова Книга, 2009. – 488 с.
11. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека: В 3 т. – Т. 3: Пер. с англ. – М.: Мир, 1996. – 198 с.
12. Fox S.I. Human Physiology – 8th ed.: Saunders, 2004. – 726 p.
13. Guyton A.C., Hall J.E. Textbook on Medical Physiology, 10th ed.: Saunders. – 2001. – 1120 p.
14. Johnson L.R. Regulation of gastrointestinal mucosal growth // Physiol. Rev. – 1988. – **68**. – P. 456-502.
15. Nicke B., Detjen K., Logsdon C.D. Muscarinic cholinergic receptors activate both inhibitory and stimulatory growth mechanisms in NIH3T3 cells // J. Biol. Chem. – 1999. – **274**. – P. 21701-21706.
16. Seeley R.R., Stephens T.D., Tate P. Essentials of Anatomy and Physiology: 3rd ed.: McGrawHill, 1999. – 630 p.
17. Varro A., Voronina S., Dockray G.J. Pathways of processing of the gastrin precursor in rat antral mucosa // J. Clin. Invest. – 1995. – **95**. – P. 1642-1649.

РАЗВИТИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ИНГИБИТОРА ПРОТОННОЙ ПОМПЫ

А.Н. Манько, К.С. Непорада

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

Омепразолиндуцированная гипергастринемия приводит к таким патологическим изменениям: усилению окислительной модификации белков, увеличению коллагенолитической активности, уровня оксипролина и средних молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонт, омепразол, гипергастринемия.

DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN PERIODONTIUM TISSUES UNDER CONDITIONS OF LONG ADMINISTRATION OF PROTON PUMP INHIBITOR

A.M. Manko, K.S. Neporada

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

Omeprazole-induced hypergastrinemia leads to the following metabolic disorders: intensification of protein oxidative modification, activation of collagenolytic activity, increasing of oxyproline and average molecules amount in periodontium.

KEY WORDS: periodontium, omeprazole, hypergastrinemia.

Отримано 8.09.2009 р.

Адреса для листування: А.М. Манько, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

І ааè÷íà öïï ÿÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

СТАТЕВІ ГОРМОНИ ЯК МОДУЛЯТОРИ СТАНУ ЗАХИСНИХ СИСТЕМ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ

Н.І. Волощук

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА

Виявлені статеві відмінності між самцями та самками щурів в адаптаційних можливостях ШКТ. У самок кількість ГАГ, активність СОД та вміст нітратів і нітритів були більшими, а вміст МДА та гастродуоденальна проникність для сахарози – меншими, ніж у самців. Тестостерон зменшував, а естрадіол підвищував захисні можливості СОШ. Старіння погіршувало резистентність шлунка та кишечника у тварин обох статей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: статеві відмінності, слизова оболонка шлунка, оксид азоту, оксидантно-антиоксидантна система, щури.

ВСТУП. Слизова оболонка шлунка та кишечника – одна з найтипівіших мішеней для небажаної дії лікарських засобів, в т.ч. анальгезуючих та протизапальних препаратів стероїдної та нестероїдної будови. До систем, які забезпечують резистентність слизової ШКТ до дії пошкоджуючих чинників, належать передепітеліальні фактори (слизисто-бікарбонатний фосфоліпідний “бар’єр”), епітеліальний “бар’єр” (поверхневі епітеліальні клітини, які щільно зв’язані між собою і продукують бікарбонати, слиз, фосфоліпіди, простагландини та білки теплового шоку), а також поступеліальний “бар’єр”, який забезпечується адекватною мікроциркуляцією слизової оболонки, регуляція якої здійснюється простагландинами, оксидом азоту та іншими вазоактивними речовинами [6, 13, 16].

Раніше нами було показано, що самці та самки щурів суттєво різняться за чутливістю до гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів (НПЗП) [2]. Статеві відмінності в токсичності НПЗП спостерігаються і у людей. Не виключено, що статеві гормони, механізм дії яких пов’язаний з впливом на експресію багатьох генів, можуть впливати і на функціонування компонентів захисних систем слизових ШКТ. Дані літератури з цього питання нечисленні і стосуються лише статевих особливостей синтезу в слизовій шлунка вазодилатуючих простагландинів [10, 12].

Метою роботи було дослідити зв’язок рівня естрадіолу та тестостерону з проникністю шлунково-кишкового тракту для сахарози, активністю прооксидантних та антиоксидантних ферментів, вмістом продуктів пероксидації ліпідів в шлунку самців та самок щурів середнього та

старого віку за умов кастрації, замісної гормональної терапії, надлишкового введення статевих гормонів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконані на 230 щурах обох статей середнього і старого віку (3-4 місяці та 24-26 місяців відповідно), які перебували на стандартній дієті та доступі до води ad libitum, при температурі (22±5) °С з 12-годинним освітленням (світло/темновим циклом). Самок щурів в дослід брали у фазі проєструсу, яку визначали за допомогою вагінальних мазків. Кастрація тварин (оваріектомія та тестектомія відповідно самкам та самцям щурів) виконувалась під нембуталовим наркозом (40 мг/кг) згідно з загальноприйнятими методиками. Замісна гормонотерапія (ЗГТ) проводилась за допомогою тестостерону 1 мг/кг п/ш 1 раз на день та естрадіолу валеріату 150 мг/кг внутрішньошлунково 1 раз на день протягом 14 днів, починаючи з 21 дня після кастрації. В частині дослідів статеві гормони вводили інтактним тваринам (без кастрації). Вміст естрадіолу та тестостерону в гепариновій плазмі крові тварин визначали імуноферментним методом за наборами “Estradiol Elisa” фірми DRG (США) та “DSLActive Testosterone” фірми DSL (США) згідно з інструкціями фірм-виробників.

В гомогенаті слизової шлунка визначали рівень глікозаміногліканів (ГАГ) за вмістом в них гексозамінів за реакцією з ацетилацетоном та пара-диметилбензальдегідом [15]. Вміст нітритів та нітратів визначали за реакцією з реактивом Гріса [4]. Рівень малонового діальдегіду (МДА) визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [1], а активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) – за

ступенем пригнічення окиснення кверцетину [5]. Проникність стінки кишечника у щурів вивчали після одноразового перорального введення їм 0,5 г сахарози (4 мл 12,5 % водного розчину). Сечу збирали 8 годин і в сечі визначали сахарозу після гідролізу останньої до глюкози інвертазою дріжджів [9, 11]. Вміст глюкози що утворилась визначали специфічним ферментативним глюкозоксидазно-пероксидазним методом [набори ООО НПП Філісіт-діагностика, Дніпропетровськ]. Статистичну обробку результатів проводили в Microsoft Excel за допомогою стандартних статистичних програм, з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати дослідження, гонадектомія самців та самок щурів викликає зниження, відповідно, рівня тестостерону в 17,7 раза, а естрадіолу в 5,9 раза. Замісна гормонотерапія практично відновлює рівень гормонів у тварин обох статей. Надлишкове введення тестостерону та естрадіолу, відповідно, самцям та самкам збільшує рівень статевих гормонів в 1,5 раза. У старих щурів обох статей рівень тестостерону та естрадіолу виявився нижчим на 26,0 та 42,1 %, відповідно у самців і самок, порівняно з тваринами середнього віку (табл. 1, 2).

Нами виявлені статеві та вікові відмінності між самцями і самками за всіма досліджуваними нами показниками. Зокрема, в слизовій шлунка в інтактних самців реєструються вірогідно нижчі рівні глікозаміногліканів (на 13,4 %) і нітратів та нітритів в шлунку (на 14,3%), ніж у самок. Вміст МДА у самців щурів виявився в 1,2 раза вищим, а активність СОД була в 1,2 раза меншою в порівнянні з тваринами протилежної статі. Гастродуоденальна проникність для сахарози в інтактних самців перевищувала таку у самок, проте лише на рівні тенденції (6,25 %).

Кастрація самців викликала тенденцію до підвищення вмісту ГАГ і вірогідного зростання рівня нітратів та нітритів й активності СОД на 17,7 та 16,9 % відповідно, при одночасному зменшенні рівня МДА на 17,3 % та зниженні проникності для сахарози на 18,7 % відносно інтактних тварин цієї статі. Оваріоектомія самок – навпаки, зменшувала вміст ГАГ на 14,2 %, при одночасному зростанні вмісту МДА на 34 % і зниженні вмісту нітратів та нітритів й активності СОД на 20,7 та 19,6 % відповідно. При цьому проникність слизових для сахарози вірогідно зростала на 23,3 %. Тобто кастрація справляла протилежний вплив на самців і самок і приводила до нівелювання статевих відмінностей за цими показниками.

Введення тестостерону кастрованим самцям викликає зниження вмісту ГАГ практично до рівня інтактних тварин. Вміст МДА та екскреція сахарози за цих умов підвищувались, відповідно, на 23,4 та 23,1 % при зниженні концентрації нітратів та нітритів і СОД на 16,1 та 13,4 % відповідно. Подібний ефект тестостерону виявлявся і при його введенні інтактним самцям. В порівнянні з щурами, які не отримували тестостерон, вміст ГАГ, МДА та екскреція сахарози були вірогідно вищими, а активність СОД та вміст нітратів і нітритів – нижчими. Тобто дія тестостерону сприяє зменшенню захисного потенціалу СОШ.

В той же час естрадіол проявив себе як гастропротективний чинник: введення його як інтактним самкам, так і тваринам після оваріоектомії приводило до збільшення вмісту мукополісахаридів на 13,6 та 11,7 %, активності СОД – на 21,7 та 21,7 % та рівня нітратів і нітритів на 18,5 та 23 % відповідно. Водночас вміст МДА та виділення сахарози з сечею за цих умов зменшувались на 20,8 і 23,0 % та 20,0 і 21,6 % відповідно (табл. 2).

Таблиця 1 – Рівень тестостерону та біохімічні показники слизової оболонки шлунка самців щурів різного віку за умов кастрації та введення тестостерону ($M \pm m$, $n=10-15$)

Показник	Самці середнього віку				Старі самці
	Інтактні щури	Додаткове введення тестостерону	Гонадектомія	Замісна терапія тестостероном	
Тестостерон, нг/дл	126,2±7,37	190,4±12,1*	7,12±0,62*	92,6±5,35*	93,3±6,36*
Глікозаміноглікани, мг/г тканини	4,03±0,16	3,68±0,17	4,37±0,18	3,98±0,19	3,90±0,17
МДА, нмоль/мг білка	6,71±0,38	8,64±0,50*	5,55±0,25*	6,85±0,22	8,54±0,47*
Нітрати та нітрити шлунка, нмоль/г тканини	299,4±17,2	240,4±16,4*	347,9±13,8*	291,9±7,44*	240,0±13,1*
СОД, нмоль/хв на 1 мг білка	16,0±0,79	13,2±0,58*	18,7±0,70*	16,2±0,69	13,7±0,48*
Екскреція сахарози з сечею, % від введеної дози	0,32±0,017	0,38±0,019*	0,26±0,017*	0,32±0,018	0,38±0,020*

Примітка. – вірогідні відмінності щодо інтактних самців.

Таблиця 2 – Рівень естрадіолу та біохімічні показники слизової оболонки шлунка самок щурів різного віку за умов кастрації та введення естрадіолу ($M \pm m$, $n=10-15$)

Показники	Самки середнього віку				Старі самки
	Інтактні самки	Додаткове введення естрадіолу	Гонадектомія	Замісна терапія естрадіолом	
Естрадіол, нг/дл	5,70±0,15	8,05±0,26*	0,96±0,022*	5,35±0,10	3,30±0,15*
Глікозаміноглікани, мг/г тканини	4,57±0,17#	5,19±0,20*#	3,92±0,21*	4,38±0,16	4,14±0,22
МДА, нмоль/мг білка	5,59±0,20#	4,43±0,25*#	7,49±0,32*#	5,77±0,33*#	6,65±0,32*#
Нітрати та нітрити, нмоль/г тканин	349,4±13,0#	413,9±18,3*#	276,9±10,6*#	340,6±15,3#	307,5±12,8*#
СОД, нмоль/хв на 1 мг білка	18,9±0,67#	23,0±1,00*#	15,2±0,58*#	18,5±0,68#	15,9±0,63*#
Екскреція сахарози з сечею, % від введеної дози	0,30±0,021	0,24±0,019*#	0,37±0,023*#	0,29±0,022	0,37±0,018*

Примітки: 1.* – вірогідні відмінності щодо інтактних самок.

2. # – вірогідні відмінності між самцями і самками у відповідних групах.

Старіння щурів погіршує стан протекторних систем слизової оболонки ШКТ. У старих самок зниження вмісту ГАГ та підвищення гастродуоденальної проникності були більш виразними, ніж у самців, в той час як вміст нітратів і нітритів СОШ та активність СОД знижувались дещо більше у старих самців, ніж у самок. Підвищення рівня МДА було більш виразним у старих самців щурів в порівнянні з самками аналогічного віку. Статеві відмінності при цьому зберігались: у старих самок вміст ГАГ, нітритів та нітритів і активність СОД були більшими, а рівень МДА був меншим, ніж у старих самців. Гастродуоденальна проникність для сахарози у старих тварин практично на відрізнялась між тваринами обох статей.

Отримані нами результати показують, що стать та рівень статевих гормонів суттєво впливають на фактори резистентності шлунково-кишкового тракту щурів. Так, ШКТ самок має чинити більший опір дії пошкоджуючих чинників, ніж ШКТ самців, оскільки у перших продукується більша кількість мукополісахаридів, є вищою активність антиоксидантного ферменту СОД та вищим рівень вазодилатора та цитопротектора оксиду азоту. Дані літератури свідчать, що у самок вищим є не лише рівень продукції оксиду азоту, але і вміст антиінфламаторного інтерлейкіну-10 та вазодила-

татора – простацикліну [18]. Цілком очевидно, що більш високий протекторний потенціал СОШ у самок можна поставити у зв'язок з рівнем естрогенів, адже кастрація знижує, а замісна терапія естрадіолом його відновлює. Відомо, що естрогенам притаманна властивість посилювати утворення вазодилаторних ейкозаноїдів та гальмувати продукцію вазоконстрикторних молекул – ендотеліну-1, лейкотриєнів, катехоламінів [3, 7]. Меншу резистентність СОШ у самців можна поставити в зв'язок з наявністю у тестостерону вазоконстрикторної та проінфламаторної дії. Зокрема, тестостерон збільшує продукцію прозапального інтерлейкіну-1 β та пригнічує синтез ПГІ2 [14, 17]. Цілком очевидно, що зміни резистентності шлунка при старінні є наслідком реалізації генетичної програми онтогенезу, які включають послаблення синтезу статевих гормонів, процесів регенерації, зменшення продукції простагландинів в СОШ та інші процеси [8]. Це робить шлунок старих тварин більш вразливим до пошкоджуючих факторів, в т.ч. і НПЗП.

ВИСНОВОК. Отже, виявлені статеві та вікові відмінності між самцями та самками щурів у адаптаційних можливостях шлунково-кишкового тракту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.В., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – С. 252.
2. Волощук Н.І., Пентюк О.О. Роль статевих відмінностей в гастротоксичній дії деяких нестероїдних протизапальних засобів // Сучасні проблеми токсикології. – 2007. – № 4. – С. 47-49.

3. Карева Е.Н. Новые аспекты действия эстрогенов. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – **66**, № 4. – С. 71-78.
4. Коренман И.М. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
5. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения ак-

тивности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88-91.

6. Насонов Е.Л., Каратеев А.Е. Поражения желудка, связанные с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов (часть 1) // Клиническая медицина. – 2000. – № 3. – С. 4-7.

7. Chakraborty T.R., Gore A.C. Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function // Experimental Biology and Medicine. – 2004. – **229**. – P. 977-987.

8. Cyclooxygenase-1 and an alternatively spliced mRNA in the rat stomach: effects of aging and ulcers / D. Vogjiagis, E.M. Glare, A. Misajon et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2000. – **278**, № 5. – P. 820-827.

9. Davies N.M., Corrigan B.W., Jamali F. Sucrose urinary excretion in the rat measured using a simple assay: a model of gastroduodenal permeability. // Pharm. Res. – 1995. – **12**, № 11. – P. 1733-1736.

10. Effects of gender on stress ulcer formation in rats / E. Uslu, S. Aydin, S. Carkman et al. // Tohoku J. Exp. Med. – 2002. – **197**, № 1. – P. 17-26.

11. Holmes E.W. Coupled enzymatic assay for the determination of sucrose. // Anal. Biochem. – 1997. – **244**, № 1. – P. 103-109.

12. Kauffman G.L., Kolve E., Walfisch S. Role of prostanoids in experimental duodenal ulcer in rat // Dig. Dis. Sci. – 1988. – **33**, № 6. – P. 667-672.

13. Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A. Gastric mucosal defence and cytoprotection: bench to bedside // Gastroenterology. – 2008. – **135**, № 1. – P. 41-60.

14. Laszlo F., Varga C., Montoneri C. Damaging actions of testosterone on cysteamine-induced gastroduodenal ulceration and vascular leakage in the rat // Eur. J. Pharmacol. – 1997. – **337**, № 2-3. – P. 275-278.

15. Ludowieg J., Benmaman J.D. Colorimetric differentiation of hexosamines // Anal. Biochem. – 1967. – **19**, № 1. – P. 80-88.

16. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation / T. Brzozowski, P.C. Konturek, S.J. Konturek et al. // Journal Physiol. Pharmacol. – 2005. – **56**, Supp 5. – P. 33-55.

17. The role of female and male sex hormones in the healing process of preexisting lingual and gastric ulcerations / A. Machowska, A. Szlachcic, M. Pawlik, et al. // J. Physiol. Pharmacol. – 2004. – Suppl 2. – P. 91-104.

18. The female intestine is more resistant than the male intestine to gut injury and inflammation when subjected to conditions associated with shock states / H. Homma, E. Hoy, D.Z. Xu et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2005. – **288**, № 3. – P. 466-472.

ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ СОСТОЯНИЯ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА КРЫС

Н.И. Волощук

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

Выявлены половые различия между самцами и самками крыс в адаптационных возможностях ЖКТ. У самок количество ГАГ, активность СОД и содержание нитратов и нитритов были больше, а содержание МДА и гастродуоденальная проницаемость для сахарозы – меньше, чем у самцов. Тестостерон уменьшал, а эстрадиол увеличивал защитные возможности слизистой оболочки желудка. Старение ухудшало резистентность желудка и кишечника у животных обоих полов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: половые различия, слизистая оболочка желудка, оксидантно-антиоксидантная система, оксид азота, крысы.

SEX HORMONES AS MODULATORS OF CONDITION OF RAT GASTRIC MUCOSAL PROTECTIVE SYSTEMS

N.I. Voloschuk

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

There were determined sex differences in adaptation abilities of digestive tract between male and female rats. Female rats showed higher level of GAG, SOD activity and content of nitrate/nitrites than male ones. At the same time MDA and intestinal permeability was lower in female rats. Testosterone decreased and estradiol increased gastro-intestinal defence. With aging gastric mucosal defence impaired in the animals of both sexes.

KEY WORDS: sex differences, gastric mucosa, nitric oxide, oxidant-antioxidant system rats.

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: Н.І. Волощук, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

АКТИВНІСТЬ ПАНКРЕАТИЧНОЇ α -АМІЛАЗИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ L-АРГІНІНУ, АМІНОГУАНІДИНУ ТА БЛОКУВАННЯ ЦОГ-2 У ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ

О.Я. Склярів, О.Б. Панчишин, І.О. Нектегаєв

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

В експериментах на щурах за умов цукрового діабету (ЦД) показано, що одночасне блокування циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) з прекурсором нітрогену оксиду L-аргініном (L-Arg) чи селективним блокатором індукцибельної NO-синтази (iNOS) аміногуанідином (AG) приводить до зростання активності панкреатичної α -амілази у плазмі крові. Введення аміногуанідину або L-аргініну на фоні блокування циклооксигенази-2 целекоксибом спричинило зменшення активності NO-синтаз у тканині підшлункової залози переважно за рахунок зниження активності індукцибельної NO-синтази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет, активність NOS, L-аргінін, циклооксигеназа-2, панкреатична α -амілаза.

ВСТУП. Цукровий діабет супроводжується зростанням процесів ліпопероксидації, змінами активності ферментів антиоксидантного захисту, зростанням активності ферментів NO-синтазної та циклооксигеназної систем у клітинах підшлункової залози [2, 5, 9]. Підвищення активності ЦОГ-2 призводить до різкого зростання рівня ендогенних простагландинів (ПГЕ₂), що беруть участь не тільки у запальному процесі, а також впливають на екзокринну функцію підшлункової залози [3, 10]. Відомо, що L-аргінін (L-Arg) є основним субстратом для синтезу нітрогену оксиду у клітинах організму, а його введення приводить до зростання активності ендотеліальної NOS (eNOS) [1, 4]. У розвитку запального процесу між індукцибельною NOS (iNOS) та циклооксигеназою-2 (ЦОГ-2) виявлені тісні взаємозв'язки [2].

Метою роботи було вивчення змін активності NO-синтаз у тканині підшлункової залози та активності панкреатичної α -амілази у плазмі крові за умов введення L-аргініну або блокування індукцибельної NO-синтази на фоні блокування ЦОГ-2 у щурів з стрептозотоциновим цукровим діабетом (ЦД).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 16 щурах і виконані згідно з правилами, передбаченими Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних дослідів

© О.Я. Склярів, О.Б. Панчишин, І.О. Нектегаєв, 2009.

за участю експериментальних тварин. Було проведено 3 серії досліджень: перша – тварини з цукровим діабетом, який моделювали шляхом одноразового введення стрептозотоцину у дозі 60 мг/кг інтраперитонеально (концентрація глюкози у крові становила більше 14 ммоль/л); друга – тварини з цукровим діабетом, яким протягом двох тижнів внутрішньоочеревинно вводили L-аргінін (300 мг/кг) на фоні блокування ЦОГ-2 целекоксибом (перорально, 10 мг/кг, два тижні); третя – тварини з цукровим діабетом, яким протягом двох тижнів одночасно блокували ЦОГ-2 целекоксибом (10 мг/кг) та iNOS аміногуанідином (внутрішньоочеревинно, 20 мг/кг). Активність α -амілази визначали, використовуючи набір фірми "Pliva – Lachema Diagnostika" (Чехія). Активність NO-синтаз визначали за [7]. Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стюдента. Статистично достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При введенні щурам з ЦД L-Arg на фоні блокування ЦОГ-2 целекоксибом відзначено зростання активності панкреатичної α -амілази у крові з 11,3 до 29,6 мккат/л (на 164 %, $p < 0,05$); за умов одночасного блокування ЦОГ-2 та iNOS аміногуанідином активність α -амілази підвищувалась на 134 % ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками при ЦД.

За умов введення L-Arg на фоні блокування ЦОГ-2 у щурів з ЦД загальна активність NO-синтаз знижувалась на 58 % ($p < 0,05$); за умов одночасного блокування ЦОГ-2 та iNOS загальна активність NO-синтаз знижувалась на 50 % ($p < 0,05$); активність iNOS при введенні L-Arg на фоні блокування ЦОГ-2 знижувалась у 3 рази ($p < 0,05$) та у 3,2 рази при одночасному блокуванні ЦОГ-2 та iNOS ($p < 0,05$); активність eNOS зменшилась у 1,6 рази ($p < 0,05$) при введенні L-Arg на фоні блокування ЦОГ-2 та майже не змінювалась при одночасному

блокуванні ЦОГ-2 та iNOS у порівнянні з показниками при ЦД (табл. 1).

Отримані результати свідчать, що введення L-Arg на фоні блокування ЦОГ-2 призводить до значного зростання активності панкреатичної амілази у крові, при цьому знижується активність iNOS та eNOS у порівнянні з показниками при цукровому діабеті. Одночасне блокування ЦОГ-2 та iNOS також призводить до підвищення активності α -амілази у крові та зниження активності NO-синтаз у тканині підшлункової залози за умов ЦД.

Таблиця 1 – Зміни активності панкреатичної α -амілази у плазмі крові та активності NO-синтаз у тканині підшлункової залози при введенні L-Arg та аміногуанідину на фоні блокування ЦОГ-2 у щурів з ЦД

Назва групи	Амілаза, мккат/л	NOS, нмоль/хв·г	iNOS, нмоль/хв·г	eNOS, нмоль/хв·г
ЦД	11,3±3,38	1,57±0,39	1,18±0,59	0,456±0,21
ЦД+целекоксиб+ L-Arg	29,8±1,44	0,664±0,10	0,374±0,24	0,29±0,14
ЦД+целекоксиб+AG	26,4±1,63	0,781±0,10	0,366±0,64	0,414±0,04

Проведеними раніше дослідженнями було показано, що пошкодження α -клітин підшлункової залози стрептозотоцином супроводжується різким зростанням синтезу нітрогену оксиду та простагландинів. ЦОГ-2 в острівцях підшлункової залози експресується макрофагами, які інфільтрують тканину підшлункової залози при ЦД [6]. Блокування ЦОГ-2 при діабеті має протективну дію по відношенню до α -клітин та зменшує утворення вільних радикалів [8], що свідчить про прозапальну роль простагландинів, які синтезуються ЦОГ-2. Блокування циклооксигеназ також призводить до зменшення рівня активності NO-синтаз та вмісту нітратів/нітритів в тканині підшлункової залози у щурів з цукровим діабетом, викликаним стрептозотоцином. Так, блокування активності NO-синтаз L-NMMA зменшувало біосинтез простагландинів та тромбоксану B_2 , тоді як введення донорів NO викликало зростання вмісту простагландинів та тромбоксану B_2 у тканині підшлункової залози. Це дало змогу констатувати, що у щурів з діабетом простагландини та оксид азоту можуть стимулювати один другого [2]. Наші дослідження показали, що одночасне блокування ЦОГ-2 та iNOS гальмує переважно активність iNOS.

Між ендокринними та екзокринними клітинами підшлункової залози існують тісні взаємозв'язки. Простагландини типу E інгібували стимульовану холецистокініном секрецію амілази [10]. У хворих з цукровим діабетом активність амілази у соку підшлункової залози була значно зменшена, а концентрація простагландинів більша, у порівнянні із здорови-

ми обстеженими [3]. Зростання активності α -амілази у крові у наших дослідженнях свідчить, що простагландини, які синтезуються ЦОГ-2 при ЦД, також пригнічують зовнішньосекреторну функцію підшлункової залози.

Слід відзначити, що до гальмування активності NO-синтаз у тканині підшлункової залози призводить введення L-Arg. Це може бути пояснено гальмуванням L-Arg інфільтрації тканини підшлункової залози моноцитами, які є джерелом синтезу прозапальних цитокінів [6]. Однак при надходженні L-Arg в організм відзначалось зростання eNOS в ендотеліоцитах [4]. Отже, з одного боку, L-Arg виступає субстратом для утворення нітрогену оксиду NO-синтазами, а з іншого – непрямим шляхом зменшує активність NO-синтаз при запаленні шляхом зниження інфільтрації тканин нейтрофілами та моноцитами. Введення L-Arg збільшує активність α -амілази у крові, що може бути пов'язано із зниженням активності NOS, внаслідок зменшення синтезу нітрогену оксиду, та зростанням активації процесів біосинтезу α -амілази екзокриноцитами.

ВИСНОВКИ. 1. Як двотижневе введення L-Arg, так і блокування iNOS селективним блокатором аміногуанідином на фоні блокування ЦОГ-2 у щурів з цукровим діабетом призводять до зростання активності α -амілази у крові.

2. Двотижневе введення L-Arg або блокування iNOS селективним блокатором аміногуанідином на фоні блокування ЦОГ-2 у щурів з цукровим діабетом викликає зниження активності загальної NOS, переважно за рахунок iNOS.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вплив L-аргініну та інгібіторів NO-синтази на стан антиоксидантної системи при цукровому діабеті 1 типу / Н.О. Сибірна, О.І. Вовк, В.А. Бурда, М.Я. Люта // Лабораторна діагностика. – 2004. – № 4. – С. 47-51.
2. Gonzales E., Rosello-Catafau J., Jawerbaum et al. Involvement of inducible isoform of COX and NOS in streptozotocin-pancreatic damage in the rat: interactions between nitricergic and prostanoid pathway // Prostaglandins Leukot. Essen. Fatty Acids. – 2001. – **64**, № 6. – P. 311-316.
3. Kawamori R., Katsura M., Ishida S., et al. Subclinical exocrine derangement in human diabetic patients evaluated from pure pancreatic juice // J. Diabetes Complications. – 1995. – **9**, № 2. – P. 69-73.
4. Kohli R., Meininger C.J., Haynes T.E. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats // J. Nutr. – 2004. – **134**, № 3. – P. 600-608.
5. Ling J.J., Sun Y.J., Zhu D.Y. et al. Potential role of NO in modulation of COX-2 expression and PGE2 production in pancreatic beta-cells // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). – 2005. – **37**, № 2. – P. 139-146.
6. Luo C., Kallajoki M., Gross R., Mulari M., Teros T., Ylilin L., Makinen M., Laine J., Simeli O. Cellular distribution and contribution of cyclooxygenase COX-2 to diabetogenesis in NOD mouse // Cell Tissue Res. – 2002. – **310**, № 2. – P. 169-175.
7. Omura T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes // J. Biol. Chem. – 1964. – **239**. – P. 2379-2385.
8. Tabatabaie T., Vasquez A.M., Moore D.R., Floyd R.A., Kotake Y. Direct administration of interleukin-1 and interferon-gamma to rat pancreas leads to the in vivo production of nitric oxide and expression of inducible nitric oxide synthase and inducible cyclooxygenase // Pancreas. – 2001. – **23**, № 3. – P. 316-322.
9. Tatsuki R., Satoh K., Yamamoto A., Hoski K., Ichihara K. Lipid peroxidation in the pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats // Jpn. J. Pharmacol. – 1997. – **75**, № 3. – P. 267-273.
10. Zabel-Langhennig A., Holler B., Engeland K., Mossner J. Cyclooxygenase-2 transcription is stimulated and amylase secretion is inhibited in pancreatic acinar cells after induction of acute pancreatitis // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1999. – **265**, № 2. – P. 545-549.

АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ α -АМИЛАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА, АМИНОГУАНИДИНА И БЛОКИРОВАНИИ ЦОГ-2 В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

А.Я. Склярів, О.Б. Панчишин, І.А. Нектегаєв

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

В экспериментальных работах на крысах с сахарным диабетом установлено, что одновременное блокирование циклооксигеназы-2 с прекурсором окиси азота L-аргинином или селективным блокатором индуцибельной NO-синтазы аминугуанидином приводит к увеличению активности панкреатической α -амилазы в плазме крови. Введение аминугуанидина или L-аргинина при блокировании циклооксигеназы-2 цекококсибом приводило к уменьшению активности NO-синтаз в ткани поджелудочной железы в основном за счет уменьшения активности индуцибельной NO-синтазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, активность NO-синтаз, L-аргинин, циклооксигеназа-2, панкреатическая α -амилаза.

ACTIVITY OF PANCREATIC ALPHA-AMYLASE IN BLOOD PLASMA BLOOD UNDER THE EFFECT OF L-ARGININE AND AMINE GUANIDINE AND BLOCKING COX-2 IN RAT PANCREAS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

О.Я. Sklyarov, O.B. Panchyshyn, I.O. Nektehayev

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

In the experiments on rats with modeled diabetes mellitus (DM), it has been shown that the combined blocking cyclooxygenase-2 (COX-2) and precursor of nitrogen oxide with L-arginine (L-Arg) or with a selective blocker of inducible NO-synthase (iNOS) – amine guanidine (AG), causes the enhancement of the activity of pancreatic α -amylase in blood plasma. Injection of amine guanidine or L-arginine against a background of blocking cyclooxygenase-2 with celecoxib resulted in the reduction of activity of NO-synthases in the pancreatic tissue of experimental animals mostly at the account of diminished activity of iNOS.

KEY WORDS: diabetes mellitus, activity of NO-synthases, L-arginine, cyclooxygenase-2, pancreatic α -amylase.

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: О.Б. Панчишин, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Я. Гашека, 2а, Львів, 79031, Україна.

Історія дослідження – 11, 1 3, 2009

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ МЕЛАТОНІНУ НА РІВЕНЬ ПІРОВИНОГРАДНОЇ КИСЛОТИ У ПЛАЗМІ КРОВІ АЛОКСАНДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ

О.Ю. Кушнір

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

У статті показано, що в алоксандіабетичних тварин з явним і прихованим цукровим діабетом за умов постійного світла та постійної темряви, порівняно з контролем, спостерігалися зміни рівня піровиноградної кислоти у плазмі крові. Введення щурам мелатоніну в дозі 5 та 10 мг/кг протягом 7 днів сприяло нормалізації вищезазначеного показника вуглеводного обміну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, алоксановий діабет, піруват, щури.

ВСТУП. За визначенням експертів ВООЗ, цукровий діабет (ЦД) – це стан хронічної гіперглікемії, зумовлений порушенням утворення або дії інсуліну [4]. Піруватдегідрогеназна недостатність, яка виникає внаслідок нестачі інсуліну та посиленого ліполізу, в організмі призводить до підвищення концентрації лактату, пірувату, аланіну, що супроводжується ацидозом [5]. Як відомо, гліколітичний цикл обміну глюкози закінчується утворенням піровиноградної кислоти, яка потім конвертується в молочну кислоту з участю лактатдегідрогенази. У зв'язку з цим, для характеристики інтенсивності перебігу гліколізу в біологічному матеріалі визначають концентрацію продуктів гліколізу: пірувату і лактату [1, 3]. Деякі автори вважають, що стимулювальний вплив мелатоніну проявляється нижчою активністю лактатдегідрогенази, а співвідношення окисно-відновних ферментів зсувається в бік переважання циклу Кребса, тобто аеробних процесів, більш ефективних для енергозабезпечення клітини [6, 9]. Тому доцільним є поглиблене дослідження даного ефекту мелатоніну.

Метою дослідження було з'ясувати вплив мелатоніну на рівень піровиноградної кислоти в плазмі крові щурів за умов фізіологічної норми та при алоксановому цукровому діабеті на фоні гіпо- та гіперфункцій епіфіза.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведені на статевозрілих безпородних білих щурах-самцях масою 0,18-0,20 кг. Фотоперіодичні зміни моделювали протягом одного тижня: 1) природна зміна світлової та темної фаз

добы з 19 по 25 березня 2009 року в середньому становила 12:12 год; 2) штучна зміна світлової та темної фаз (світло з 08.00 до 20.00 год, освітленість на рівні кліток 500 лк) – 12:12 год; 3) постійне світло протягом доби (500 лк); 4) постійна темрява протягом доби [2]. Алоксановий діабет викликали шляхом внутрішньоочеревинного введення щурам 5%-го розчину алоксану моногідрату в дозі 170 мг/кг одноразово після 24-годинного голодування [8]. Визначення рівня базальної глікемії (БГ) проводили за допомогою приладу “One Touch Ultra Easy” (виробник “Johnson & Johnson”, США). На третю (критичну) добу спостерігалась загибель 50 % алоксандіабетичних щурів. У частини щурів введення алоксану моногідрату викликало різке зростання рівня базальної глікемії натще, такі тварини сформували групу щурів з явним цукровим діабетом (БГ $\geq 8,0$ ммоль/л). У решти рівень базальної глікемії вірогідно не відрізнявся від показників інтактних щурів (БГ $\leq 6,9$ ммоль/л), таких тварин було об'єднано в групу щурів із прихованим цукровим діабетом [8]. Піддослідних тварин поділили на сім груп у відповідних умовах освітлення: 1) інтактні щури; 2) контрольна група тварин, яким впродовж тижня щоденно о 8 год ранку внутрішньоочеревинно вводили мелатонін (виробник “Sigma”, США) в дозі 5 та 10 мг/кг; 3) щури з явним цукровим діабетом; 4) щури з явним цукровим діабетом, яким, починаючи з 5-ї доби після введення алоксану, впродовж тижня аналогічно вводили мелатонін в дозі 5 та 10 мг/кг [10]; 5) щури з явним цукровим діабетом, які, починаючи з 5-ї доби після введення алоксану, отримували ін'єкції інсуліну (Фармасулін Н NP, виробник ВАР “Фар-

© О.Ю. Кушнір, 2009.

І ааè:íà òì ìÿ – ò. 11, ¹ 3, 2009

Таблиця 1 – Рівень пірвіноградної кислоти у плазмі крові щурів за умов різної довжини світлового періоду (M±m)

Групи	Умови			
	Природне рівнодення (зміна світлової та темної фаз становила 12:12 год) С:Т=12:12	Штучне рівнодення С:Т=12:12	Постійне світло (зміна світлової та темної фаз становила 24:0 год) С:Т=24:0	Постійна темрява (зміна світлової та темної фаз становила 0:24 год) С:Т=0:24
1. Інтактний контроль	53,5±3,16	52,5±2,24	80,4±4,8 ^g	67,1±3,68 ^{g,h}
2. Контроль + мелатонін 5 мг/кг	54,6±3,68	54,3±2,68	60,0±3,87 ^a	64,6±4,85 ^h
3. Контроль + мелатонін 10 мг/кг	65,0±3,54 ^a	65,4±3,68 ^{a,b}	52,1±2,92 ^a	65,4±2,92 ^{g,h}
4. Явний цукровий діабет	144,2±3,42 ^a	144,2±2,04 ^a	166,3±8,48 ^{a,g}	108,8±7,37 ^{a,h}
5. Явний цукровий діабет + інсулін	57,1±5,34 ^c	57,9±4,85 ^c	69,2±4,38 ^{a,c,g}	53,3±5,40 ^{c,h}
6. Явний цукровий діабет+ мелатонін 5 мг/кг	95,8±7,01 ^{a,c}	92,9±5,34 ^{a,c}	150,3±6,61 ^{a,g}	67,8±7,61 ^{c,h}
7. Явний цукровий діабет + мелатонін 10 мг/кг	60,8±5,40 ^{c,d}	58,3±4,08 ^{c,d}	75,9±3,5 ^{c,d,g}	56,9±5,13 ^{c,h}
8. Прихований цукровий діабет	87,1±8,28 ^{a,c}	86,3±6,07 ^{a,c}	109,2±14,38 ^{a,c,g}	74,2±6,06 ^{c,g}
9. Прихований цукровий діабет + мелатонін 5 мг/кг	75,4±9,14 ^{a,c}	77,1±7,65 ^{a,c}	92,2±7,61 ^{a,c,g}	60,3±5,74 ^{c,h}
10. Прихований цукровий діабет + мелатонін 10 мг/кг	49,2±3,76 ^{c,d,e,f}	48,8±4,08 ^{c,d,e,f}	60,0±6,28 ^{a,c,d,e,f}	48,4±4,21 ^{a,c,d,e,h}

Примітка. а – зміни вірогідні стосовно інтактного контролю (p<0,05); б – зміни вірогідні стосовно контролю з мелатоніном 5 мг/кг за відповідних умов освітлення (p<0,05); с – зміни вірогідні стосовно явного цукрового діабету (p<0,05); d – зміни вірогідні стосовно явного цукрового діабету з мелатоніном 5 мг/кг за відповідних умов освітлення (p<0,05); e – зміни вірогідні стосовно прихованого цукрового діабету (p<0,05); f – зміни вірогідні стосовно прихованого цукрового діабету з мелатоніном 5 мг/кг за відповідних умов освітлення (p<0,05); g – зміни вірогідні в межах групи стосовно інтактного контролю за умов штучного (природного) рівнодення (p<0,05); h – зміни вірогідні стосовно інтактного контролю за умов постійного світла (p<0,05).

мак”, Україна) з розрахунку, що 1 Од інсуліну утилізує 2 ммоль/л глюкози [6]; б) щури з прихованим цукровим діабетом; 7) щури з прихованим цукровим діабетом, яким упродовж тижня вводили мелатонін у дозі 5 та 10 мг/кг. Тварин забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 12 добу від початку експерименту [8]. Дослідження рівня пірувату в плазмі крові виконували за стандартною методикою. Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Алоксан, як відомо [11], пошкоджує значну частину бета-клітин острівкової тканини підшлункової залози. Згідно з отриманими результатами (табл. 1), у плазмі крові щурів, які склали групу інтактного контролю, різні умови освітлення призвели до зростання рівня пірувату (за умов постійної темряви – на 27 %, за умов постійного світла – на 55 % відповідно порівняно з контролем).

Введення мелатоніну в дозі 5 та 10 мг/кг контрольним щурам спричинило збільшення рівня пірувату на 25 % за умов рівнодення та

його нормалізацію, порівняно з інтактними тваринами, у групі щурів, які перебували в умовах постійного світла.

У групі тварин з явним цукровим діабетом, незалежно від умов освітлення, зростання рівня пірувату складало в середньому 200 % порівняно з контролем. Вміст пірувату в крові щурів, які перебували в умовах постійної темряви, перевищив показники контролю лише на 100 %.

Введення мелатоніну в дозі 5 мг/кг за умов рівнодення та постійної темряви призвело до зниження рівня пірувату в середньому на 37 % порівняно з алоксандіабетичними тваринами. Мелатонін у дозі 10 мг/кг викликав нормалізацію рівня пірувату за всіх умов освітлення, порівняно з контролем, у групі щурів з явним ЦД (проте за умов постійного світла даний показник залишався на 42 % вищим порівняно з інтактними тваринами за умов рівнодення).

Введення інсуліну сприяло нормалізації рівня пірувату за умов рівнодення та постійної темряви і зниженню показника за умов постійного світла (на 59 %) порівняно з контролем за відповідних умов освітлення (проте

даний показник залишався вищим на 23 % порівняно з інтактним контролем за умов рівнодення).

У групі щурів із прихованим ЦД рівень пірувату за умов рівнодення та постійного світла зріс, відповідно, на 41 та 100 %, тоді як за умов постійної темряви вірогідно не змінився порівняно з інтактними тваринами за відповідних умов освітлення.

Мелатонін у дозі 5 мг/кг викликав нормалізацію рівня пірувату в групі за умов постійної тем-

ряви порівняно з контролем. Введення його в дозі 10 мг/кг щурам із прихованим ЦД у групах, що перебували в різних умовах освітлення, призвело до нормалізації рівня пірувату порівняно з інтактними тваринами за умов рівнодення.

ВИСНОВОК. Введення мелатоніну в дозі 5 та 10 мг/кг за умов гіпо- та гіперфункцій епіфіза проявляє коригувальний вплив на рівень пірувату в плазмі щурів за умов фізіологічної норми та при алоксановому діабеті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антонова О.І. Вплив хронічної гіпомелатоніемії на стан печінки щурів / О.І. Антонова, О.І. Цебржинський // Світ медицини та біології. – 2007. – № 2. – С. 11-13.
2. Булик Р.Є. Ультраструктура нейронів супрахіазматичних ядер гіпоталамуса за умов світлової депривації / Р.Є. Булик // Вісник наукових досліджень. – 2008. – № 1. – С. 78-80.
3. Ванадийсодержащие соединения – новый класс терапевтических средств для лечения сахарного диабета / Н.Ф. Беяева, В.К. Городецкий, А.И. Тосилкин [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 4. – Режим доступа до журн.: <http://medi.ru/pbmc/8800209/htm>
4. Городецкий В.К. Патопфизиология углеводного обмена: Лекция / В.К. Городецкий // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 25-32.
5. Дедов Ю.И. Патогенез сахарного диабета / И.И. Дедов, М.И. Балаболкин // Медицинский академический журнал. – 2006. – 6, № 3. – С. 3-15.
6. Мелатонин в норме и патологии; под ред. Ф.И. Комарова, С.И. Рапопорта, Н.К. Малиновской, В.Н. Анисимова. – М.: ИД Медпрактика, 2004. – 524 с.
7. Методы биохимических исследований ; под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – С. 239-240.
8. Морфологические аспекты алоксанового диабета после трансплантации культуры клеток поджелудочной железы (сообщение 3) / В.К. Гринь, В.Ю. Михайличенко, А.А. Селезнев [и др.] // Экспериментальные исследования. – 2004. – № 2. – С. 326-332.
9. Труфакин В.А. Проблемы центральной регуляции биоритмов иммунной системы. Роль мелатонина / В.А. Труфакин, А.В. Шурлыгина // Вестник Российской АМН. – 2006. – № 9-10. – С. 121-127.
10. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic b-cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats / K. Mehmet, U. Hamdi, K. Turan // Arch. Toxicol. – 2006. – 80, № 6. – P. 362-369.
11. Importance of the GLUT 2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan / M. Elsner, M. Tiedge, B. Gludbakke, [et al.] // Diabetologia. – 2002. – 45, № 11. – P. 1542-1549.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ МЕЛАТОНИНА НА УРОВЕНЬ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ АЛОКСАНДИАБЕТИЧЕСКИХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЁННОГО ФОТОПЕРИОДА

А.Ю. Кушнир

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

Резюме

В статье показано, что у аллоксандиабетических животных с явным и скрытым сахарным диабетом в условиях постоянного света и постоянной тьмы, в сравнении с контролем, происходили изменения уровня пирувата в плазме крови. Введение крысам мелатонина в дозе 5 и 10 мг/кг на протяжении 7-ми дней способствовало нормализации вышеупомянутого показателя обмена углеводов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, аллоксановый диабет, пируват, крысы.

THE EFFECT OF MELATONIN ON THE LEVEL OF PYRUVIC ACID IN ALLOXAN DIABETIC RATS WITH FOTOPERIOD CHANGES

O.Yu. Kushnir

BUKOVINIAN STATE MEDICINE UNIVERSITY, CHERNIVTSI

Summary

The paper demonstrates that in serum of alloxan diabetic rats with occult and overt diabetes, compared with the control value, took place changes the level of pyruvic acid - in the blood. A 7-days injection of melatonin in a dose of 5 and 10 mg/kg to the alloxan diabetic rats was conducive to a normalization of the indices of pyruvic acid in the group of animals with occult and overt diabetes.

KEY WORDS: **melatonin, alloxan diabetes, pyruvic acid, rats.**

Отримано 24.09.2009 р.

Адреса для листування: О.Ю. Кушнір, просп. Незалежності, 117, кв. 22, Чернівці, 58000, Україна.

РІВЕНЬ ГІАЛУРОНАТУ ТА ЗАГАЛЬНОЇ ГІАЛУРОНАТЗВ'ЯЗУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ БІЛКІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С

О.З. Фоменко, Г.О. Ушакова
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

Показано вірогідне збільшення концентрації гіалуронової кислоти у сироватці крові щурів при моделюванні хронічного гепатиту С та стабілізацію цього показника при лікуванні цитофлавіном. Проведено дослідження змін абсолютної та відносної гіалуронатзв'язуючої активності цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів за нормальних умов, при експериментальному хронічному гепатиті С та дії цитофлавіну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний гепатит С, гіалуронова кислота, гіалуронатзв'язуюча активність, цитофлавін.

ВСТУП. У процесі лікування багатьох хвороб важливим є своєчасне й точне їх діагностування, але частина діагностичних методів продовжують бути небезпечними, такими, як біопсія печінки. Тому сьогодення вимагає пошуку нових безпечних, неінвазивних методів раннього діагностування хвороб та їх лікування.

Біологічна роль глікозаміногліканів в організмі велика: вони беруть участь у виконанні опорної функції, забезпеченні проникності клітинних мембран, змазуванні суглобових поверхонь, процесах диференціювання і регенерації тканин, запліднення і розмноження, водно-сольовому обміні між тканинами і міжклітинною рідиною, здійсненні реакцій імунітету, регуляції апоптичних реакцій [2, 3]. Сьогодні актуальним є вивчення глікозаміногліканів не лише в сполучних тканинах, а й у мозку, адже вони беруть активну участь у процесах нейрорегенерації, забезпеченні пластичності мозку, взаємодії з факторами росту, проліферації клітин.

Особливо цікавим останнім часом стало виявлення та дослідження глікозаміногліканів (ГАГ) в мозку тварин і людини. У центральній нервовій системі протеоглікани є одними з головних молекул, що формують гематоенцефалічний бар'єр, впливають на структури міграції і розвитку аксонів. Бічні ланцюги глікозаміногліканів часто утворюють гібридні ланцюги із сульфатованими гетеросахаридами й слугують нейрональними маркерами сто-

бурних клітин, нейрогенними і нервовостимулювальними молекулами, що відповідають за проліферацію клітин мозку. Гібридні ланцюги ГАГ включаються у формування нейронної мережі, захоплюючи і представляючи зв'язані фактори росту. Дослідження клітин мозку показали істотну роль ПГ і ГАГ в різних біологічних процесах, таких, як цитокінез, проліферація, диференціація, міграція, морфогенез тканини, органогенез, участь у формуванні відповіді на інфекцію, загоєння ран [5].

Оскільки суттєві зміни печінки супроводжуються розвитком енцефалопатії, метою даної роботи було визначити зміну загального рівня гіалуронової кислоти у сироватці крові щурів та загальної гіалуронатзв'язуючої активності цитозольних білків мозку щурів при моделюванні хронічного гепатиту С та застосуванні цитофлавіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для дослідження використовували мозок та сироватку крові 18 щурів лінії Вістер. Спосіб моделювання хронічного гепатиту С [1] включав токсичне пошкодження гепатоцитів чотирихлористим вуглецем і формування аутоімунної відповіді: після триразового введення чотирихлористого вуглецю в дозі 0,25 мл 50 % розчину в рафінованій олії тваринам тричі вводили гомогенат печінки з повним ад'ювантом Фрейнда в дозі 0,5; 0,25; 0,25 мл через 15 і 9 днів, та двічі у проміжках азатиоприн у дозі 50 мг/кг. Тварин було поділено на 3 групи (n=6): 1-ша – контрольна, 2-га – моделювання хронічно-

© О.З. Фоменко, Г.О. Ушакова, 2009.

І ааè-íà öïì ÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

го гепатиту С, 3-тя – моделювання хронічного гепатиту С, а потім лікування цитофлавіном (Полістан, Росія) – 0,5 мг/100 г маси тіла 1 раз на добу протягом 10 днів. Тварин декапітували під легким наркозом із застосуванням ізюфлурану. Концентрацію гіалуронової кислоти в сироватці крові визначали за допомогою методу Голда [4], загальну гіалуронатзв'язуючу активність білків у цитозольній фракції мозку – твердофазного вуглевод-ферментного мікроаналізу [6]. Результати піддавали статистичній обробці згідно з критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вплив гепатиту С призвів до зміни загального рівня гіалуронової кислоти у крові щурів (рис. 1).

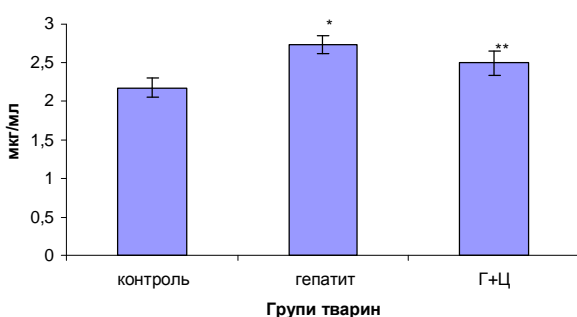


Рис. 1. Рівень гіалуронової кислоти в сироватці крові щурів: Г+Ц – група тварин, в яких моделювали гепатит С, а потім лікували цитофлавіном у дозі 0,5 мг на 100 г ваги тіла протягом 10 діб; n=6, * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,2$.

Порівняно з контролем у групі тварин з експериментальним гепатитом С концентрація гіалуронату зростала майже на 22%. При дії на хворих щурів цитофлавіном спостерігалось зниження рівня гіалуронової кислоти в сироватці крові в напрямку до контрольного значення, але через 10 діб лікування цей показник повністю не повернувся до значення норми. Гіалуронова кислота входить переважно до складу міжклітинної речовини, де період її напівіснування продовжується близько 8 год. Олігомери цієї кислоти проникають в лімфатичні судини, потім у лімфатичні вузли, де й відбувається остаточне розщеплення ферментом гіалуронідазою, яка синтезується у печінці. Рівень гіалуронової кислоти в сироватці крові є одним з біохімічних маркерів, що характеризують розвиток фіброзу печінки за умов експериментального гепатиту С (дані гістологічного дослідження печінки підтвердили наявність фіброзу печінки у піддослідних тварин).

Дослідження гіалуронатзв'язуючої активності білків у різних відділах мозку щурів показали, що при захворюванні на гепатит С досто-

вірно не змінювалася абсолютна кількість активних до зв'язування з гіалуронатом білків (рис. 2), але значно знижувалась відносна активність (у співвідношенні із загальною кількістю білків). Це може бути наслідком того, що при розвитку хронічного гепатиту в мозку піддослідних щурів збільшувалась кількість білків, неспецифічних до глікозаміногліканів. Застосування цитофлавіну призводило до перерозподілу співвідношення гіалуронату та білків у мозочку і гіпокампі.

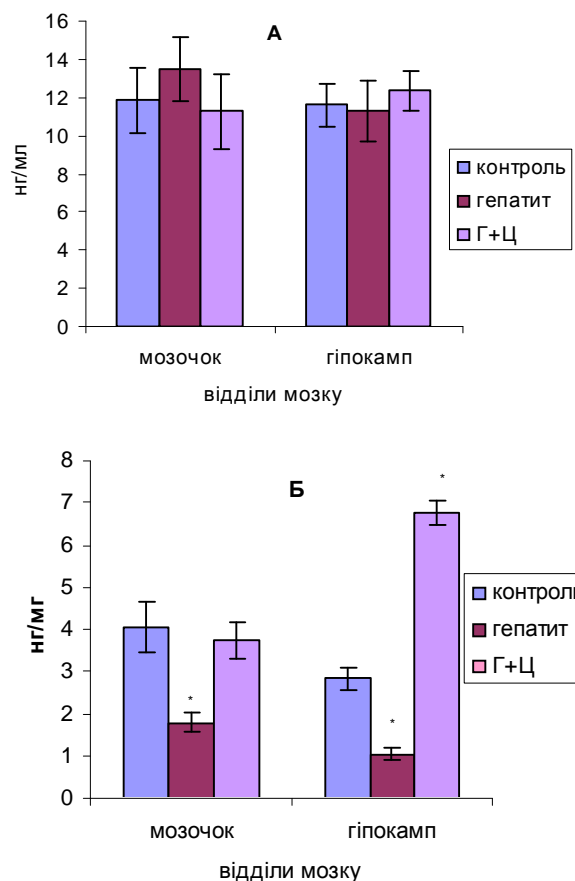


Рис. 2. Абсолютна (А) та відносна (Б) гіалуронатзв'язуюча активність цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів за нормальних умов та при експериментальному хронічному гепатиті С і дії цитофлавіну: n=6, * – $p < 0,001$.

ВИСНОВКИ. Підвищений рівень гіалуронової кислоти у сироватці крові може бути непрямим неінвазивним діагностичним показником рівня запалення та фіброзу печінки при гепатиті С. Експериментальний гепатит С не призводить до зміни центрів зв'язування гіалуронату в мозку піддослідних тварин, але характеризується зниженням відносної гіалуронатзв'язуючої активності цитозольних білків мозочка та гіпокампа щурів. Застосування цитофлавіну нормалізує обмін гіалуронату та білків порівняно з хворими тваринами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. 15752 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гепатиту С / Ніколенко В.Ю., Ніколенко Ю.І., Ніколенко О.Ю.; заявник та власник Донецький держ. мед. ун-т. – № 2006004614 заявл. 18.01.06; набрано чинності 17.07.06.
2. Ушакова Г.О. Роль глікозаміногліканзв'язуючих білків у морфогенезі та пластичності мозку: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук; Харк. нац. ун-т ім. В.Н. Каразіна. – Х., 2005. – 35 с.
3. Gandhi N.S., Mancera R.L. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins // Chem. Biol. Drug Des. – 2008. – **72**, № 6. – P. 455-482.
4. Gold E.W. The quantitative spectrophotometric estimation of total sulfated glycosaminoglycan levels // Biochemica et Biophysica Acta. - 1981. - **673**. - P. 408-415.
5. Takashi Yamada, Rumi Sawada, Toshie Tsuchiya. The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes // Biomaterials. – 2008. – **29**. – P. 3503-3513.
6. Ushakova G. Postnatal dynamics of the heparin-binding activity of rat cerebellar cells // Neurophysiology. – 1999. – **31**, № 2. – P. 140-141.

УРОВЕНЬ ГИАЛУРОНАТА И ОБЩЕЙ ГИАЛУРОНАТСВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

О.З. Фоменко, Г.А. Ушакова

ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

Резюме

Показано достоверное увеличение концентрации гиалуроновой кислоты в сыворотке крови крыс при моделировании хронического гепатита С и стабилизацию этого показателя при лечении цитофлавином. Проведены исследования изменений абсолютной и относительной гиалуронатсвязывающей активности цитозольных белков мозжечка и гиппокампа крыс при нормальных условиях, экспериментальном хроническом гепатите С и действии цитофлавина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический гепатит С, гиалуроновая кислота, гиалуронатсвязывающая активность, цитофлавин.

THE LEVEL OF HYALURONATE AND TOTAL HYALURONATE-BINDING ACTIVITY OF PROTEINS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CHRONIC HEPATITIS C

O.Z. Fomenko, H.O. Ushakova

DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY
BY OLES' HONCHAR

Summary

The reliable increase of hyaluronic acid concentration in blood serum of rats during modeling of chronic hepatitis C and stabilization of this index to normal values under treatment by cytoflavin was shown. The research of changes in absolute and relative hyaluronate-binding activity of cytosolic proteins of the cerebellum and hippocampus of rats under normal condition, experimental chronic hepatitis C and cytoflavin treatment was carried out.

KEY WORDS: chronic hepatitis C, hyaluronic acid, hyaluronate-binding activity, cytoflavin.

Отримано 11.09.2009 р.

Адреса для листування: О.З. Фоменко, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, просп. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49050, Україна.

РІВЕНЬ α_1 -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ТА ФРАГМЕНТІВ ФІБРОНЕКТИНУ В СЕЧІ ТА КРОВІ ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

І.В. Машейко, О.З. Бразалук, А.О. Мірошниченко, О.В. Курята, А.О. Кулініч
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Проведено дослідження вмісту α_1 -кислого глікопротеїну (АГП) і фрагментів фібронектину (ФН) у плазмі крові й сечі 43 хворих із хронічною серцевою недостатністю II-III функціональних класів (за NYHA). Зіставлення отриманих нами даних щодо концентрації в сечі альбуміну, АГП, ФН і його фрагментів свідчить про те, що поява в сечі білків з молекулярною масою, меншою 70 кДа, є загальною ознакою порушення ниркового бар'єру. Комплексне дослідження спектра фФН сечі й крові дозволяє встановити ступінь ураження нирок при хронічній серцевій недостатності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічна серцева недостатність, мікроальбумінурія, α_1 -кислий глікопротеїн, фібронектин, фрагменти фібронектину.

ВСТУП. Широко відомо, що одним із ранніх маркерів порушення ниркового бар'єру є мікроальбумінурія (МАУ) в межах від 30 до 300 мг/л [6]. У сучасних рекомендаціях кардіології МАУ розглядають як незалежний маркер не тільки ураження нирок, а й негативного прогнозу для хворих на серцево-судинні захворювання [3]. Екскреція білка із сечею може коливатись впродовж доби у досить значних межах: вночі зменшується на 30-50 % і, навпаки, підвищується після фізичного навантаження, досягаючи у деяких випадках 300 мг/л [2]. Отже, визначення МАУ є недостатньо специфічним показником серцево-судинного ризику.

Будь-яке запалення супроводжується залученням у патологічний процес екстрацелюлярного матриксу та, разом з цим, і білка міжклітинної адгезії фібронектину (ФН). Нативний фібронектин має молекулярну масу 440-450 кДа і не проходить через нирковий бар'єр, однак він легко деградує під дією різноманітних протеолітичних ферментів з утворенням середньо- і низькомолекулярних фрагментів (фФН) [1]. Білок гострої фази α_1 -кислий глікопротеїн (АГП), що відображає активність запального процесу, має молекулярну масу 40-45 кДа [4]. Молекулярна маса альбуміну більша і становить 68-70 кДа. З огляду на це, ми припустили, що поява АГП та низькомолекулярних фрагментів фібронектину в сечі може передувати МАУ і бути більш раннім і специфічним маркером, що характеризує ступінь тяжкості

хронічної серцевої недостатності (ХСН) і надає можливість діагностувати ниркові ускладнення на ранній стадії.

Метою нашого дослідження була оцінка рівня АГП і фФН у сечі та плазмі крові як маркерів ураження нирок у хворих із ХСН різних функціональних класів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежених хворих було поділено на такі групи: 1-ша – ХСН II функціонального класу (ФК) (n=32), 2-га – ХСН III ФК (за NYHA) з постінфарктним кардіосклерозом (n=11). До групи контролю ввійшли 12 здорових осіб, порівнянних за статтю і віком (3-тя група). Досліджували біологічні рідини (кров та сечу) після одержання згоди пацієнтів.

Концентрацію АГП і фібронектину визначали за допомогою імунодоту з подальшою обробкою отриманих даних програмою GelProAnalyser.0.32, загального білка – за методом Бредфорд.

Дослідження ступеня фрагментованості ФН проводили шляхом SDS- електрофорезу у градієнті щільності ПААГ 5-17,5 % та вестерн-блот аналізу з використанням кролячих антитіл до ФН. Як контроль застосовували комерційний препарат плазмового ФН (Sigma, США).

Статистичну обробку даних виконано за допомогою пакета програм "Статистика 6.0". Достовірність відмінностей оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У групі контролю α_1 -кислий глікопротеїн, фФН та альбумін

сечі визначаються у слідових кількостях. За наявності ХСН рівні всіх досліджуваних показників достовірно зростали відносно групи контролю. У сечі найвищі рівні АГП та фібрoneктину спостерігались у хворих 1-ї групи, альбуміну і загального білка – у пацієнтів 2-ї групи (табл. 1). У 1-й групі концентрація альбуміну корелювала з концентрацією загального білка, коефіцієнт кореляції Пірсона (r) для цієї пари показників становив 0,72. У 2-й групі концентрація альбуміну слабо корелювала з концентрацією загального білка ($r=0,41$) та вмістом фібрoneктину ($r=0,36$).

При дослідженні плазми крові простежувались інші закономірності: найвищу концентрацію фібрoneктину відмічено у 2-й групі, при-

чому вона достовірно відрізнялась від показників 1-ї групи та порівняно з нормою ($p<0,001$). Концентрація АГП у всіх досліджуваних осіб дещо збільшена відносно контролю, але достовірна лише у 1-й групі. Слід зазначити, що рівень АГП і ФН у сечі не корелював з таким у плазмі, отже, поява цих глікопротеїнів у сечі не залежить від їх синтезу гепатоцитами.

Аналіз ступеня фрагментованості ФН у плазмі крові показав суттєві відмінності між досліджуваними групами (рис. 1). На особливу увагу заслуговує збільшення кількості низькомолекулярних фФН у 1-й групі, що свідчить про активацію протеолізу в сполучній тканині при ХСН II ФК.

Таблиця 1 – Рівень загального білка, альбуміну, α_1 -кислого глікопротеїну і фібрoneктину в сечі та плазмі хворих досліджуваних груп

Група	n	Концентрація у сечі				Концентрація у плазмі	
		загальний білок, г/л	альбумін, г/л	АГП, мг/л	фібрoneктин, мг/л	АГП, г/л	фібрoneктин, г/л
I	32	0,101±0,023***	0,058±0,017*	4,22±1,778*	0,103±0,017**	1,025±0,087*	0,834±0,041***
II	11	0,411±0,186**	0,180±0,112	4,073±2,045	0,077±0,021*	1,094±0,194	1,392±0,155***
III	12	0,027±0,006	0,018±0,004	1,010±0,052	0,015±0,004	0,8688±0,0782	0,363±0,026

Примітка. *** $p<0,001$, ** $p<0,01$, * $p<0,05$.

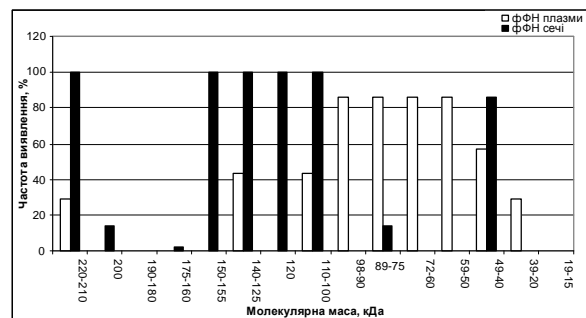
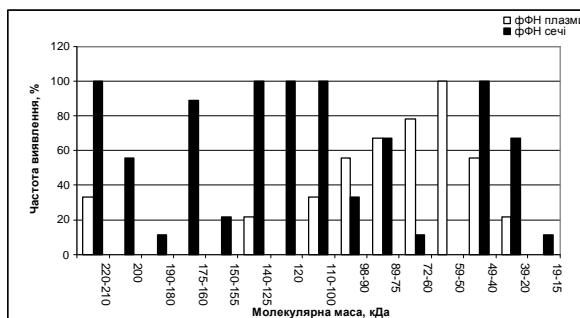


Рис. 1. Частота виявлення різних за молекулярною масою фрагментів фібрoneктину в плазмі крові та сечі пацієнтів досліджуваних груп: А – з ХСН II ФК (1-ша група); Б – з ХСН III ФК (2-га група).

Інша тенденція спостерігалась у сечі. Спектр фФН відрізнявся від спектра фФН плазми: у сечі хворих обох досліджуваних груп не визначався фФН з молекулярною масою (Мг) в межах 150-200 кДа, але ж з'являлись нові фрагменти з Мг 60-72 та 50-59 кДа. Цікаво, що фФН з Мг 120 кДа не визначався у сечі хворих обох груп, хоча більші за молекулярною масою фрагменти іноді з'являлись у сечі. Це може бути пов'язано з біологічною роллю даного фФН, зокрема функціонуванням його як хемоатрактанту, що

стимулює макрофаги до продукування цитокінів, які сприяють виживанню кардіоміоцитів [5].

ВИСНОВКИ. 1. Зіставлення отриманих нами даних щодо концентрації у сечі альбуміну, АГП, ФН та його фрагментів свідчить про те, що поява у сечі білків з молекулярною масою, меншою 70 кДа, є загальною ознакою порушення ниркового бар'єру.

2. Комплексне дослідження спектра фФН сечі та крові дозволяє встановити ступінь ураження нирок при хронічній серцевій недостатності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дзяк Г.В., Коваль Е.А., Иванов А.П., Шевцова А.И. Тип деградации фибронектина, как новый фактор риска тромботических и геморрагических осложнений острого инфаркта миокарда с зубцом Q // Серце і судини. – 2007. – № 1. – С. 39-51.
2. Bigazzi R., Bianchi S., Baldari D., Campese V.M. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension // J. Hypertension. – 1998. – **16**, № 9. – P. 1325-1333.
3. Moore M.A., Epstein M., Agodoa L., Dworkin L.D. Current strategies for management of hypertensive renal disease // Arch. Intern. Med. – 1999. – **159**, № 1. – P. 23-28.
4. Stekleneva N., Shevtsova A., Brazaluk O., Mashejko I. Alterations of human serum and urine orosomucoid concentration in inflammation diseases and leukemia // Annales Universitatis Mariae Curie-Slodowska, Lublin; 2008. – **21**, № 1. – P. 40-44.
5. Trial J., Rossen R., Rubio J., Knowlton A. Inflammation and ischemia: macrophages activated by fibronectin fragments enhance the survival of injured cardiac myocytes // Experimental Biology and Medicine. – 2004. – **229**, № 6. – P. 538-545.
6. Volpe M. Microalbuminuria Screening in Patients With Hypertension: Recommendations for Clinical Practice // Int. J. Clin. Practc. – 2008. – **62**, № 1. – P. 97-108.

УРОВЕНЬ α_1 -КИСЛОГО ГЛИКОПРОТЕИНА И ФРАГМЕНТОВ ФИБРОНЕКТИНА В МОЧЕ И КРОВИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

И.В. Машейко, А.З. Бразалук, А.А. Мирошниченко, А.В. Курята, А.А. Кулинич
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Проведено исследование содержания α_1 -кислого гликопротеина (АГП) и фрагментов фибронектина (ФН) в плазме крови и моче 43 больных с хронической сердечной недостаточностью II-III функциональных классов (по NYHA). Сопоставление полученных нами данных относительно концентрации в моче альбумина, АГП, ФН и его фрагментов свидетельствует о том, что появление в моче белков с молекулярной массой менее 70 кДа является общим признаком нарушения почечного барьера. Комплексное исследование спектра фФН мочи и крови позволяет установить степень поражения почек при хронической сердечной недостаточности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническая сердечная недостаточность, микроальбуминурия, α_1 -кислый гликопротеин, фибронектин, фрагменты фибронектина.

LEVEL OF α_1 -ACID GLYCOPROTEIN AND FRAGMENTS OF FIBRONECTIN IN URINE AND BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART INSUFFICIENCY

I.V. Masheyko, O.Z. Brazaluk, A.O. Miroshnychenko, O.V. Kuryata, A.O. Kulnich
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The content of α_1 -acid glycoprotein (AGP) and fragments of fibronectin (FN) in blood plasma and urine of 43 patients with chronic heart insufficiency of II-III functional classes (by NYHA) was investigated. The analysis of levels of albumin, AGP, native and fragmented FN in these biological fluids testifies that the occurrence of proteins with molecular weight under 70 kDa in urine is the common sign of nephritic barrier violation. Detection of spectrum of fFN in plasma and urine allows to establish the degree of kidneys defeat at chronic heart insufficiency.

KEY WORDS: chronic heart insufficiency, microalbuminuria, α_1 -acid glycoprotein, fibronectin, fragments of fibronectin.

Отримано 14.09.2009 р.

Адреса для листування: І.В. Машейко, Дніпропетровська державна медична академія, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна.

Із збірника – 011, ¹ 3, 2009

СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ РОЗВИТКУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ТА ГАЛЬМУВАННІ ЇЇ РОСТУ СПОЛУКАМИ РЕНІЮ

В.В. Івчук, Т.М. Полішко, О.О. Сорочан, Н.І. Штеменко
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

Досліджено стан печінки щурів при розвитку карциноми Герена та гальмуванні її росту цис-платином та кластерними сполуками ренію шляхом вивчення активності амінотрансфераз, лактатдегідрогенази та лужної фосфатази крові й тканин печінки тварин. З'ясовано, що при канцерогенезі відбувається інтенсивний цитоліз гепатоцитів, який ще більше активується цис-платином, а кластерні сполуки ренію гальмують цей процес. Показано активацію процесів переамінування, гліколізу та дефосфорилювання у клітинах печінки під дією ефективної протипухлинної системи реній-платина, що, ймовірно, пов'язано з адаптативними процесами у гепатоцитах. Серед використаних кластерних сполук ренію(III) було відмічено систему діамонійдіаква-тетра-μ-гідрофосфатдиренію(III) $(\text{NH}_4)_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] - (\text{Re}3)$, застосування якої призводило до нормалізації процесу вивільнення ферментів у кров, що свідчить про перспективність пошуку ефективних антиракових систем, які підтримують стан печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кластерні сполуки ренію, канцерогенез, печінка, цис-платин, гепатотоксичність.

ВСТУП. Печінка – центральний орган хімічного гомеостазу, де інтенсивно відбуваються процеси обміну і де вони тісно переплітаються [6]. Одна з найважливіших функцій цього органа – біотрансформаційна, що відіграє життєво вирішальну роль у процесах канцерогенезу і застосуванні хіміотерапії [1]. У процесі взаємодії гепатоцитів з гепатотоксичними речовинами відбуваються цитоліз і некроз клітин, які визначають за збільшенням діагностичних ферментів у кров'яному руслі, виходом деяких ферментів у міжклітинний простір і морфологією тканин печінки [7].

Нещодавно нами розроблено нову протипухлинну систему, що включає цис-платин та кластерну сполуку ренію з органічними лігандами (Re-Pt систему) [9], застосування якої призводить до повного зникнення пухлини у більшості експериментів з трансплантованою карциномою Герена.

Метою роботи було визначити, як впливає ця система на стан печінки щурів-пухлиноносіїв.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експериментах використовували такі форми комплексних сполук ренію(III): дихлоротетра-μ-ізобутирато-

диреній(III) $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2 - (\text{Re}1)$, дикаліїдіаква-μ-гідрофосфатдиреній(III) $\text{K}_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4]2\text{H}_2\text{O} - (\text{Re}2)$, діамонійдіаква-тетра-μ-гідрофосфатдиреній(III) $(\text{NH}_4)_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] - (\text{Re}3)$, дихлоротетра-μ-пропіонатодиреній(III) $\text{Re}_2(\text{C}_2\text{H}_5\text{COO})_4\text{Cl}_2 - (\text{Re}4)$, біс(дигідрофосфато)тетра-μ-ацетатдиреній(III) $[\text{Re}_2(\text{CH}_3\text{COOH})_4(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] - (\text{Re}5)$, тетра-μ-(1-адамантилкарбоксилато)диреній(III) хлорид $\text{Re}_2(\text{AdCOO})_4\text{Cl}_2 - (\text{Re}6)$. Дослідження проводили на щурах лінії Вістар масою 100-150 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Маніпуляції з ними виконували відповідно до правил Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (м. Страсбург, 1985). Суспензію клітин карциноми Герена Т8 (30 % у фізіологічному розчині) перещеплювали здоровим щурам від пухлиноносіїв, отриманих в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.О. Кавецького АН України. Тварин було поділено на групи: інтактні тварини (контроль); щури, яким трансплантували карциному Герена (Т8); щури-пухлиноносії, яким вводили цис-платин за схемою [10] (Т8+cis-Pt); щури-пухлиноносії, яким вводили цис-платин та: Re1 (Т8+cis-Pt+Re1), Re2 (Т8+cis-Pt+Re2), Re3 (Т8+cis-Pt+Re3), Re4 (Т8+cis-

© В.В. Івчук, Т.М. Полішко, О.О. Сорочан, Н.І. Штеменко, 2009.

Із збірника – 0.11, 1 3, 2009

Pt+Re4), Re5 (T8+cis-Pt+Re5), Re6 (T8+cis-Pt+Re6). Внутрішньоочередовне введення кластерних сполук ренію у дозі 7 $\mu\text{M}/\text{кг}$ починали на 3-й день після інокуляції ракових клітин і повторювали кожних 2 дні протягом 21 доби. Тварин декапітували на 21-шу добу після трансплантації пухлин. Плазму крові отримували шляхом центрифугування цільної крові при 2000 об./хв протягом 5 хв, гомогенат тканин печінки – шляхом її гомогенізації у 10 мл фізіологічного розчину. Ферментативну активність аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ) визначали у надосадовій рідині, що була отримана після центрифугування гомогенату.

Для визначення активності ферментів застосовували загальноприйняті методики з використанням стандартних наборів реактивів (Філісіт – Діагностика, Україна). Частину тканин печінки відбирали для гістологічних досліджень, які виконували за методикою [2]. Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Дані виражали у вигляді $M \pm m$. Достовірно відмінними вважали результати при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При розвитку карциноми активність АсАТ та АлАТ зростає майже втричі, під дією цис-платину за умов гальмування росту пухлини – більше ніж у 10 разів (табл. 1).

Таблиця 1 – Активність амінотрансфераз у плазмі крові щурів (мкмоль/год·мл) ($M \pm m$, $n=5-7$)

№ з/п	Умови експерименту	Активність АсАТ, мкмоль/год·мл	Активність АлАТ, мкмоль/год·мл	Коефіцієнт де Рітіса
1	Контроль	0,45 \pm 0,02	0,55 \pm 0,01	0,82 \pm 0,02
2	T8	1,50 \pm 0,09*	1,30 \pm 0,03*	1,15 \pm 0,03*
3	T8+цис-Pt	5,00 \pm 0,07*	1,16 \pm 0,02*	4,31 \pm 0,05*
4	T8+Re1+цис-Pt	1,26 \pm 0,03*	0,60 \pm 0,01	2,10 \pm 0,04*
5	T8+Re2+цис-Pt	1,25 \pm 0,03*	0,58 \pm 0,01	2,16 \pm 0,04*
6	T8+Re3+цис-Pt	0,49 \pm 0,01	0,40 \pm 0,01	1,23 \pm 0,03*
7	T8+Re3	1,50 \pm 0,03*	1,32 \pm 0,03*	1,14 \pm 0,03*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Коефіцієнт де Рітіса (КР, відношення АсАТ/АлАТ), що в нормі менший одиниці, досягає 5 в експериментах із цис-платином, що підтверджує його гепатотоксичність. У дослідженнях із використанням системи Re-Pt коефіцієнт де Рітіса більший, ніж у контролі, завдяки підвищенню активності АсАТ (табл. 1, № 4, 5), хоча цей параметр має набагато менші значення, ніж в експерименті з цис-платином, що свідчить про значне гальмування процесів пошкодження клітин печінки сполуками ренію. Особливо потрібно відмітити систему T8+Re3+цис-Pt (табл. 1, № 6), застосування якої призводить до нормалізації процесу вивільнення ферменту в кров та може свідчити про значну гепатостабілізуючу активність Re3. Проте використання даної сполуки без цис-платину (табл. 1, № 7) не поліпшує показників групи T8, де гальмування росту пухлини не відбувається. Це може свідчити про те, що основною причиною пошкодження гепатоцитів у даній моделі є ендотоксикоз, викликаний канцерогенезом, а порівняння з групою T8+цис-Pt (табл. 1, № 3) вказує на незначну гепатотоксичність Re3, який вводили у 4-кратній кількості відносно цис-платину.

Отримані нами дані свідчать про те, що при канцерогенезі відбувається інтенсивний цитолітичний процес гепатоцитів, який ще більше активується цитостатиком цис-платином, обмежене використання якого зумовлене його гепатотоксичністю. Відомо, що цитостатики суттєво підвищують чутливість гепатоцитів до ендотоксикозу, що виникає внаслідок розвитку канцерогенезу [3]. Введення сполук ренію гальмує цитолітичний процес при одночасному введенні з цис-платином і не впливає на його інтенсивність.

Цитоліз клітин печінки виникає завдяки порушенню цілісності мембран гепатоцитів та їх органел, що призводить до вивільнення клітинних компонентів у міжклітинний простір і кров. Цитолітична клітина може довгий час зберігати свою життєздатність, поступово наближаючись до стану некрозу. При цитолізі й некрозі ферменти, що вивільняються з гепатоцитів, швидко з'являються у плазмі крові, оскільки гепатоцити мають прямиий контакт з інтерстиціальним та внутрішньосудинним просторами; до того ж, проникність стінок капілярів печінки досить значна [4]. Біохімічна діагностика цитолізу печінки включає аналіз актив-

ності амінотрансфераз. При цьому КР вказує на природу пошкоджень клітин печінки. Гепатоцити містять більше АсАТ, ніж АлАТ, але перший фермент міститься як у цитоплазмі, так і в мітохондріях, а другий – переважно в цитоплазмі. При гострому вірусному гепатиті, наприклад на початку інфекційного процесу, спочатку пошкоджуються клітинні мембрани і в кров потрапляє більше цитозольних ферментів (КР<1); при хронічному гепатиті КР>1 і може досягати 10 норм, що свідчить про глибокі внутрішньоклітинні пошкодження клітин печінки.

З огляду на це, під впливом ендотоксикозу та цис-Pt відбувається пошкодження клітинних та внутрішньоклітинних мембран, а введення сполук ренію в системі Re-Pt гальмує ці процеси. Слід відмітити, що застосування системи Re-Pt набагато зменшує внутрішньоклітинні порушення порівняно з групою Т8 і, особливо, групою Т8+цис-Pt (приблизно втричі).

Активність ферментів у гомогенаті печінки піддослідних тварин набагато перевищує таку в крові, що віддзеркалює величезний біохімічний потенціал цього органа (табл. 2).

Таблиця 2 – Активність ферментів у гомогенаті печінки (М±m, n=5-7)

№ з/п	Умови експерименту	Активність АлАТ, мкмоль/год·мл	Активність АсАТ, мкмоль/год·мл	Активність ЛДГ, Е/л	Активність ЛФ, нмоль/с·л
1	Контроль	3,06±0,01	3,29±0,01	400±1,10	602±1,11
2	Т8	4,63±0,01*	4,98±0,01*	510±1,35*	696±1,27*
3	Т8+цис-Pt	6,12±0,04*#	6,70±0,05*#	1400±1,26*#	802±1,51*#
4	Т8+Re1+цис-Pt	6,64±0,01*#	6,83±0,03*#	1500±1,62*#	938±1,36*#
5	Т8+Re3+цис-Pt	6,89±0,01*#	6,87±0,01*#	800±1,21*#	710±1,28*
6	Т8+Re3	4,63±0,01*	4,35±0,01*	900±1,45*#	750±1,63*#
7	Т8+Re4+цис-Pt	6,13±0,02*#	6,53±0,01*#	1500±1,47*#	857±1,29*#
8	Т8+Re5+цис-Pt	6,87±0,02*#	6,89±0,02*#	1400±1,36*#	1024±1,52*#
9	Т8+Re6+цис-Pt	6,87±0,02*#	6,96±0,02*#	1500±1,23*#	983±1,31*#

Примітка. * – p<0,05 відносно контролю; #<0,05 відносно Т8.

Активізація в клітинах печінки АсАТ та АлАТ віддзеркалює інтенсифікацію процесів переамінування амінокислот, що спрямоване на створення пулу метаболітів для глюконеогенезу та адаптації до несприятливих факторів. Так, розвиток пухлини підвищує на порядок активність обох амінотрансфераз, а гальмування цього процесу цис-платином призводить до зростання активності ферментів майже вдвічі порівняно з контролем. Застосування системи Re-Pt збільшує активність АсАТ та АлАТ. Але слід відмітити, що використання сполуки Re3 без цис-платину дещо зменшує активність обох ферментів до рівня групи Т8. Отримані нами дані узгоджуються з даними про активацію протеолітичних процесів у тканинах та підвищення активності ключових ферментів глюконеогенезу за умов оксидативного стресу, спричиненого розвитком пухлини [5, 8]. Зниження активності ферментів у руслі крові під дією сполук ренію з одночасним підвищенням її у внутрішньоклітинному пулі, ймовірно, пов'язане з їх участю у формуванні захисних реакцій у клітинах печінки [5, 11].

Лактатдегідрогеназа – гліколітичний цитозольний цинковмісний фермент, що зворотно каталізує окиснення лактату в піровиноградну кислоту [4]. Встановлено, що при розвитку пухлини активність даного ферменту дещо підвищується (табл. 2). Подальше зрос-

тання активності, майже в 3,5 раза порівняно з контролем і в 2,5 раза порівняно з Т8, відбувається при гальмуванні росту пухлини цис-платином. За використання системи Re-Pt спостерігається збільшення активності ЛДГ порівняно з контролем, що, на нашу думку, свідчить про активацію кінцевого етапу гліколітичного шляху під впливом цих сполук.

Функція лужної фосфатази в організмі полягає у підтримці концентрації фосфату в клітині [4]. За канцерогенезу Т8 активність ЛФ (табл. 2) незначно зростає. У групі тварин Т8+цис-Pt активність ферменту підвищується на порядок. Як і в попередніх випадках, використання протипухлинної системи Re-Pt призводить до зростання активності ЛФ, що вказує на інтенсифікацію процесів дефосфорилювання, які підтримують внутрішньоклітинну концентрацію фосфату, крім двох груп – Т8+Re3+цис-Pt та Т8+Re3, де активність ферменту перебуває майже на рівні групи Т8. Отже, ми вважаємо, що підвищення активностей досліджуваних ферментів у внутрішньоклітинному пулі гепатоцитів при застосуванні ефективної протипухлинної системи Re-Pt на фоні зменшення їх виходу в кров'яне русло пов'язане зі збільшенням біохімічного потенціалу гепатоцитів у процесі адаптації до зовнішніх чинників.

Це припущення підтверджується гістологічними дослідженнями (рис. 1, 2).

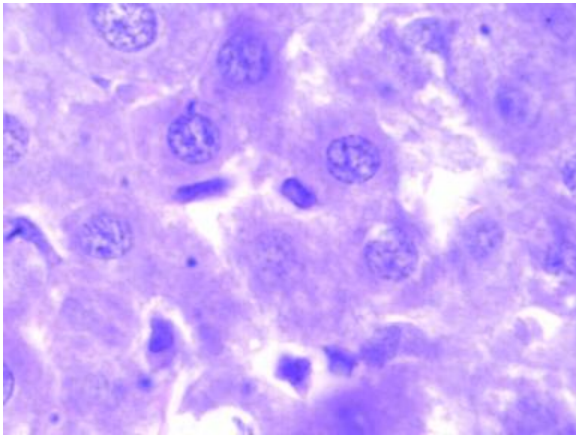


Рис. 1. Гістологічний мікропрепарат тканини печінки за розвитку пухлини та введення цис-Pt (x100; гематоксилін-еозин).

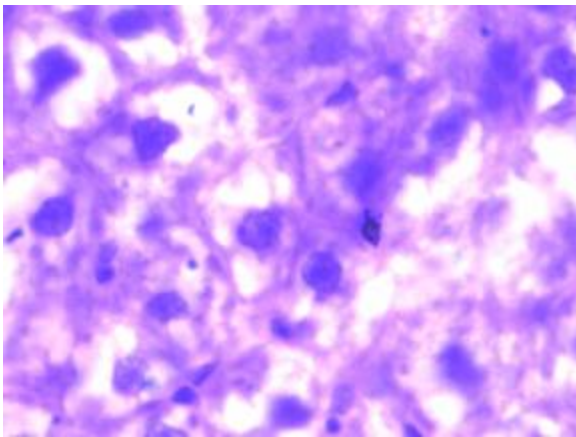


Рис. 2. Гістологічний мікропрепарат тканини печінки за використання протипухлинної системи T8+Re3+цис-Pt (x100; гематоксилін-еозин).

При введенні цис-платину (рис. 1) в гістологічних препаратах спостерігаються виражене венозне повнокрів'я з атрофією гепатоцитів центральної зони часточок печінки; вираже-

ЛІТЕРАТУРА

1. Болезни печени и желчевыводящих путей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – М.: Медицина, 2002. – 432 с.
2. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. – М.: Медицина, 1971. – 272 с.
3. Городецкий В.М. Осложнения противоопухолевой терапии // Гематология и трансфузиология. – 1998. – № 1. – С. 11-15.
4. Никитина Л.П. Биохимия печени в норме и при патологии. – Чита, 2004. – 50 с.
5. Охріменко С.М. Активність амінотрансфераз та аргінази в деяких органах щурів при дії хлориду кобальту та ртуті: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків, 2006. – 20 с.
6. Титов В.Н. Биохимические методы диагностики патологии печени // Тер. арх. – 1993. – 65, № 2. – С. 85-89.

ний набряк просторів Діссе; перипортальний некроз одиночних гепатоцитів зі слабкою та помірною запальними реакціями. Спостерігається зерниста дистрофія гепатоцитів.

За використання протипухлинної системи T8+Re3+цис-Pt (рис. 2) спостерігається збереження балкової структури тканин печінки. Ядра гепатоцитів – з дрібнодисперсним хроматином. Некроз та склероз тканин відсутні.

ВИСНОВКИ. Вперше вивчено вплив протипухлинної системи реній-платина на активність аспартатамінотрансферази, аланін-амінотрансферази, лактатдегідрогенази, лужної фосфатази у плазмі крові та гомогенаті тканин печінки щурів-пухлиноносіїв.

З'ясовано, що при канцерогенезі відбувається інтенсивний цитоліз гепатоцитів, який ще більше активується цис-платином, а кластерні сполуки ренію гальмують цей процес. Під дією ефективної протипухлинної системи реній-платина активуються процеси переамінування, гліколізу та дефосфорилування у клітинах печінки, що, ймовірно, пов'язано з адаптаційними процесами у гепатоцитах. Серед використаних кластерних сполук ренію(III) потрібно відмітити систему діамонідиаква-тетра- μ -гідрофосфатдиренію(III) $(\text{NH}_4)_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ – (Re3), застосування якої призводить до нормалізації процесу вивільнення ферментів у кров та свідчить про значну гепатостабілізуючу активність.

Отримані експериментальні дані свідчать про перспективність проведення подальших досліджень стану печінки за використання протипухлинних систем реній-платина та можливість знаходження ефективних антиракових систем, що підтримують стан печінки.

7. Ях'я Баккар. Активність амінотрансфераз, фосфатаз і деяких оксидаз крові у динаміці дії нових похідних оксанілової кислоти: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Сімферополь, 2003. – 20 с.

8. Hofmann M.A., Gabriel V., Milling A. et al. High-dose platinum combination therapy in pretreated patients with disseminated melanoma // Chemotherapy. – 2007. – 53, № 6. – P. 8-22.

9. Shtemenko N., Collery P., Shtemenko A. Dichlorotetra- μ -isobutyrate dirhenium (III): Enhancement of Cisplatin Action and RBC-stabilizing Properties // Anticancer Research. – 2007. – 27. – P. 2487-2492.

10. Taylor S.K. Erythropoietine (Erh-ipo) more than treatment of anemia in cancer and chemotherapy? // Medical Hypothesis. – 2003. – 60, № 1. – P. 89-93.

11. Zorzi D., Laurent A., Pawlik T.M. et al. Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases // Br. J. Surg. – 2007. – 94, № 3. – P. 86-95.

СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА И ТОРМОЖЕНИИ ЕЕ РОСТА СОЕДИНЕНИЯМИ РЕНИЯ

В.В. Ивчук, Т.Н. Полишко, О.А. Сорочан, Н.И. Штеменко
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

Резюме

Исследовано состояние печени крыс при развитии карциномы Герена и торможении ее роста цис-платином и кластерными соединениями рения путем изучения активности аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы крови и тканей печени животных. Выяснено, что при канцерогенезе происходит интенсивный цитолиз гепатоцитов, который еще больше активизируется цис-платином, а кластерные соединения рения тормозят этот процесс. Показано активацию процессов переаминирования, гликолиза и дефосфорилирования в клетках печени под действием эффективной противоопухолевой системы рений-платина, что, вероятно, связано с адаптационными процессами в гепатоцитах. Среди использованных кластерных соединений рения(III) была отмечена система диаммонийдиаква-тетра-μ-гидрофосфатдирения(III) $(\text{NH}_4)_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] - (\text{Re}3)$, применение которой приводило к нормализации процесса высвобождения ферментов в кровь, что свидетельствует о перспективности поиска эффективных антираковых систем, которые поддерживают состояние печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кластерные соединения рения, канцерогенез, печень, цис-платин, гепатотоксичность.

STATE OF RAT LIVER DURING DEVELOPMENT OF GUERIN CARCINOMA AND INHIBITION OF ITS GROWTH BY RHENIUM COMPOUNDS

V.V. Ivchuk, T.M. Polishko, O.O. Sorochan, N.I. Shtemenko
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY BY OLES' HONCHAR

Summary

The investigation of the state of rat liver during development of Guerin carcinoma and inhibition of its growth by cis-platinum and rhenium cluster compounds by studying the activity of aminotransferase, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase of blood and liver tissue of animals was carried out. It was revealed that during carcinogenesis occurs intensive cytolysis of hepatocytes, which further activates the cis-platinum, and rhenium cluster compounds inhibit the process. It was shown the activation of reamination, glycolysis and dephosphorylation in cells of the liver under influence of effective anticancer platinum-rhenium system, which is probably related to adaptation processes in hepatocytes. Among the compounds used cluster rhenium (III) was a system diammoniumdiakua-tetra-μ-hydrophosphatedirhenium(III) $(\text{NH}_4)_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] - (\text{Re}3)$, the application of which led to normalization of the process of enzymes release in blood, thus promising to find the effective anticancer systems that support the liver condition.

KEY WORDS: rhenium cluster compounds, carcinogenesis, liver, cis-platinum, hepatotoxicity.

Отримано 19.05.2009 р.

Адреса для листування: В.В. Івчук, вул. Мелешкіна, 40/194, Кривий Ріг, 50008, Україна.

ГЛЮКОКОРТИКОЇДНА ФУНКЦІЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ І СТАН СЛИЗОВОГО БАР'ЄРУ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ РЕАГУВАННЯ

Л.М. Тарасенко, О.Є. Омельченко
УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

В експериментах на щурах-самцях лінії Вістар доведено, що виразкові пошкодження, захисний бар'єр слизової оболонки шлунка та глюкокортикоїдна функція кори надниркових залоз за умов гострого стресу тісно пов'язані з типом реагування та стресостійкістю організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий стрес, тест "відкрите поле", тип реагування, кортикостерон, виразки шлунка.

ВСТУП. Стрес характеризується генералізованою реакцією нейрогуморальних та вісцеральних систем організму, що формують адаптацію до надзвичайних чинників [6]. Глюкокортикоїди і катехоламіни є головними стрес-гормонами, які реалізують підвищення енергозабезпечення органів і тканин. Поряд з активацією стрес-системи мобілізуються стреслімітувальні механізми, які обмежують стресреакції та їх пошкоджувальний вплив на тканини.

О.Ю. Майоров доповнив критерії стресостійкості організму з використанням факторного аналізу на підставі тесту "відкрите поле" [2]. Але нам невідомі дані про зіставлення поведінкових і вегетативних реакцій тварин з характером змін глюкокортикоїдної функції надниркових залоз.

Метою даного дослідження було зіставити стресостійкість організму з рівнем кортикостерону в сироватці крові щурів і станом слизового бар'єру шлунка.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 66 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 160-220 г. При їх проведенні дотримувались норм біомедичної етики щодо медико-біологічних досліджень. Гострий емоційний стрес відтворювали за методом Г. Сельє [5]. Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті "відкрите поле" з використанням факторно-аналітичного методу [2].

Забір тканин проводили через 2 год після завершення стресорного впливу. Евтаназію

тварин здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Визначали ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка (СОШ): частоту (%), множинність (кількість виразок на одну тварину) та площу ульceraцій [4]. Досліджували також відносну масу надниркових залоз і тимуса. Стан слизового гелю шлунка оцінювали за вмістом мономерів глікопротеїнів (ГП) – N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) [1] та фукози, не зв'язаної з білками [8]. Одержані дані піддавали математико-статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента та парних коефіцієнтів кореляції Пірсона (r).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За поведінковими та вегетативними критеріями реакцій у тесті "відкрите поле" тварин поділяли на 2 типи: стресонестійкі й стресостійкі. Щурам стресонестійкого типу були властиві висока рухливість та дослідницька активність, мала швидкість адаптації в поєднанні з підвищеною тривожністю. Реакції тварин стресостійкого типу на незнайому обстановку майданчика для тестування характеризувались середньою та малою рухливістю щурів і дослідницькою активністю, великою швидкістю адаптації та низьким рівнем тривожності.

У контрольних групах щурів, залежно від типу реагування, спостерігалися суттєві відмінності глюкокортикоїдної функції надниркових залоз, а саме: вихідний рівень кортикостерону в сироватці крові тварин стресонестійкого типу був вірогідно вищим порівняно зі щурами стресостійкого типу (табл. 1). За умов моделювання гострого стресу мали місце

суттєві відмінності ульцерогенного впливу на СОШ. Частота, тяжкість і множинність стресорних виразок у тварин стресонестійкого типу вірогідно були більшими відносно показників щурів стресостійкого типу. Рівень кортикостерону тісно корелював з досліджуваними показниками "відкритого поля", але найтісніше він пов'язаний з поведінковими тестами (грумингом та показниками вегетативного балансу), що характеризують рівень тривожності.

Фізіологічною основою взаємозв'язку досліджуваних параметрів стресостійкості та глюкокортикоїдної функції надниркових залоз є

провідна роль лімбічної системи, що формує емоційний стрес та забезпечує адаптацію організму за рахунок вегетативних, соматичних і поведінкових реакцій [3]. Унікальні ендокринні нейрони гіпоталамуса суміщають нейропровідникові та секреторні функції. У щурів головним показником синтезу і секреції глюкокортикоїдів кори надниркових залоз є кортикостерон. За умов стресу гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозна система (ГГНС) через кортикотропін-рилізінг фактор і кортикотропін швидко (вже через 2 хв) підсилює синтез кортикостерону в корі надниркових залоз.

Таблиця 1 – Глюкокортикоїдна функція кори надниркових залоз та показники стресорного ушкодження слизової оболонки шлунка у щурів з різними типами реагування (M±m)

Показник	Група тварин			
	стресостійкі		стресонестійкі	
	контроль (n=8)	гострий стрес (n=8)	контроль (n=8)	гострий стрес (n=8)
Вміст кортикостерону в сироватці крові, нмоль/л	339,31±10,16	401,01±5,50 p<0,001*	395,11±3,00	418,56±2,58** p<0,001*
Відносна маса тимуса, мг/100 г маси тіла	76,51±3,22	57,75±1,75 p<0,001*	64,92±1,41	51,45±2,13 p<0,001*
Наднирковозалозний коефіцієнт, мг/100 г маси тіла	25,7±0,98	31,4±1,32 p<0,01*	28,45±1,2	35,86±1,96 p<0,01*
1. Виразки шлунка:				
– частота, %	–	75	–	100
– множинність	–	1,77±0,32	–	3,66±0,4 (p<0,01*)
– площа, мм ²	–	2,66±0,58	–	9,33±1,72 (p<0,01*)
2. Вміст N-ацетилнейрамінової кислоти, мкмоль/г	43,81±2,05	59,12±3,2 (p<0,01*)	51,75±2,38	73,75±4,55 (p<0,01*)
3. Вміст фукози, не зв'язаної з білками, мкмоль/г	1,77±0,36	2,85±0,27 (p<0,05*)	1,98±0,3	3,74±0,49 (p<0,01*)

Примітка. * – порівняно з контролем відповідного типу реагування; ** – в даній дослідній підгрупі на відміну від інших n=10.

Таким чином, гіпоталамічні механізми забезпечують тісний зв'язок фізіологічних, вегетативних і гормональних реакцій з певними типами поведінки, що обґрунтовує високу інформативність вмісту кортикостерону в крові щурів для оцінки стресостійкості організму.

Активация ГГНС – провідного ланцюга стрес-системи – обґрунтовує використання тесту "відкрите поле" та рівня кортикостерону як об'єктивних критеріїв стресостійкості організму. Найбільш чутливими проявами реактивності щурів до стресогенних впливів варто назвати грумінг, кількість уринацій та дефекацій, які найтісніше корелюють з рівнем кортикостерону в сироватці крові щурів.

Досить чутливим показником розвитку стрес-синдрому є утворення виразок шлунка.

Вважають, що в основі їх патогенезу лежать ішемія СОШ та зниження резистентності слизової оболонки [9]. Як відомо, одним із важливих механізмів зниження захисної функції СОШ за умов стресу є підвищення катаболізму глікопротеїнів [7]. Наведені в таблиці 1 дані свідчать про тісний зв'язок між типом реагування щурів і станом слизового бар'єру шлунка. У тварин стресонестійкого типу спостерігається більш підвищений катаболізм ГП порівняно зі щурами стресостійкого типу.

ВИСНОВОК. Соматичні пошкодження за умов гострого стресу тісно пов'язані з типом реагування організму, тобто з характером поведінкових реакцій та глюкокортикоїдною функцією кори надниркових залоз.

ЛІТЕРАТУРА

1. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 313 с.
2. Майоров О.Ю. Прогнозування індивідуальної стійкості білих щурів до експериментальних емоціональних стресів за даними нейроетологічних показників в тесті “відкритого поля” // XII з’їзд Укр. фізіол. т-ва ім. І.П. Павлова: Тези доп. – Львів, 1986. – С. 250.
3. Ониани Т.Н. Частная физиология нервной системы. – Л.: Наука, 1983. – 449 с.
4. Пшенникова М.Г., Попкова Е.В., Шимкович М.В. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – № 10. – С. 383-386.
5. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
6. Судаков К.В. Индивидуальность эмоционального стресса // Журн. неврол. и психиатрии. – 2005. – **105**, № 2. – С. 4-13.
7. Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Скрыпник И.Н. и др. Индивидуальные особенности стрессорной реакции органов пищеварения, связанные с типом реагирования нервной системы // Архив клин. и эксперим. мед. – 2000. – **9**, № 1. – С. 103-105.
8. Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. и др. Метод определения фукозы, не связанной с белками // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – № 4. – С. 17-18.
9. Desiderato O., MacKinnon J., Hissom H. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – **87**. – P. 208-214.

ГЛЮКОКОРТИКОИДНАЯ ФУНКЦИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ И СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОГО БАРЬЕРА ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА У КРЫС С РАЗНЫМИ ТИПАМИ РЕАГИРОВАНИЯ

Л.М. Тарасенко, А.Е. Омельченко

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

В экспериментах на крысах-самцах линии Вистар доказано, что язвенные повреждения, защитный барьер слизистой оболочки желудка и глюкокортикоидная функция коры надпочечников в условиях острого стресса тесно связаны с типом реагирования и стрессоустойчивостью организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый стресс, тест “открытое поле”, тип реагирования, кортикостерон, язвы желудка.

GLUCOCORTICOID FUNCTION OF ADRENAL GLANDS AND CONDITION OF STOMACH MUCOUS BARRIER DURING ACUTE STRESS IN RATS WITH DIFFERENT REACTING TYPE

L.M. Tarasenko, O.Ye. Omelchenko

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

It was proved on male Vistar rats that ulcer damages, protective mucous barrier of the stomach and glucocorticoid function of the adrenal glands cortex during acute stress are closely connected with the reacting type and the level of organism stress resistance.

Отримано 8.09.2009 р.

Адреса для листування: Л.М. Тарасенко, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

Із збірника – 0.11, ¹ 3, 2009

ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ТІОЛВІСНИХ СПОЛУК З КАТЕПСИНОМ L В ОРГАНАХ БЛИХ ЩУРІВ

О.В. Устянська, О.В. Шварцова, С.А. Петров
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Вивчено дію тіолвісних сполук на активність препарату очищеного катепсину L з органів білих щурів. Встановлено, що тіамін, цистеїн та цистин інгібують активність катепсину L. Аналіз впливу тіаміну свідчить про некоферментну дію цього вітаміну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **тіамін, протеолітичні ферменти, катепсин L.**

ВСТУП. Вивчення некоферментних функцій тіаміну є новим напрямком у вітамінології. За останні два десятиріччя в нашій лабораторії отримано дані щодо регуляції активності протеолітичних ферментів тіаміном та його метаболітами.

Однак механізми цього явища вивчено недостатньо. Не розглядалась взаємодія ферментів із простими продуктами катаболізму тіаміну в організмі.

Як показують результати досліджень, сам тіамін та, особливо, продукти його окиснення і розпаду в організмі здатні діяти на активність багатьох ферментів. Так, у нашій лабораторії було підтверджено інгібування АсАТ й АлАТ тіаміном. Відома роль тіаміну в обміні, зокрема в переамінуванні, амінокислот. Встановлено також некоферментний вплив тіаміну й на інші процеси обміну амінокислот, зокрема їх окиснювальне дезамінування. Вивчено вплив тіаміну і його метаболітів на активність очищених препаратів пепсину і трипсину [8].

Однак вплив тіаміну та його метаболітів на активність тіолвісного катепсину L досі не з'ясовано. Тому метою дослідження було вивчити вплив тіолвісних сполук на активність препарату катепсину L, отриманого з тонкої кишки та нирок білих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Джерелом досліджуваного ферменту слугували тканини нирок і тонкої кишки білих безпородних щурів. Тварин (10 самців масою 180-200 г) утримували у стандартних умовах віварію. Маніпуляції з ними проводили відповідно до Європейської конвенції про захист тварин, які викорис-

товуються для експериментальної наукової мети. Виводили щурів з експерименту електричним струмом.

Тканини гомогенізували в 0,9 % розчині NaCl у співвідношенні 1:10 протягом 4-5 хв.

Отриманий гомогенат тканин центрифугували при 10 000 об./хв (+4 °C) упродовж 40 хв.

З тканини тонкої кишки та нирок методами екстракції, діалізу, фракціонування $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, хроматографії на сефадексі G – 50 було отримано препарати катепсину L з 40 та 60 % виходу та коефіцієнтами очищення – в 212 і 372 рази відповідно.

В передінкубаційну рідину додавали 0,1 мл розчину 1 % тіаміну. В інші проби замість тіаміну додавали 1 М розчин цистеїну або цистину. Активність катепсину L визначали за методом Чорної [18] в модифікації Вовчук [5]. Метод оснований на визначенні кількості продуктів гідролізу білкового субстрату – азоказеїну, синтезованого за методом Суринова [15]. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 366 нм на спектрофотометрі СФ – 26.

Питому активність виражали в мкмолях на 1 мг білка.

Білок визначали за методом Лоурі [20].

Для обчислення отриманих результатів застосовували методи статистичного аналізу з використанням параметричних критеріїв оцінки розбіжності між вибірками. Достовірно різними вважали результати при $p < 0,05$ [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вивчення активності катепсину L із тканин нирок і тонкої кишки з внесенням розчину тіаміну, цистеїну та цистину порівняно з контролем показало вірогідне зниження активності даного ферменту (табл. 1).

© О.В. Устянська, О.В. Шварцова, С.А. Петров, 2009.

Таблиця 1 – Активність катепсину L під впливом тіаміну, цистеїну, цистину в тканинах білих щурів (мкМ/мг білка)

Орган	Конц. азоказеїн, %	Контроль	Тіамін	Цистеїн	Цистин
Нирки	1	60,000± 0,098	3,700±* 0,078	1,000±* 0,130	34,000* 0,232
Тонка кишка	1	44,500± 0,085	0,500±* 0,182	0,700±* 0,212	0,700±* 0,190

Примітка. * – вірогідна відмінність відносно контролю, $p < 0,05$.

Встановлено, що фермент з нирок найбільше інгібується за присутності цистеїну (99,8 %). Тіамін призводить до вірогідного зниження активності катепсину L (93,84 %), але в 3 рази менше, ніж цистеїн. Що стосується цистину, то він достовірно інгібує фермент, і відсоток інгібування складає 43,3.

Тіамін вірогідно інгібує досліджуваний фермент із тканини тонкої кишки білих щурів майже на 100 %. Тіолвімісні амінокислоти цистеїн і цистин поводять себе однаково, знижуючи активність катепсину L з даного органа з відсотком інгібування 98,8.

Як свідчать отримані дані, тіамін, цистеїн, цистин інгібують активність катепсину L із тканини нирок і тонкої кишки білих щурів. При

цьому відсоток інгібування за присутності цистину відрізняється: реакційна спроможність ферменту з тонкої кишки знижується більш ніж у 2 рази порівняно з нирками.

Отримані дані дозволяють припустити, що інгібуючий ефект тіаміну, цистеїну та цистину, пов'язаний з дисульфідними взаємодіями між тіолвімісними сполуками та цистеїновими залишками активного центру катепсину L, призводить до зниження його реакційної спроможності.

ВИСНОВКИ. 1. Встановлено, що тіамін, цистеїн та цистин інгібують активність катепсину L у досліджуваних органах.

2. Аналіз впливу тіаміну свідчить про некоферментну дію цього вітаміну.

ЛІТЕРАТУРА

- Александров С.Л. Эффективность протеолитических ферментов // Биорганическая химия. – 1994. – **20** (2). – С. 126-133.
- Аль-Яссаби С. Очистка и характеристика катепсина L из скелетных мышц ящерицы // Биохимия. – 2000. – **65** (8). – С. 1130-1134.
- Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – С. 148-157.
- Веремеенко К.М., Голобородько О.П., Кизим О.Й. Дослідження активності протеїназ загальної та специфічної дії, α_1 -інгібітора протеїназ, лізоциму і каталази в ротовому секреті у пацієнтів з алергічними захворюваннями верхніх дихальних шляхів // Лік. справа. – 2002. – **7** (1065). – С. 2-7.
- Вовчук И.Л., Чернадчук С.С. Активность тканевых Катепсин-L-подобных протеиназ у женщин с онкопатологией тела матки // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76** (2). – С. 124-129.
- Костерін С.О., Прилуцький Ю.І., Бориско П.О. Кінетичний аналіз дії оборотних ефektorів (інгібіторів та активаторів) на ферментативну (транспортну) активність білків // Укр. біохім. журн. – 2005. – **77** (1). – С. 113-124.
- Масалов В.В. Новое о природных ингибиторах протеолитических ферментов // Биорганическая химия. – 1998. – **24** (5). – С. 332-340.
- Петров С.А. Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов // Биомедицинская химия. – 2006. – **52**, вып. 4. – С. 335-345.
- Пилипчук С. Ю., Пархоменко Ю.М., Протасова З.С. Взаємодія тіамінкінази мозку щурів із тіаміном і його похідними // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73** (2). – С. 51-54.
- Пупышев А.Б. Лизосомы человека: Библиометрическая оценка актуальных направлений исследований // Бюллетень СО РАМН. – 2006. – **1** (119). – С. 106-115.
- Рокицкий П.Ф. Биохимическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1973. – 326 с.
- Руденская Г.Н., Пупов Д.В. Цистеиновые протеиназы микроорганизмов и вирусов // Биохимия. – 2008. – **73** (1). – С. 3-17.
- Румш Л.Д. Химия протеолиза // Биорганическая химия. – 1994. – **20** (2). – С. 85-99.
- Сребняк І.А., Кизим О.Й. Дослідження активності катепсину В в біологічних рідинах та перифокальних тканинах середнього вуха у хворих на хронічний гнійний середній отит з холестоматомою // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2007. – № 1. – С. 12-14.
- Суринов Б.П., Манойлов С.Е. Определение активности протеолитических ферментов с помощью азоказеина // Вопр. мед. хим. – 1965. – **11**, № 5. – С. 55-58.
- Черная В.И. Влияние однократного и хронического рентгеновского облучения низкой интенсивности на активность катепсина L мозга крыс // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73** (2). – С. 97-102.

17. Черная В.И. Катепсин L из опухоли мозга человека. Очистка и содержание // Укр. біохім. журн. – 1998. – **70** (5). – С. 97-103.
18. Черная В.И., Рева А.Д. Активность катепсина Н в мозге и опухолях мозга человека // Укр. біохім. журн. – 1989. – **61**, № 5. – С. 47-50.
19. Яковлев А.А., Гороховатский А.Ю., Онуфриев А.Ю. Катепсин мозга способен расщеплять субстрат каспазы // Биохимия. – 2008. – **73** (3). – С. 408-412.
20. Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Fan A.Z., Randol R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265-275.
21. Turk V., Turk B., Turk D. Lysosomal distine proteases: facts and opportunities // The EMBO J. Eur. Molec. Biol. Organization.. – 2001. – **20**, № 17. – P. 4629-4633.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТИОЛСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ С КАТЕПСИНОМ L В ОРГАНАХ БЕЛЫХ КРЫС

О.В. Устьянская, О.В. Шварцова, С.А. Петров
ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.И. МЕЧНИКОВА

Резюме

Изучено воздействие тиолсодержащих соединений на активность препарата очищенного катепсина L из органов белых крыс. Установлено, что тиамин, цистеин, цистин ингибируют активность катепсина L. Анализ влияния тиамина свидетельствует о некоферментном действии этого витамина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **тиамин, протеолитические ферменты, катепсин L.**

STUDY OF CATHEPSIN-L-THIOL-CONTAINED COMPOUNDS INTERACTION- IN WHITE RATS' ORGANS

O.V. Ustyanska, O.V. Shvartsova, S.A. Petrov
ODESSA NATIONAL UNIVERSITY BY I.I. MECHNYKOV

Summary

The impact of thiol-contained compounds on the activity of purified preparation of cathepsin L in white rats' organs has been studied. It has been found out that thiamine, cystein and cystin inhibit cathepsin L activity. Thiamine - impact analysis testifies to cofermentation effect of this vitamin.

KEY WORDS: **thiamine, proteolytic enzymes, cathepsin L.**

Отримано 11.09.2009 р.

Адреса для листування: О.В. Устьянска, Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, пров. Шампанський, 2, Одеса, 65058, Україна.

АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ ТА ПУРИНІВ В ЕРИТРОЦИТАХ ПАЦІЄНТІВ З ВИРАЗКОВОЮ ХВОРОБОЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ

О.М. Бакурова, Ю.Д. Турсунова, Б.Г. Борзенко
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. ГОРЬКОГО

Під час старіння у здоровому організмі в еритроцитах спостерігається зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та аденозиндезамінази, що може бути пов'язано з клітинною дисфункцією та сприяти посиленню гіпоксичних процесів в осіб похилого віку. При виразковій хворобі порушення обміну вуглеводів та пуринів в еритроцитах корелюють з її перебігом. Вони є максимальними у пацієнтів з ускладненим перебігом хвороби та диспроліферативними змінами в слизовій оболонці шлунка.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: еритроцит, ферменти, вік, виразкова хвороба.

ВСТУП. Під час лікування треба враховувати, що вік впливає на характер перебігу захворювань. Відомо, що в пацієнтів похилого віку з виразковою хворобою (ВХ) морфофункціональні порушення в еритроцитах є одним із чинників розвитку суттєвих дистрофічних змін у слизовій оболонці шлунка [5]. Це може залежати від змін обміну речовин в еритроцитах, тому дослідження особливостей метаболізму еритроцитів у хворих на ВХ різного віку має певне значення.

Метою нашої роботи було з'ясування особливостей активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) та аденозиндезамінази (АДА, КФ 3.5.4.4) в еритроцитах пацієнтів різного віку, хворих на ВХ. Г6ФДГ є ключовим ферментом пентозофосфатного шляху окиснення глюкози, завдяки якому утворюється НАДФН₂, необхідний для синтезу жирних кислот, фосфоліпідів клітинних мембран, а також для відновлення потужного антиоксиданта – глутатіону [1]. ЛДГ, фермент анаеробного гліколізу, та АДА, фермент катаболізму пуринів, відіграють вирішальну роль в адекватному до потреб еритроцитів утворенні АТФ та збалансуванні пула аденілатів, необхідних для синтезу цієї макроергічної сполуки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У гемолізаті еритроцитів чоловіків контрольної групи та пацієнтів з ВХ визначали активність Г6ФДГ,

ЛДГ, АДА [3, 8]. Контрольну групу умовно здорових осіб, які не мали патології органів травлення, склали 26 чоловіків, з них 6 віком 20-29 років, 7 – 30-39 років, 13 – 60-70 років. Було сформовано відповідні вікові групи хворих: 8 пацієнтів віком 20-29 років, 14 – 30-39 років, 16 – 60-69 років. Діагноз встановлювали на підставі анамнестичних даних, результатів фізикального обстеження, езофагогастродуоденоскопії з біопсією, а також рентгенологічного дослідження. Під час статистичної обробки результатів застосовували параметричні та непараметричні критерії, було використано програми пакета "MedStat".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з отриманими даними, в контрольній групі були встановлені вікові відмінності в активності Г6ФДГ і АДА. Активність ЛДГ у досліджувані вікові інтервали достовірно не змінювалась (табл. 1).

За результатами кореляційного аналізу, активність Г6ФДГ та АДА в еритроцитах достовірно знижується під час старіння організму (статистично значущі ($p < 0,05$) сильні негативні зв'язки з віком (показники кореляції Спірмена $r = -0,799$ та $-0,832$ відповідно)). Зниження активності Г6ФДГ в еритроцитах призводить до дефіциту НАДФН₂. Це може негативно впливати на відновлення їх структурних компонентів. Відомо, що зміни ліпідного складу мембран еритроцитів є важливим механізмом їх дисфункції під час старіння організму [2]. Також

Таблиця 1 – Активність досліджуваних ферментів в еритроцитах при виразковій хворобі залежно від віку, нмоль/хв/мг білка

Діагноз	20-29 років	30-39 років	60-69 років
ЛДГ			
Контрольна група (n=21)	2,95±0,54	2,52±0,31	2,57±0,60
VX 1-а група (n=21)	2,86±0,66	2,97±0,21	3,36±0,52
VX 2-а група (n=17)	3,83; 3,26	4,24±0,55*	5,45±1,01*
Г6ФДГ			
Контрольна група (n=21)	0,55±0,07	0,44±0,05	0,33±0,06
VX 1-а група (n=21)	0,47±0,06	0,27±0,06*	0,28±0,03
VX 2-а група (n=17)	0,39; 0,35	0,18±0,04**	0,19±0,04*
АДА			
Контрольна група (n=21)	15,20±2,12	14,25±2,52	9,26±1,12
VX 1-а група (n=21)	9,53; 10,01	9,25±1,15*	6,25±0,68*
VX 2-а група (n=17)	4,98; 6,28	5,38±1,48***	4,72±0,82***

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем та в старших вікових групах контролю порівняно з групою 20-29 років.

це може призвести до порушень прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в даних клітинах під час старіння, а також захисту клітин від оксидативного стресу та апоптозу, індукованого ним [6]. Збільшенню клітинних рівнів вільних радикалів та реактивних форм кисню сприяє і зростання клітинних рівнів аденозину та дезоксиаденозину внаслідок зниження активності АДА [7].

Як у здоровому організмі, так і при VX, за результатами кореляційного аналізу, для активності Г6ФДГ і АДА в еритроцитах встановлено статистично значущий ($p < 0,05$) негативний зв'язок з віком (показники кореляції Спірмена $r = -0,487$ та $-0,514$ відповідно). Однак за активністю ферментів група хворих виявилась неоднорідною та була поділена на дві групи (табл. 1). Максимальні відхилення активності еритроцитарних ферментів спостерігались у пацієнтів 2-ї групи (VX, 2-га група). Для них були характерні ускладнений перебіг виразкової хвороби (кровотеча, стенозування) та наявність диспроліферативних процесів у слизовій оболонці шлунка (дисплазії, кишкова метаплазія) (табл. 1).

При неускладненому перебізі VX у пацієнтів 1-ї групи не спостерігалось достовірних змін активності ЛДГ порівняно з контрольною групою (табл. 1). Разом із тим, зрос-

тання активності ферменту в еритроцитах пацієнтів 2-ї групи, можливо, свідчить про погіршення процесів енергообміну в еритроцитах, оскільки анаеробний гліколіз є основним джерелом синтезу АТФ у цих клітинах крові. Дане припущення добре узгоджується з максимальним зниженням активності АДА саме в цій групі хворих, тому що клітинний пул аденозину може використовуватись для синтезу аденіннуклеотидів і постачати АДФ для субстратного фосфорилування в реакціях гліколізу. Однак синтез АТФ при цьому потребує додаткових витрат енергії та є неефективним.

Отже, при зниженні в еритроцитах активностей АДА, Г6ФДГ та підвищенні – ЛДГ існує ймовірність формування порочного кола з подальшим зростанням процесів оксидативного стресу і погіршенням енергообміну. Це добре узгоджується з даними про можливість прогнозування розвитку ускладнень виразкової хвороби за показниками життєдіяльності еритроцитів [4, 5].

ВИСНОВОК. Під час старіння в здоровому організмі та пацієнтів з ускладненим перебігом виразкової хвороби встановлено порушення метаболізму вуглеводів та пуринів, з якими можуть бути пов'язані їх дисфункція та розлади мікроциркуляції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бочкарева Н.В., Коломиец Л.А., Кондакова И.В., Стуканов С.Л. Диагностическое значение антиоксидантного статуса при диспластических изменениях слизистой оболочки и раке желудка // Биохимия. – 2000. – № 3. – С. 13-16.
2. Лишнева В.Ю., Дужак Г.В. Эритроциты при старении // Матеріали IV Національного конгресу геронтологів і геріатрів України, 11-13 жовтня 2005 р., м. Київ. – Пробл. старения и долголетия. – 2005. – Т. 14 (приложение). – С. 157-158.
3. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учеб. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
4. Рак О.Л., Федів О.І., Мельничук З.А. Особенности морфофункционального статуса эритроцитов при язвенной болезни в зависимости от характера усладнения // Лік. справа. – 2000. – № 1. – С. 33-37.
5. Фартушняк Л.В. Морфофункціональні зміни еритроцитів при виразковій хворобі у хворих різного віку в динаміці лікування: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.02 / Буковинська держ. мед. академія. – Івано-Франківськ, 2000. – 20 с.
6. Fico A., Pagliarunga F., Cigliano L. et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a crucial role in protection from redox-stress-induced apoptosis // Cell. Death. Differ. – 2004. – **11**, № 8. – P. 823-831.
7. Markus A., Wergand M.D., Andreas Laipple et al. Concentration changes of malondialdehyde across the cerebral vascular bed and shedding of L-selectin during carotid endarterectomy // Stroke. – 1999. – **30**. – P. 306-311.
8. Tritsch G.L. Validity of the continuous spectrophotometric assay of Kalkcar for adenosine deaminase activity // Ann. Biochem. – 1983. – **29**. – P. 207-209.

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕВОДОВ И ПУРИНОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

Е.М. Бакурова, Ю.Д. Турсунова, Б.Г. Борзенко
ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО

Резюме

Во время старения в здоровом организме в эритроцитах наблюдается снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и аденозиндезаминазы, что может быть связано с клеточной дисфункцией и способствовать усилению гипоксических процессов в лиц пожилого возраста. При язвенной болезни нарушения обмена углеводов и пуринов в эритроцитах коррелируют с ее течением. Они максимальны у пациентов с осложненным течением болезни и диспролиферативными процессами в слизистой оболочке желудка.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эритроцит, ферменты, возраст, язвенная болезнь.

AGE-RELATED ACTIVITY OF SOME ENZYMES OF CARBOHYDRATES AND PURINES METABOLISM IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH ULCEROUS DISEASE

E.M. Bakurova, Yu.D. Tursunova, B.H. Borzenko
DONETSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M. HORKY

Summary

The erythrocyte activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and adenosine deaminase is revealed to be decreased in aging. As we consider this phenomenon can be associated with red blood cells disorders and, probably, it results in hypoxia elevation in aging. The disorders of carbohydrates and purines metabolism in erythrocytes correlate with ulcerous disease activity. They are maximal in patients with ulcerous disease complications and the proliferation damage in their stomach mucous membrane.

KEY WORDS: erythrocytes, enzymes, age, ulcerous disease.

Отримано 3.09.2009 р.

Адреса для листування: О.М. Бакурова, Донецький національний медичний університет імені М. Горького, просп. Ілліча, 16, Донецьк, 83003, Україна.

АКТИВНІСТЬ ЖЕЛАТИНАЗ І ДЕГРАДАЦІЯ ФІБРОНЕКТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕННЯХ ТА ПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КРОВІ

Ю.А. Гордієнко¹, А.О. Кулініч², Т.П. Ніколаєнко-Камишова¹, А.І. Шевцова².
КЗ "МІСЬКА БАГАТОПРОФІЛЬНА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ № 4"¹, ДНІПРОПЕТРОВСЬКА
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ²

Проведено аналіз активності двох типів матриксних металопротеїназ (ММР-2 та ММП-9) і ступеня деградації білка екстрацелюлярного матриксу фібронектину (ФН) у нормі, а також при метаболічних порушеннях і проліферативних захворюваннях крові. Виявлено достовірне підвищення активності обох желатиназ у хворих на сублейкемічний мієлоз та еритремію порівняно з нормою. При атеросклеротичних ураженнях спостерігалось зниження активності ММР-2. Доведено сильну позитивну кореляцію між активністю ММР-9 та концентрацією ФН, а також залежність ступеня деградації ФН від його концентрації в плазмі крові. Активність ММР і ступінь фрагментованості ФН можна використовувати як прогностичний критерій для оцінки стану пацієнтів при досліджуваних хворобах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: матриксні металопротеїнази, протеоліз, фібронектин, проліферативні захворювання крові.

ВСТУП. Фібронектин (ФН) та матриксні металопротеїнази (ММР) є компонентами екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), що мають протилежні біологічні функції. Якщо перший відповідає за процеси адгезії клітин до субстрату та опсонізацію чужорідного матеріалу [4], то ММР, навпаки, руйнують білки екстрацелюлярного матриксу, в тому числі й ФН [2]. Останнім часом з'явилися роботи, в яких доводиться регуляторна роль ММР у забезпеченні функціональної активності клітин крові та ЕЦМ [3], а також існування зв'язку між ММР та ФН [1]. Однак у літературі ми не знайшли даних відносно взаємозв'язку між цими показниками при гематологічних захворюваннях. Проте відомо, що желатинази та ФН продукуються окремими клітинами крові і їх експресія може посилюватись при проліферативних процесах.

Метою дослідження було провести порівняльний аналіз ступеня деградації ФН і активності матриксних металопротеїназ ММР-2 та ММП-9 при метаболічних порушеннях і проліферативних захворюваннях крові.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Активність ММР-2, ММП-9, концентрацію і ступінь фрагментованості фібронектину визначали у цитратній

плазмі крові 24 хворих віком від 22 до 70 років. Усіх пацієнтів було поділено на 2 групи: з онкозахворюваннями крові (сублейкемічний мієлоз, еритремія) та з атеросклерозом. До групи контролю ввійшли 12 клінічно здорових осіб відповідного віку.

Активність матриксних металопротеїназ у плазмі крові пацієнтів визначали методом ензим-зимографії у гелі, що містив як субстрат 1 % желатину, за наявності знебарвлених смуг на синьому фоні. Протеолітичну активність ММП оцінювали за допомогою програми Sorbfil 1.8 як відсоток відносно еталона – пулу плазми крові здорових донорів.

Концентрацію фібронектину визначали методом імунодоту з подальшою обробкою отриманих даних програмою GelProAnalyser.0.32.

Дослідження ступеня фрагментованості ФН проводили шляхом SDS-електрофорезу в градієнті щільності ПААГ 5-17,5 % та вестерн-блот аналізу з використанням кролячих антитіл до ФН. Як контроль застосовували комерційний препарат плазмового ФН (Sigma, США).

Статистичну обробку даних виконано з використанням пакета програм Статистика 6.0. Достовірність відмінностей оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У всіх досліджуваних групах спостерігалось підвищен-

© Ю.А. Гордієнко, А.О. Кулініч, Т.П. Ніколаєнко-Камишова, А.І. Шевцова, 2009.

ня активності обох желатиназ, причому MMP-2 проявлялась лише в активній формі, тоді як MMP-9 визначалась і в формі зимогену (про-MMP-9). Найбільше зростання желатиназної ак-

тивності мало місце у хворих на сублейкемічний мієлоз, при атеросклеротичних ураженнях зміни MMP-9 були несуттєвими, а активність MMP-2 зменшувалась порівняно з контролем (табл. 1).

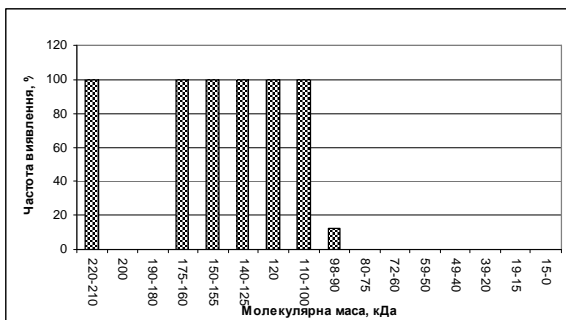
Таблиця 1 – Активність желатиназ та вміст фібронектину в плазмі крові досліджуваних груп

Група хворих	Активність, %			Концентрація ФН, мкг/мл	Діапазон фФН, кДа
	про-MMP-9	MMP-9	MMP-2		
Сублейкемічний мієлоз	126±5***	435,6±13***	138±18	0,481±0,018**	220-15
Еритремія	105±4	264±6,5***	113±3,5*	0,581±0,01***	220-20
Атеросклероз	103±4	121±11	96±2	0,631±0,03***	220-15
Норма	100	100	100	0,393±0,015	220-90

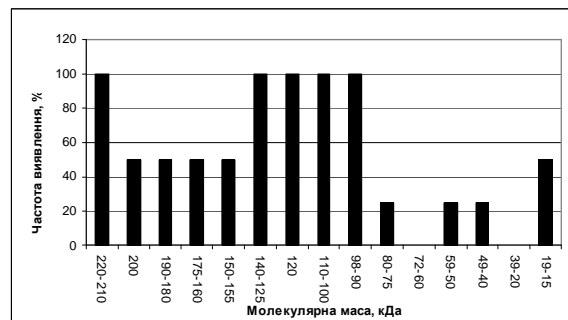
Примітка. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 – достовірна відмінність порівняно з показниками контрольної групи.

Зміни концентрації ФН мали протилежний характер: найбільша концентрація ФН спостерігалась у хворих на атеросклероз, найменша – у групі хворих на сублейкемічний мієлоз. Слід зазначити, що концентрація ФН корелює з активністю MMP, причому найвищий коефіцієнт кореляції (r=0,79) визначався між MMP-9 та ФН.

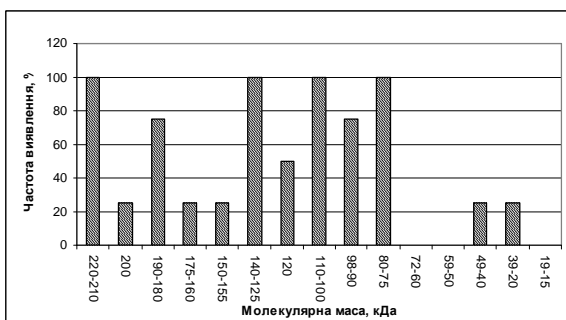
Дослідження фрагментованості ФН показало, що концентрація ФН відображає ступінь його деградації. Найширший спектр фФН спостерігався у хворих на атеросклероз (рис. 1). Можливо, саме зі збільшенням ступеня деградації ФН пов'язане зростання рівня цього глікопротеїну в крові при даній патології.



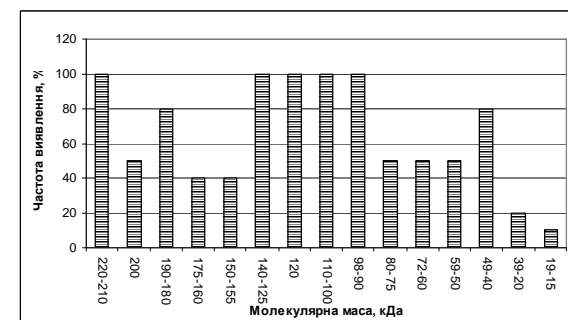
А



Б



В



Г

Рис. 1. Частота виявлення фрагментів фібронектину (%) в досліджуваних групах: А – норма; Б – сублейкемічний мієлоз; В – еритремії; Г – атеросклеротичні ураження судин.

ВИСНОВОК. Активність MMP і ступінь фрагментованості ФН можна використовувати як прогностичний критерій для оцінки

стану пацієнтів при метаболічних порушеннях та проліферативних захворюваннях крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Marom B., Rahat M., Lahat N. et al. Native and fragmented fibronectin oppositely modulate monocyte secretion of MMP-9 // Journal of Leukocyte Biology. – 2007. – **81**, № 6. – P. 1466-1476.
2. Mott J., Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases // Current Opinion in Cell Biology. – 2004. – № 5. – P. 558-564.
3. Opdenakker G., Van den Steen P., Dubois B., Nelissen I. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology // Journal of Leukocyte Biology. – 2001. – **69**, № 6. – P. 851-859.
4. Pankov R., Yamada K.M. Fibronectin at a glance // J. Cell Sci. – 2002. – **15**, № 115. – P. 3861-3863.

АКТИВНОСТЬ ЖЕЛАТИНАЗ И ДЕГРАДАЦИЯ ФИБРОНЕКТИНА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ И ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КРОВИ

Ю.А. Гордиенко¹, А.А. Кулинич², Т.П. Николаенко-Камышова¹, А.И. Шевцова²
КУ "ГОРОДСКАЯ МНОГОПРОФИЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА № 4"¹, ДНЕПРОПЕТРОВСК
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ²

Резюме

Проведён анализ активности двух типов матричных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9) и степени деградации белка экстрацеллюлярного матрикса фибронектина (ФН) в норме, а также при метаболических нарушениях и пролиферативных заболеваниях крови. Обнаружено достоверное повышение активности обоих желатиназ у больных с эритремией и сублейкемическим миелозом по сравнению с нормой. При атеросклеротических поражениях наблюдалось снижение активности ММП-2. Доказано наличие сильной положительной корреляции между активностью ММП-9 и концентрацией ФН, а также зависимость степени деградации ФН от его концентрации в плазме крови. Активность ММП и степень фрагментированности ФН можно использовать как прогностический критерий для оценки состояния пациентов при исследуемых заболеваниях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: матричные металлопротеиназы, протеолиз, фибронектин, пролиферативные заболевания крови.

ACTIVITY OF GELATINASES AND DEGRADATION OF FIBRONECTIN DURING METABOLIC VIOLATIONS PROLIFERATIVE BLOOD DISEASES

Yu.A. Hordiyenko¹, A.O. Kulinich², T.P. Nikolayenko-Kamyshova¹, A.I. Shevtsova²
MI "CITY MULTIDISCIPLINARY CLINICAL HOSPITAL № 4"¹, DNIPROPETROVSK
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY²

Summary

Activity of two types of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and degree of fibronectin (FN) degradation was investigated in blood plasma of healthy donors and patients with metabolic violations and proliferative blood diseases. It was revealed the increased activity of both gelatinases in patients with subleukemic myelosis and erythraemia comparing to healthy donors. Patients with atherosclerotic lesions had decreased MMP-2 activity. Presence of strong positive correlation between MMP-9 activity and FN concentration was proved. Investigation of FN degradation revealed connection between its degradation and concentration in plasma. Activity of MMP and FN degradation can be used as forecasting criterion for evaluation of patients' state during investigated diseases.

KEY WORDS: matrix metalloproteinase, proteolysis, fibronectin, proliferative diseases of blood.

Отримано 10.09.2009 р.

Адреса для листування: А.О. Кулініч, Дніпропетровська державна медична академія, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49000, Україна.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У НИРКАХ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ГІПОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ

С.П. Пасевич, І.І. Заморський
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

Вивчено прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у нирках білих щурів-самців за вмістом окисномодифікованих білків (ОМБ) та активністю глутатіонпероксидази (ГП) при гострій нирковій недостатності (ГНН) ("гліцеролова" модель ГНН) за умов впливу хронічної гіпобаричної гіпоксії. Встановлено, що умови хронічної гіпобаричної гіпоксії ускладнюють перебіг ГНН внаслідок надмірної інтенсифікації пероксидації макромолекул (за рахунок зростання вмісту ОМБ) при одночасному виснаженні системи антиоксидантного захисту (зменшення активності ГП), що максимально виражено на 48 год розвитку ГНН.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостра ниркова недостатність, хронічна гіпобарична гіпоксія, глутатіонпероксидаза, білкова пероксидація.

ВСТУП. Одним з основних синдромів, які асоціюються з високою летальністю, залишається гостра ниркова недостатність (ГНН) [1]. Інтенсифікація процесів пероксидації макромолекул як одна з ключових ланок патогенезу ГНН не викликає сумніву [2]. Поряд із цим, гіпоксія є тим чинником, який істотно впливає на розвиток і завершення практично всіх захворювань. Проте перебіг ГНН за умов гіпоксичних станів зовсім не вивчено.

Метою дослідження було з'ясувати стан окремих показників, які характеризують прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у нирках щурів, при експериментальній ГНН за умов впливу хронічної гіпобаричної гіпоксії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 35 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях середньою масою 120-180 г. ГНН моделювали шляхом внутрішньом'язового введення 50 % розчину гліцеролу в дозі 8 мг/кг [3], забій тварин здійснювали на 24 та 48 год експерименту. Модель хронічної гіпобаричної гіпоксії створювали у проточній барокамері, в якій розріджували повітря до величини, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря зі швидкістю "підйому" 0,4 км/хв. На цій висоті щурів утримували впродовж 2 год щоденно 2 тижні. Гліцерол у вказаній вище дозі тваринам вводили після останнього сеансу гіпоксії через 30 хв. Щурів забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Стан пероксидації макромолекул оцінювали за вмістом окисномодифікованих білків

(ОМБ) у тканині нирок щурів [4], а систему антиоксидантного захисту – за активністю глутатіонпероксидази (ГП) [5]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено (табл. 1), що при використаній нами рабдоміолітичній ГНН вміст ОМБ у тканині нирок щурів поступово зростає: на 24 год її розвитку – в 1,4 раза та на 48 год – в 1,96 раза порівняно з інтактними тваринами. При "гліцероловій" моделі ГНН, поєднаній із хронічною гіпоксією, спостерігалось суттєве збільшення вмісту ОМБ у тканині нирок: на 24 год її розвитку – в 2,25 раза, на 48 год розвитку ГНН – в 2,7 раза порівняно з контролем та в 1,56 і 1,9 раза порівняно з ГНН (на 24 год її розвитку). Таким чином, за умов окисного стресу і надмірного утворення активних форм кисню переважають процеси нерегульованої окисної модифікації білків, що призводять у кінцевому рахунку до втрати їх біологічної активності [2]. Активність ГП у тканині нирок щурів поступово знижувалась та на 24 год розвитку ГНН була в 1,3 раза, а на 48 год – в 1,2 раза меншою від контролю.

При "гліцероловій" ГНН за умов гіпоксії активність ГП істотно зменшилась: на 24 год її розвитку – в 1,4 раза і на 48 год – в 1,55 раза порівняно з контролем та в 1,2 і 1,3 раза порівняно з ГНН (на 24 год її розвитку). Отримані зміни активності ГП дозволяють зробити висновки про декомпенсацію ферментативної ланки антиоксидантного захисту нирок щурів при "гліцероловій" ГНН за умов хронічної гіпоксії, як на 24, так і на 48 год її розвитку.

Виражене пригнічення знешкодження токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів внаслідок інактивації ГП буде призводити до подальшої інтенсифікації вільнорадикального окиснення білків.

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що підсилення окиснювальних про-

цесів за умов впливу хронічної гіпоксії в тканині нирок при "гліцероловій" моделі ГНН, особливо на 48 год її розвитку, супроводжується накопиченням в нирках руйнівних прооксидантів, що в подальшому впливає на активність власної антиоксидантної системи нирок та призводить до її виснаження.

Таблиця 1– **Вміст окисномодифікованих білків та активність глутатіонпероксидази у тканині нирок щурів при експериментальній гострій нирковій недостатності за умов впливу хронічної гіпобаричної гіпоксії ($x \pm Sx$, $n=7$)**

Група тварин	Вміст ОМБ у тканині нирок, о.о.г./г тканини	Активність ГП у тканині нирок, нмоль/хв·мг білка
Контроль	14,06±1,657	110,2±7,800
ГНН (на 24 год її розвитку)	20,27±2,436*	85,07±9,582*
ГНН (на 48 год її розвитку)	27,59±2,058*,**	88,75±7,027*
ГНН (на 24 год її розвитку)+гіпоксія	31,70±1,597*,**	77,96±6,464*
ГНН (на 48 год її розвитку)+гіпоксія	38,66±2,899*,**,***,****	70,97±6,638*,**,***

Примітка. * – вірогідність відмінностей порівняно з контролем ($p < 0,05$); ** – вірогідність відмінностей порівняно з ГНН (на 24 год її розвитку) ($p < 0,05$); *** – вірогідність відмінностей порівняно з ГНН (на 48 год її розвитку) ($p < 0,05$); **** – вірогідність відмінностей порівняно з ГНН (на 24 год її розвитку)+гіпоксія (2 тижні) ($p < 0,05$); о.о.г. – одиниця оптичної густини.

ВИСНОВКИ. 1. При "гліцероловій" моделі ГНН спостерігаються вірогідне підвищення вмісту ОМБ і зменшення активності ГП у тканині нирок, що максимально виражено на 48 год розвитку ГНН.

2. При експериментальній ГНН за умов впливу хронічної гіпоксії відмічають зростання пероксидації макромолекул за рахунок закономірного підвищення вмісту ОМБ у тканині нирок та пригнічення антиоксидантного захисту, на що вказує зменшення активності ГП в нирках.

3. Хронічна гіпобарична гіпоксія ускладнює перебіг експериментальної ГНН шляхом зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканині нирок у сторону прооксидантів за рахунок підсилення окиснювального руйнування білків при одночасному пригніченні ферментативної ланки антиоксидантного захисту вже на 24 год розвитку ГНН, причому на 48 год розвитку ГНН інтенсивність цих змін зростає.

ЛІТЕРАТУРА

1. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастроуденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурної // Вісник проблем біології і медицини. – 1998. – № 7. – С. 10-15.
 2. Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окиснення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології // Лаб. діагностика. – 2005. – **31**, № 1. – С. 7-12.
 3. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.

4. Томилина Н.А., Подкорытова О.Л. Острая почечная недостаточность // Нефрология и диализ. – 2009. – **11**, № 1. – С. 4-20.
 5. Chander V., Sigh D., Chopra K. Reversal of Experimental Myoglobinuria Acute Renal Failure in Rats by Quercetin a Bioflavonoid // Pharmacology. – 2004. – **73**, № 1. – P. 49-56.
 6. Cheung C.M., Ponnusamy A., Anderton J.G. Management of acute renal failure in the elderly patient: a clinician's guide // Drugs Aging. – 2008. – **25**, № 6. – P. 76-455.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ В ПОЧКАХ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

С.П. Пасевич, И.И. Заморский
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

Резюме

Изучено прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз в почках белых крыс-самцов по содержанию окислительно-модифицированных белков (ОМБ) и активности глутатионпероксидазы (ГП) при острой почечной недостаточности (ОПН) ("глицероловая" модель ОПН) в условиях влияния хронической гипобарической гипоксии. Установлено, что условия хронической гипобарической гипоксии осложняют течение ОПН вследствие чрезмерной интенсификации пероксидации макромолекул (за счет возрастания содержания ОМБ) при одновременном истощении системы антиоксидантной защиты (уменьшение активности ГП), что максимально выражено на 48 ч развития ОПН.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острая почечная недостаточность, хроническая гипобарическая гипоксия, глутатионпероксидаза, белковая пероксидация.

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS IN THE KIDNEYS OF RATS AT ACUTE RENAL INSUFFICIENCY UNDER CONDITIONS OF CHRONIC HYPOBARIC HYPOXIA INFLUENCE

S.P. Pasevych, I.I. Zamorsky
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

Summary

Prooxidant-antioxidant homeostasis in the kidneys of male white rats has been studied according to the content of oxidatively-modified proteins (OMP) and activity of glutathione-peroxidase (GP) at acute renal insufficiency (ARI) (a "glycerol" model of ARI) under conditions of chronic hypobaric hypoxia influence. The conditions of chronic hypobaric hypoxia were established to complicate the course of ARI owing to the extreme intensification of macromolecules peroxidation (at the expense of increase of OMP content) at the simultaneous depression of the antioxidant protection system (decrease of GP activity) which is expressed at maximum at the 48-th hour of ARI development.

KEY WORDS: acute renal insufficiency, chronic hypobaric hypoxia, glutathione-peroxidase, protein peroxidation.

Отримано 9.09.2009 р.

Адреса для листування: С.П. Пасевич, 2-й пров. Кармелюка, 2, кім. 71, Чернівці, 58000, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Із запису в журналі – 11, 1 3, 2009

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ЗНИЖЕННІ ЗАХИСНОЇ ФУНКЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ

О.Є. Омельченко

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

В експериментах на щурах-самцях лінії Вістар доведено, що ульцерогенний ефект гострого стресу залежить від типу реагування тварин. Ступінь виразкових пошкоджень слизової оболонки шлунка, зниження бар'єрної функції слизового гелю корелюють зі стресостійкістю тварин та зменшенням продукції NO в слизовій оболонці при гострому стресі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий стрес, тип реагування, виразки шлунка, слизовий бар'єр шлунка, оксид азоту.

ВСТУП. Генез виразок шлунка слід розглядати з позицій взаємодії факторів агресії і захисту слизової оболонки шлунка (СОШ) [2]. Серед останніх найважливішими є продукція слизового гелю, активна секреція гідрокарбонатів, регенерація епітеліальних клітин та адекватна гемоциркуляція слизової оболонки і підслизового шару шлунка [5]. До складу шлункового слизу входять глікопротеїни (ГП) та протеоглікани, що забезпечують бар'єрну функцію.

Оксид азоту (NO) вважають одним із найважливіших медіаторів системи травлення, він впливає на стан слизового гелю, кровообіг та активність ферментів гастродуоденальної зони. NO є потужним вазодилататором, що здатний обмежувати розлади гемоциркуляції при стресі. Але такі важливі питання, як вплив NO на молекулярні механізми стресорного пошкодження та захисну функцію слизового бар'єру шлунка залежно від типу реагування тварин, недостатньо розкрито.

Метою даної роботи було з'ясувати роль NO-регулюючої системи в ульцерогенезі, захисній функції СОШ щурів з різними типами реагування та стресостійкості організму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 66 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 160-220 г з дотриманням правил біоетики щодо медико-біологічних досліджень. Модель гострого емоційного стресу відтворювали за методом Г. Сельє [9]. Типологічні особливості тварин визначали у ней-

роетологічному тесті "відкрите поле" з використанням факторно-аналітичного методу [4], розподіливши їх на дві групи: стресостійкі та стресонестійкі. Контролем слугували інтактні тварини з відповідним типом реагування.

Евтаназію тварин здійснювали через 2 год після завершення стресорного впливу під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Ульцерогенний вплив стресу вивчали на підставі визначення частоти, множинності та площі виразкових пошкоджень СОШ [8]. Для оцінки продукції NO в слизовому гелі шлунка досліджували рівень стабільних метаболітів – нітритів з використанням реактиву Гриссу [1]. Стан слизового гелю оцінювали за вмістом у гомогенаті СОШ мономерів ГП – N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) та фукози, не зв'язаної з білками [3, 6]. Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами встановлено, що емоційний стрес викликає розвиток виразок шлунка у 100 % тварин стресонестійкого типу, при цьому множинність виразок (кількість виразок на 1 тварину) дорівнювала $3,66 \pm 0,4$, а площа виразок – $(9,33 \pm 1,72)$ мм². За цих умов показники пошкодження СОШ у групі стресостійких щурів були достовірно менш вираженими (78 %, $(1,77 \pm 0,32)$ та $(2,66 \pm 0,58)$ мм² відповідно; $p < 0,05$). У контрольних групах щурів патологічних змін СОШ не спостерігали.

За умов гострого стресу вміст NANA в слизовому гелі шлунка перевищував у 1,4 раза

відповідний показник інтактних щурів, вміст фукози, не зв'язаної з білками, – в 1,7 раза, що відображало підвищену деградацію сіало- та фукозоглікопротеїнів СОШ (табл. 1). Найбільший ступінь деградації компонентів шлунко-

вого слизу – мономерів ГП був властивий групі тварин стресонестійкого типу (табл. 1). Отже, ступінь деполімеризації шлункового слизу залежить від типу реагування тварин на стресорні впливи.

Таблиця 1 – Вміст мономерів глікопротеїнів та нітритів у гомогенаті СОШ щурів залежно від типу реагування за умов гострого стресу (M±m)

Показник	Характер дослідів			
	контроль		стрес	
	тип реагування		тип реагування	
	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)
N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г	51,75±2,38	43,81±2,05	73,75±4,55*	59,12±3,20*
Фукоза, не зв'язана з білками, мкмоль/г	1,98±0,30	1,77±0,36	3,74±0,49*	2,85±0,27*
Нітрити, мкмоль/г	0,89±0,06	1,05±0,07	0,56±0,06*	0,54±0,08*

Примітка. * – достовірна різниця (p<0,05) між контрольною і дослідною групами.

Вміст нітритів у слизовому гелі шлунка тварин обох типів за умов гострого стресу достовірно знизився в 1,6-1,9 раза порівняно з контролем відповідного типу реагування (табл. 1), що може свідчити про гальмування синтезу NO клітинами СОШ. При цьому вихідний рівень метаболітів NO у стресостійких тварин достовірно вищий, ніж у групі стресонестійких щурів, що, можливо, відіграє певну роль у неоднаковому ступені стресорного пошкодження СОШ. Зниження локальної продукції NO призводить до зменшення об'єму шлункового кровотоку і створює передумови для пошкодження СОШ [7].

Ряд авторів відмінності генетично детермінованої стійкості до стресорних пошкоджень пов'язують з неоднаковою продукцією оксиду азоту, який є фактором адаптаційного захисту організму [7]. Відомо, що патогенний вплив стресорних факторів реалізується з участю системи гіпоталамус–гіпофіз–кора надниркових залоз та симпато-адреналової системи. Глюкокортикоїди не тільки знижують внутрішньоклітинний вміст мРНК трьох ізоформ NO-синтаз (NOS-1 [12], NOS-2 та NOS-3 [11]), але й акти-

вують протеоліз синтезованих молекул NOS [13]. Можливо, цим і пояснюється зниження продукції NO в стінці шлунка, що сприяє порушенню гемоциркуляції з наступною ішемією СОШ та виразкоутворенням у групі стресованих щурів. Є відомості про те, що активація eNOS у СОШ призводить до покращення мікроциркуляції та попереджує ішемію слизової оболонки [10]. Отже, є підстави пов'язувати виразки шлунка з ішемією СОШ внаслідок дефіциту NO.

ВИСНОВКИ. 1. Ульцерогенний ефект стресу залежить від стресостійкості організму; в щурів стресонестійкого типу він більш виражений порівняно зі стресостійким типом.

2. Гострий емоційний стрес зменшує вміст нітритів у СОШ, який корелює з тяжкістю стресорних виразок, що підтверджує їх ішемічну природу.

3. Ступінь виразкових пошкоджень СОШ, зниження бар'єрної функції слизового гелю та зменшення вазодилататорного впливу NO при гострому стресі залежать від стресостійкості тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови // *Вопр. биомед. химии.* – 2004. – № 1. – С. 79-85.
2. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь (современные аспекты диагностики и лечения). – К.: Здоров'я, 1995. – 336 с.

3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 313 с.

4. Майоров О.Ю. Прогнозування індивідуальної стійкості білих щурів до експериментальних емоціональних стресів за даними нейроетологічних показників в тесті “відкритого поля” // XII з'їзд Укр.

фізіол. т-ва ім. І.П. Павлова: Тез. доп. – Львів, 1986. – С. 250.

5. Малов Ю.С., Дударенко С.В., Оникиенко С.Б. Язвенная болезнь. – М.: Медицина, 1994. – 206 с.

6. Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. и др. Метод определения фукозы, не связанной с белками // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – № 4. – С. 17-18.

7. Пшенникова М.Г., Бондаренко Н.А., Шимкович М.В. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – **132**, № 11. – С. 510-513.

8. Пшенникова М.Г., Попкова Е.В., Шимкович М.В. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – № 10. – С. 383-386.

9. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.

10. Kawanaka H., Jones M.K., Szabo I.L. et al. Activation of eNOS in rat portal hypertensive gastric mucosa is mediated by TNF-alpha via the PI3-kinase-Akt signaling pathway // Hepatology. – 2002. – **35**. – P. 393-402.

11. Lou Y.K., Wen C., Li M. et al. Decreased renal expression of nitric oxide synthase isoforms in adrenocorticotropin-induced and corticosterone-induced hypertension // Hypertension. – 2001. – **37**. – P. 1164-1170.

12. Nadaud S., Mao C., Luvara G. et al. Isoform-specific regulation of nitric oxide synthase mRNA in the kidney by sodium and blood pressure // J. Hypertens. – 1998. – **16**. – P. 1315-1323.

13. Walker G., Pfeilschifter J., Otten U., Kunz U. Proteolytic cleavage of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by calpain // J. Biochim. Biophys. Acta. – 2001. – **1568**. – P. 216-224.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В СНИЖЕНИИ ЗАЩИТНОЙ ФУНКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА У КРЫС С РАЗНЫМ ТИПОМ РЕАГИРОВАНИЯ

А.Е. Омельченко

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

В экспериментах на крысах-самцах линии Вистар доказано, что язвоборогический эффект острого стресса зависит от типа реагирования животных. Степень язвенных повреждений слизистой оболочки желудка, снижение барьерной функции слизистого геля коррелируют со стрессоустойчивостью животных и уменьшением продукции NO в слизистой оболочке при остром стрессе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый стресс, тип реагирования, язвы желудка, слизистый барьер желудка, оксид азота.

ROLE OF NITRIC OXIDE IN DECREASING OF PROTECTIVE FUNCTION OF GASTRIC MUCOSA DURING ACUTE STRESS AT RATS WITH DIFFERENT REACTING TYPE

O.Ye. Omelchenko

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

It was proved on male Vistar rats that ulcerogenic action of the acute stress depends on the reacting type of animals. The level of ulcer damages of gastric mucosa, decreasing of barrier function of mucous gel is correlated with the stress resistance of animals and decreasing of NO production in gastric mucosa during acute stress.

KEY WORDS: acute stress, reacting type, gastric ulcers, gastric mucous barrier, , nitric oxide.

Отримано 8.09.2009 р.

Адреса для листування: О.Е. Омельченко, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ОМЕПРАЗОЛУ НА ТКАНИНИ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ

А.А. Сухомлин, К.С. Непорада
УКРАЇНЬСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

За умов довготривалого введення омепразолу виникають патологічні зміни в тканинах слинних залоз щурів, а саме: інтенсифікація вільнорадикального окиснення та дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: слинні залози, омепразол, гіпергастринемія, окиснювальний стрес, протеоліз.

ВСТУП. На сьогодні в клінічній практиці широко застосовують інгібітори протонної помпи (ІПП): омепразол, ланзопразол та ін. які знижують шлункову секрецію, що призводить до розвитку гіпергастринемії. Також гіпергастринемія спостерігається при розвитку гастринсекретуючих пухлин, наприклад при синдромі Золінгера-Еллісона. Вивчення метаболічних та морфофункціональних змін в органах і тканинах за умов омепразоліндукованої гіпергастринемії необхідне для розробки заходів щодо попередження та корекції побічної дії ІПП. Важливим моментом дослідження метаболічних змін у тканинах слинних залоз щурів при тривалому введенні омепразолу є вивчення процесів вільнорадикального окиснення та протеїназно-інгібіторного потенціалу. Дослідивши ці процеси, можна буде оцінити ступінь пошкодження тканин слинних залоз щурів під дією омепразоліндукованої гіпергастринемії.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу довготривалого введення омепразолу на тканини слинних залоз щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження були піднижньощелепні слинні залози та кров щурів. Експерименти виконано на 29 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-250 г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень відповідно до Європейської конвенції. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію щурів здійснювали під уретановим наркозом. Дослідним тваринам протягом 28 діб внутрішньоочеревинно вво-

дили омепразол ("Sigma", США) у дозі 14 мг/кг. Контрольним щурам протягом 28 діб внутрішньоочеревинно вводили 0,2 мл води для ін'єкцій. Після завершення експерименту збирали кров для визначення вмісту гастрину радіоімунологічним методом за допомогою аналітичного набору "MP Biomedicals, UC" (USA). У гомогенаті слинних залоз визначали вміст окисномодифікованих протеїнів [10], молекул середньої маси [6] та для оцінки протеїназно-інгібіторного потенціалу тканин слинних залоз щурів досліджували загальну протеолітичну [14] й антитриптичну [4] активність.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи склав (59±3,5) пг/мг порівняно з досліджуваними тваринами, яким протягом 28 діб вводили омепразол – (170±90,7) пг/мг (p<0,05). Таким чином, тривале введення омепразолу викликає гіпергастринемію, вплив якої на метаболізм тканин слинних залоз ми досліджували за допомогою показників вільнорадикального окиснення та протеїназно-інгібіторного потенціалу. Універсальним механізмом пошкодження тканин під дією різних факторів вважають активацію вільнорадикального окиснення, індикаторним показником якого є визначення вмісту окисномодифікованих протеїнів [1, 3, 10]. Окиснювальна модифікація клітинних структур та ферментів – один із механізмів їх деструкції з наступним оновленням. При виснаженні антиоксидантної системи це явище стає основним фактором, що обтяжує патогенез ряду захворювань. Активація процесів вільнорадикального окиснення призводить також до ендогенної

інтоксикації та збільшення вмісту молекул середньої маси [5, 7, 11]. Ендотоксемія різного генезу супроводжується підвищенням концентрації

молекул середньої маси, при цьому їх рівень корелює з тяжкістю захворювання [2, 9, 15].

Таблиця 1 – Дослідження процесів вільнорадикального окиснення в слинних залозах щурів (M±m)

Показник	Група тварин	
	1. Омепразол 28 діб (n=17)	2. Контроль (n=12)
Вміст окисномодифікованих білків, ум.од.	0,484±0,023	0,363±0,026
Вміст молекул середньої маси, ум.од.	0,321±0,024	0,243±0,016
p ₁₋₂	<0,05	<0,05

З таблиці 1 видно, що тривале введення омепразолу призвело до зростання вмісту в тканинах слинних залоз щурів окисномодифікованих білків та молекул середньої маси. Вміст окисномодифікованих білків у слинних залозах тварин після 28-денного введення омепразолу на фоні достовірного підвищення рівня гастрину (p<0,05) збільшився в 1,3 раза. Це може свідчити про активацію процесів вільнорадикального окиснення в тканинах слинних залоз щурів внаслідок тривалої гіпергастринемії. Також збільшення вмісту окисномодифікованих білків вказує на зниження інтенсивності процесів відновлення пошкоджених білків та активності антиоксидантних систем, що, у свою чергу, свідчить про виснаження тканин слинних залоз у результаті тривалої омепразоліндукованої гіпергастринемії.

Вміст молекул середньої маси в слинних залозах щурів при тривалому введенні омепразолу збільшився в 1,32 раза (табл. 1). Це

свідчить про розвиток ендотоксемії та суттєвих метаболічних розладів у слинних залозах щурів при тривалому введенні омепразолу.

До фундаментальних досягнень сучасної науки відносять визнання протеолізу як особливої форми фізіологічної регуляції. Регуляторна роль протеолітичних ферментів здійснюється у двох формах: повного та обмеженого протеолізу [16]. Повний протеоліз являє собою деградацію білка, розщеплення аномальних та пошкоджених білків, тоді як обмежений протеоліз вважають універсальним механізмом, що відповідає за утворення, інактивацію та модифікацію гормонів, ферментів та інших фізіологічно активних речовин. При деяких патологічних станах відбувається надмірна активація протеолізу, що є важливою ланкою патогенезу деструктивних, запальних, алергічних реакцій, порушення процесів гемостазу, а також одним із факторів, які сприяють інвазії клітин злоякісних пухлин [4].

Таблиця 2 – Протеїназно-інгібіторний баланс тканин слинних залоз щурів (M±m)

Показник	Група тварин	
	1. Омепразол 28 діб (n=17)	2. Контроль (n=12)
Загальна протеолітична активність, мкмоль/г·хв	0,383±0,018	0,327±0,01
Загальна антипротриптична активність, г/кг	22,647±0,43	16,833±0,461
p ₁₋₂	<0,05	<0,05

Досліджуючи протеїназно-інгібіторний баланс слинних залоз щурів за умов тривалої омепразоліндукованої гіпергастринемії, ми отримали такі результати: загальна протеолітична активність підвищилась в 1,17 раза, тоді як загальна антипротриптична активність зменшилась в 1,35 раза (табл. 2). Ці показники можуть свідчити про те, що під дією тривалої гіпергастринемії активувалися протеолітичні процеси і відбулося виснаження інгібіторів протеаз у слинних залозах. Таким чином, мож-

на констатувати розвиток дисбалансу протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом.

ВИСНОВОК. Тривале застосування омепразолу призводить до достовірного підвищення вмісту в плазмі крові гастрину і, як наслідок, до патологічних змін у тканинах слинних залоз, а саме: активації вільнорадикального окиснення та розвитку дисбалансу протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И., Мохосев И.М. Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. – 1991. – № 54 (2). – С. 179-186.
2. Бобров В.М., Шишкин С.А. Молекулы средней массы – показатель интоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях ЛОР-органов // Вестник оториноларингологии. – 1999. – № 1. – С. 33-34.
3. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестник РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.
4. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
5. Владыка А.С., Левицкий Э.Р., Поддубная Л.П. и др. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии // Анестезиол. и реаниматол. – 1987. – № 2. – С. 17-19.
6. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 131-140.
7. Громашевская Л.Л. "Средние молекулы" как один из показателей метаболической интоксикации в организме // Лаб. диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11-16.
8. Денисов А.Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2: Методы моделирования физиологических и патологических процессов. – М.: Издательство РАМН, 2003. – 60 с.
9. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клини. лаб. диаг. – 2004. – № 3. – С. 4-8.
10. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения // Вопр. мед. химии. – 1995. – № 1. – С. 24-26.
11. Путилина Ф.Е. Свободнорадикальное окисление: Учебное пособие. – СПб.: Издательство СПб. университета, 2008. – 161 с.
12. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез. – К.: Здоров'я, 1991. – 112 с.
13. Тарасенко Л.М., Суханова Г.А., Мищенко В.П., Непорада К.С. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) – Томск: Издательство НТЛ, 2002. – 124 с.
14. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич У.Г. Исследование пищеварительного аппарата у человека. – Л.: Наука, 1969. – 216 с.
15. Armstrong Donald. Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc., 2002. – 186 p.
16. Proteolytic enzymes: a practical approach / Ed. Rob Beynon and Judith S. Bond. – 3rd ed. – Oxford: Oxford University Press, 2001. – 340 p.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОМЕПРАЗОЛА НА ТКАНИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС

А.А. Сухомлин, К.С. Непорада

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

В условиях длительного введения омепразола возникают патологические изменения в тканях слюнных желез крыс, а именно: интенсификация свободнорадикального окисления и дисбаланс протеиназно-ингибиторного потенциала по декомпенсаторному типу.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: слюнные железы, омепразол, гипергастринемия, окислительный стресс, протеолиз.

THE INFLUENCE OF LONG ADMINISTRATION OF OMEPRAZOLE ON THE TISSUES OF RAT SALIVARY GLANDS

A.A. Sukhomlyn, K.S. Noporada

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

Under conditions of long omeprazole administration occur pathological changes in tissues of salivary glands: the intensification of free-radical oxidation and disbalance of decompensated type proteolysis.

KEY WORDS: salivary glands, omeprazole, hypergastrinemia, oxidative stress, proteolysis.

Отримано 3.09.2009 р.

Адреса для листування: А.А. Сухомлин, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

Із журналу – № 11, 1 3, 2009

ВПЛИВ ПЕПТИДУ АРГІНІЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛІЗИЛ-ВАЛІЛ-ТИРОЗИЛ-АРГІНІНУ НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

Х.М. Насадюк, О.Я. Скляров

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

В експериментах на щурах за умов експериментальної виразки шлунка досліджено вплив аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну – імунофану на стан NO-синтазної системи. Показано, що дія імунофану на фоні виразкових пошкоджень шлунка призводила до різкого зниження активності NO-синтаз, вмісту NO у слизовій оболонці шлунка (СОШ) та зростання концентрації L-аргініну в плазмі крові. Дія імунофану на тлі блокування iNOS аміногуанідином викликала посилення гальмування активності iNOS та зменшення вмісту NO у СОШ, концентрація L-аргініну у плазмі крові збільшувалась. За умов поєднаної дії імунофану та L-аргініну активність NO-синтаз знижувалась, вміст нітрогену оксиду дещо зростає, концентрація L-аргініну в плазмі крові була вищою, ніж у контрольних тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргінін, нітрогену оксид, NO-синтази, L-аргінін, виразка шлунка.

ВСТУП. Гексапептид аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргінін використовують в медицині під комерційною назвою “Імунофан”. Проте залишається недостатньо з’ясованим його вплив на функцію шлунка [4, 5]. Метою дослідження було вивчення впливу аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну на активність системи L-аргінін/NOS/NO у патохімічних процесах розвитку виразкових пошкоджень шлунка.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 42 щурах згідно з міжнародними умовами проведення експериментів на лабораторних тваринах. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, для проведення дослідів тварин брали натщесерце, забезпечували безперешкодний доступ до води.

Виразку слизової оболонки шлунка (СОШ) викликали шляхом інтраперитонеального введення адреналіну (2 мг/кг) [1, 2]. Збір матеріалу для досліджень здійснювали під уретановим наркозом (1,1 мг/кг). Було проведено 4 серії дослідів: у першій серії визначали дію адреналіну; в другій – вплив імунофану (1 мкг/кг) на фоні дії адреналіну; в третій – поєднану дію імунофану (1 мкг/кг) та L-аргініну (300 мг/кг) на фоні дії адреналіну; в четвертій – поєднану дію імунофану (1 мкг/кг) та блокатора iNOS аміногуанідину (20 мг/кг) на фоні дії адреналіну.

© Х.М. Насадюк, О.Я. Скляров, 2009.

Для оцінки системи L-аргінін/NOS/NO у СОШ визначали активність NO-синтаз [10], вміст нітрогену оксиду (NO) [7], концентрацію L-аргініну в плазмі крові [6]. Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За фізіологічних умов активність NO-синтаз у СОШ зменшувалась – домінувала активність eNOS, тоді як активність iNOS не визначалась або була низькою [8]. Дія адреналіну призводила до виникнення деструктивних пошкоджень СОШ у вигляді ерозій, виразок, крововиливів [6]. При цьому в СОШ різко зростала активність NO-синтаз: загальна активність NO-синтаз підвищувалась з $(0,876 \pm 0,42)$ до $(2,65 \pm 0,827)$ нмоль/хв·г ($p < 0,01$), активність eNOS – з $(0,693 \pm 0,32)$ до $(0,725 \pm 0,225)$ нмоль/хв·г, тоді як активність iNOS зростала майже у 6 разів ($p < 0,001$), вміст NO збільшувався з $(16,1 \pm 2,55)$ до $(24,1 \pm 2,6)$ мкмоль/л (на 50 %, $p < 0,05$). Концентрація L-аргініну в плазмі крові зменшилась з $(44,4 \pm 7,1)$ до $(24,8 \pm 4,4)$ мкг/мл (на 36 %) (табл. 1).

При введенні імунофану на фоні дії адреналіну відбувалось різке зменшення активності загальної NOS – на 36 % ($p < 0,05$), активність eNOS знижувалась на 41 % ($p < 0,05$), а iNOS – на 31 % ($p < 0,05$). Вміст NO зменшувався на 30 % ($p < 0,05$) порівняно з впливом адреналіну. Концентрація L-аргініну в плазмі

Таблиця 1 – Активність NO-синтаз і вміст NO у СОШ за умов самостійної дії імунофану та його поєднаної дії з L-аргініном або блокатором iNOS аміногуанідином при експериментальній виразці

Серія досліджень	NO, мкмоль/л	iNOS, нмоль/хв·г	eNOS, нмоль/хв·г	NOS, нмоль/хв·г
Інтактні тварини	16,1±2,55	0,183±0,1	0,693±0,32	0,876±0,42
Дія адреналіну	24,1±2,6*	1,06±0,28*	0,726±0,22	2,65±0,828*
Імунофан+адреналін	17,0±2,93**	0,736±0,173	0,429±0,10**	1,17±0,265**
Імунофан+аміногуанідин+адреналін	15,4±3,13	0,509±0,17	0,514±0,24	1,02±0,08
Імунофан+L-аргінін+адреналін	17,3±1,25	0,432±0,132	0,492±0,11	0,926±0,19

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами; ** – $p < 0,001$, $p < 0,05$ порівняно з дією адреналіну.

крові зростала на 42 % ($p < 0,05$). Отже, введення імунофану призводило до зниження активності NO-синтаз, вмісту нітрогену оксиду в СОШ, концентрація L-аргініну в плазмі крові підвищувалась до (33,1±14,8) мкг/мл.

Дія імунофану на тлі блокування iNOS аміногуанідином викликала тенденцію до посилення інгібування активності iNOS та eNOS, зменшення вмісту NO. Поєднана дія імунофану та L-аргініну призводила до зниження активності переважно iNOS – на 42 % ($p < 0,05$), при цьому вміст NO суттєво не змінювався порівняно з дією імунофану на фоні адреналіну.

Отримані результати свідчать про те, що імунофан гальмує активність NO-синтаз у СОШ. Відомо, що він проявляє виражену імуномодуючу дію за рахунок стимуляції процесів проліферації та диференціації Т-лімфоцитів, посилення антитілоутворення, підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів, зниження процесів ліпопероксидації [3]. Іншим механізмом, що може зумовлювати вплив імунофану на активність NO-синтаз, є наявність у його складі аргініну. Дія імунофану на фоні блокування iNOS аміногуанідином викликала виражене гальмування активності iNOS, відповідно, знижувався вміст нітрогену оксиду в СОШ. Можливо, цей ефект зумовлений блокуванням активності різних компонентів iNOS.

Відомо, що екзогенне введення L-аргініну за умов водно-імобілізаційного стресового пошкодження СОШ призводило до зниження активності iNOS, що пов'язують із зменшенням інфільтрації СОШ нейтрофілами [9]. Поєднана дія імунофану та L-аргініну мала тенденцію до посилення інгібування активності iNOS.

Отже, імунофан, зменшуючи активність NO-синтаз, проявляє гастропротекторний ефект, який не пов'язаний із впливом селективного блокатора iNOS аміногуанідину та прекурсора для NO-синтаз – L-аргініну.

ВИСНОВКИ. 1. Деструктивні пошкодження СОШ супроводжуються різким зростанням загальної активності NO-синтаз, при цьому активність iNOS підвищувалась у 6 разів. Дія імунофану призводить до зниження активності eNOS та iNOS. Паралельно зменшується вміст нітрогену оксиду та зростає концентрація L-аргініну в плазмі крові.

2. Дія імунофану на тлі блокування iNOS аміногуанідином призводить до посилення гальмування активності iNOS, незначного зростання eNOS та зменшення вмісту NO у СОШ. Поєднана дія імунофану та L-аргініну гальмує активність NOS, переважно за рахунок iNOS, порівняно з впливом імунофану на фоні дії адреналіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии. – М.: Медицина, 2000. – 128 с.
2. Белостоцкий Н.И. Язвеобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов // Патол. физиол. и эксперим. мед. – 1988. – № 1. – С. 24-27.
3. Лебедев В.В. Проблемы патогенеза и терапии иммунных расстройств. – М., 2002. – 141 с.
4. Пудиков М.Н. Применение эндоскопических сорбционных эндоскопических сорбционных ин-

суффляций в комплексном лечении эрозивно-язвенных поражений желудочно-кишечного тракта, оложенных кровотечением: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. 14.00.27 "Хирургия". – Воронеж, 2007. – 20 с.

5. Сафронов Д.А. Применение имунофана у больных, оперированных по поводу язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, осложненной кровотечением: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. 14.00.27 "Хирургия" – М., 1999. – 20 с.

6. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Мандрик Ю.В., Червінська М.Є. Периферійні механізми регуляції процесів цитопroteкції у слизовій оболонці шлунка. – Львів, 2007. – 159 с.

7. Green L.C., David A.W. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P. 131-138.

8. Ko J.K.S., Cho C.H. CO-regulation of mucosal nitric oxide and prostaglandin in gastric adaptive cytoprotection // Inflamm. Res. – 1999. – **48**. – P. 471-478.

9. Ohta Y., Kamiya Y., Imai Y. et al. Role of gastric mucosal ascorbic acid in gastric mucosal lesion development in rats with water immersion restraint stress // Inflammopharmacology. – 2005. – **13**, № 1-3. – P. 249-259.

10. Omura T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsoms. Solubilization, purification and properties // J. Biol. Chem. – 1964. – **239**. – P. 2379-2385.

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА АРГИНИЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА НА АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА

К.М. Насадюк, О.Я. Склярів

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

В экспериментах на крысах в условиях экспериментальной язвы желудка исследовано влияние аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина – иммунофана на состояние NO-синтазной системы. Показано, что действие иммунофана на фоне язвенных повреждений желудка приводило к резкому снижению активности NO-синтаз, содержания NO в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и возрастанию концентрации L-аргинина в плазме крови. Действие иммунофана на фоне блокирования iNOS аминоксидом вызывало усиление торможения активности iNOS и уменьшение содержания NO в СОЖ, концентрация L-аргинина в плазме крови увеличивалась. В условиях сочетанного действия иммунофана и L-аргинина активность NO-синтаз снижалась, содержание окиси азота незначительно возрастало, концентрация L-аргинина в плазме крови была выше, чем у контрольных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин, нитрогена оксид, NO-синтазы, L-аргинин, язва желудка.

EFFECT OF PEPTIDE OF ARGINYL-ALPHA-ASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTHASE SYSTEM IN EXPERIMENTAL GASTRIC ULCER

Kh.M. Nasadyuk, O.Ya. Sklyarov

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

In the experiments on rats, under conditions of modeled gastric ulcer, there has been investigated the role of arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine – immunofan on the status of NO-synthase system. It has been shown that immunofan action against the background of ulcerative lesions of the stomach caused a steep decline of the activity of NO-synthases, decrease of NO content in GM and increase of L-arginine concentration in blood plasma. Action of immunofan against the background of blockage of iNOS with amine guanidine induced enhancement of inhibition of iNOS activity and decrease of NO content in GM, whereas concentration of L-arginine in blood plasma increased. Under conditions of combined action of Immunofan with L-arginine, activity of NO-synthases reduced, content of nitrogen oxide slightly increased, and concentration of L-arginine in blood plasma was higher than in the control animals.

KEY WORDS: arginyl-alfa-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine, NO-synthases, L-arginine, stomach ulcer.

Отримано 8.09.2009 р.

Адреса для листування: О.Я. Склярів, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

ВПЛИВ ЙОДВІСНОЇ ГАРБУЗОВОЇ ОЛІЇ НА ПЕРЕБІГ ІХС У ЖИТЕЛІВ ЗАКАРПАТТЯ НА ФОНІ ЛІКУВАННЯ СИМВАСТАТИНОМ

Л.І. Балінт¹, Л.М. Ростока¹, І.М. Туряниця²
УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹
СЛОВАЦЬКИЙ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ²

Вивчено вплив загальноприйнятого лікування в комбінації з симвастатином, а також йодвісною гарбузовою олією на показники ліпідного обміну у хворих на ІХС, що проживають в умовах йодної недостатності. Показано, що симвастатин – ефективний та безпечний холестеринзнижуючий препарат у хворих на ІХС, який вже через 2 міс. використання призводить до зниження рівня ХС на 23 % та ЛПНЩ на 42 %. Комбінація симвастатину з йодвісною гарбузовою олією виявляється більш ефективною, можливо, в результаті потенціювання їх ефектів, що сприяє також підвищенню рівня антиатерогенних ЛПВЩ та більш вираженому покращенню загального клінічного стану, вірогідно, за рахунок нормалізації йодно-тиреоїдної регуляції метаболізму у хворих в умовах екологічного йодного дефіциту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ІХС, симвастатин, холестерин, ліпопротеїди, гарбузова олія.

ВСТУП. Серцево-судинна патологія – основна причина захворюваності та смертності у всьому світі. В сучасній кардіології використання статинів є одним із найбільш розповсюджених видів терапії завдяки їх гіполіпідемічній дії. Призначення статинів на сьогодні рекомендовано для вторинної профілактики всім пацієнтам із діагнозом ІХС і високим ризиком серцево-судинних ускладнень незалежно від віку, статі і початкового рівня холестерину [1]. Однак при неуспісі монотерапії подальшим кроком є комбіноване використання терапевтичних доз статинів та, зокрема, омега-3 поліненасичених жирних кислот [2].

Нашими попередніми дослідженнями було показано дію йодвісних жирних кислот як ефективного засобу для корекції функції щитоподібної залози при йодному дефіциті, їх антиатерогенні властивості, здатність підвищувати опірність організму до несприятливих факторів довкілля, підвищувати імунологічну реактивність, антиоксидантний їх ефект [4].

Метою дослідження було вивчення впливу загальноприйнятого лікування в комбінації з симвастатином, а також йодвісною гарбузовою олією на показники ліпідного обміну у хворих на ІХС в умовах екологічної йодної недостатності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 25 пацієнтів з діагнозом: ІХС. Стенокардія напруги. ФК II-III. Кардіосклероз атеросклеротичний.

© Л.І. Балінт, Л.М. Ростока, І.М. Туряниця, 2009.

Гіпертонічна хвороба II-III. Серцева недостатність II А, які знаходились на стаціонарному лікуванні в загальнокардіологічному відділенні ЗОКД (м. Ужгород, Закарпатська область) і проживають в біогеохімічному регіоні з екологічно обумовленим йодним дефіцитом [6]. Середній вік хворих складав (56,3±5,8) років. Пацієнти були розділені на 2 групи: 1 гр. – хворі отримували загальноприйняте лікування згідно з рекомендаціями МОЗ України з використанням симвастатину в дозі 20 мг/добу протягом обстеження; 2 гр. – те ж лікування в комбінації з йодвісною гарбузовою олією в дозі 10 мл/добу, що містить 200 мкг органічно зв'язаної форми йоду. Рівень холестерину (ХС), тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів високої та низької щільності (ЛПВЩ, ЛПНЩ) крові, а також аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ) визначали за допомогою тест-наборів (PLIVA-Lachema a.s., Чехія). Коефіцієнт атерогенності (КА) вираховували за формулою: (ХС – ЛПВЩ)/ЛПВЩ.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нашими дослідженнями встановлено, що через 10 днів загальноприйнятого лікування з використанням симвастатину у хворих не спостерігалось достовірних змін ліпідного спектра крові, однак рівні АЛТ та АСТ були підвищені (табл. 1). Через місяць лікування у цих хворих відзначалось достовірне зниження рівня ХС на 17 % по відношенню до величин на початку спостереження та вмісту найбільш атерогенної фракції ЛПНЩ на 27 %. Однак насторожує не-

гативна тенденція до зниження антиатерогенних ЛПВЩ, в зв'язку з чим достовірно не змінювався також КА. Моніторинг активності ферментів крові (АЛТ, АСТ) вказував на їх небажане підвищення як по відношенню до контролю, так і в динаміці, хоча не перевищив рівень безпечності [5]. Через 2 міс. від початку лікування спостерігається достовірно зниження

рівня ХС на 23 %, ТГ на 41 % і, що важливо, тенденція до підвищення вмісту ЛПВЩ, в зв'язку з чим знижується КА на 44 %. Важливо, що на цей час в динаміці спостереження знижуються сироваткові трансамінази і досягають рівня до початку лікування. Отже, лікування симвастатином може розцінюватись як безпечно та досить ефективне.

Таблиця 1 – Показники ліпідного обміну у хворих на ІХС в динаміці загальноприйнятого лікування

Показник	До лікування n=10	Через 10 дн. лікув. n=10	Через 1 міс. лікув. n=10	Через 2 міс. лікув. n=10
ХС (ммоль/л)	4,8±0,19	4,5±0,28	3,99±0,31 *	3,73±0,19 *
ЛПВЩ (ммоль/л)	0,95±0,08	0,89±0,09	0,83±0,07	1,30±0,17 **
ЛПНЩ (ммоль/л)	3,52±0,26	3,19±0,31	2,56±0,29 *	2,03±0,02 *
ТГ (ммоль/л)	1,28±0,13	1,15±0,12	0,98±0,11	0,75±0,15 *
Коеф. атероген.	4,81±0,75	4,87±0,79	4,26±0,71	2,69±0,46* **
АЛТ (ммоль/л)	0,60±0,06	0,77±0,04 *	1,17±0,09 * **	0,75±0,15 **
АСТ (ммоль/л)	0,58±0,04	0,74±0,03 *	1,14±0,09 * **	0,69±0,11 **

Примітка. * та ** – показники достовірні по відношенню до контролю та попередньої групи відповідно.

Важливо відмітити, що при комбінації загальноприйнятого лікування, симвастатину та йодвмісної гарбузової олії в обстежуваних хворих вже через 10 дн. спостерігається тенденція до зниження рівня ХС та підвищення вмісту антиатерогенних ЛПВЩ. 1 міс. вказаного комплексу лікування призводить до достовірного зниження рівня ХС на 19 %, ЛПНЩ на 27 %, КА на 38 % та підвищення ЛПВЩ на 20 % (табл. 2). Це є дуже позитивним чинником, оскільки відомо, що зниження рівня ЛПНЩ на 1 % зменшує серцево-судинний ризик на 1 %, а підвищення ЛПВЩ на 1 % знижує цей ризик на 3 %. Крім того, важливо, що рівні сироваткових трансаміназ мають тенденцію до зниження. Ці виявлені додаткові сприятливі ефекти ми схильні віднести на рахунок дії йодвмісних ПНЖК (в тому числі омега-3), які містяться в складі йодвмісної гарбузової олії, оскільки відомо, що прийом цих ПНЖК призводить до зни-

ження всіх атерогенних фракцій ліпопротеїдів та підвищення рівня антиатерогенних [3]. З іншого боку, наявність йодвмісних жирних кислот в складі гарбузової олії сприяє компенсаторному надходженню фізіологічних доз йоду в організм і, як наслідок, нормалізації тиреоїдної регуляції метаболізму, тобто нівелюванню негативних наслідків йододефіциту [6]. Крім цього, омега-3 ПНЖК мають антиоксидантні властивості, що, вірогідно, вносить свій вклад в стабілізацію мембран гепатоцитів і зменшення гепатотоксичної дії статинів. 2 міс. вказаного лікування призводять до достовірного зниження рівня ХС на 19 %, ЛПНЩ на 27 % і, що особливо цінно, зростання вмісту антиатерогенних ЛПВЩ в 2,6 раза, за рахунок чого знижується КА в 4,7 раза.

В обох групах хворих в результаті лікування покращувався загальний клінічний стан, зменшувались кількість та тривалість ангіноз-

Таблиця 2 – Показники ліпідного обміну у хворих на ІХС в динаміці загальноприйнятого лікування в комбінації з йодвмісною гарбузовою олією

Показник	До лікування n=15	Через 10 дн. лікув. n=15	Через 1 міс. лікув. n=15	Через 2 міс. лікув. n=10
ХС (ммоль/л)	5,15±0,36	4,39±0,39 *	4,19±0,27 *	4,2±0,28*
ЛПВЩ (ммоль/л)	0,74± 0,05	0,87±0,06	0,93±0,10 *	1,93±0,11* **
ЛПНЩ (ммоль/л)	3,84±0,37	3,18±0,40	2,81±0,24 *	2,79±0,35*
ТГ (ммоль/л)	2,16±0,30	1,8±0,30	1,75±0,41	1,71±0,34
Коеф. атер.	5,80±0,50	4,08±0,35 *	3,57±0,37 *	1,23±0,20 * **
АЛТ (ммоль/л)	0,82±0,08	0,72±0,10	0,63±0,07	0,54±0,05 *
АСТ (ммоль/л)	0,70±0,08	0,69±0,08	0,60±0,05	0,42±0,03 * **

них нападів, потреба у нітропрепаратах, підвищувалась толерантність до фізичних навантажень, що було більш виражено у пацієнтів при комбінації лікування з йодвмісною гарбузовою олією. Цей факт ми схильні віднести на рахунок нормалізації йодно-тиреоїдного статусу і, як наслідок, загального метаболізму у хворих в умовах екологічно обумовленої йодної недостатності за рахунок йодвмісних жирних кислот [6].

ВИСНОВКИ. Симвастатин – ефективний та безпечний холестеринзнижуючий препарат у хворих на ІХС, який вже через 2 міс. використання призводить до зниження рівня ХС на 23 % та ЛПНЩ на 42 %. Комбінація симвастатину з йодвмісною гарбузовою олією вияв-

ляється більш ефективною, що призводить до достовірного зниження рівня ХС на 19 %, ЛПНЩ на 27 %, коефіцієнта атерогенності в 4,7 раза та, що особливо цінно, підвищення рівня антиатерогенних ЛПВП в 2,6 раза, які значно гірше піддаються корекції, ніж атерогенні ЛПНЩ. В обох групах хворих в результаті лікування покращувався загальний клінічний стан, що було більш виражено у пацієнтів при комбінації лікування з йодвмісною гарбузовою олією, вірогідно, за рахунок нормалізації йодно-тиреоїдного статусу і, як наслідок, загального метаболізму у хворих в умовах екологічно обумовленої йодної недостатності за рахунок йодвмісних жирних кислот, в тому числі омега-3.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваль Е.А., Романенко С.В. Статинотерапия: обоснованное расширение возможностей // Новости медицины и фармации. – 2009. – № 274. – С. 42-49.
2. Лутай М.І., Лисенко А.Ф. Статини у профілактиці серцево-судинних ускладнень // Therapia. Український медичний вісник. – 2007. – № 4. – С. 39-44.
3. Руденко В.Г. Новые возможности использования омега-3 жирных кислот в клинической практике // Здоров'я України. – 2008. – № 17(78). – С. 55.

4. Туряниця І.М., Росток Л.М., Балінт Л.І. Харчова добавка. – Деклараційний патент на винахід № 49605 А від 03.01.2002 р.- 19.09.2002. Бюл. №9.
5. Armitage J. The safety of statins in clinical practice // Lancet. – 2007. – **370**. – P. 1781-1790.
6. Turianica I., Angelovicova M., Rostoka L. et al. Enviromental iodine deficit and problems connected with it // Nitra. – 2007. – 211 p.

ВЛИЯНИЕ ЙОДСОДЕРЖАЩЕГО ТЫКВЕННОГО МАСЛА НА ТЕЧЕНИЕ ИБС У ЖИТЕЛЕЙ ЗАКАРПАТЬЯ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ СИМВАСТАТИНОМ

Л.И. Балінт¹, Л.М. Росток¹, И.М. Туряниця²
УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ¹
СЛОВАЦКИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ²

Резюме

Изучено влияние общепринятого лечения в комбинации с симвастатином, а также йодсодержащим тыквенным маслом на показатели липидного обмена у больных ИБС, проживающих в условиях йодной недостаточности. Показано, что симвастатин – эффективный и безопасный холестеринснижающий препарат у больных ИБС, который уже через 2 мес. использования приводит к снижению уровня ХС на 23 % и ЛПНП на 42 %. Комбинация симвастатина с йодсодержащим тыквенным маслом оказывается более эффективной, возможно, в результате потенцирования их эффектов, что способствует также повышению уровня антиатерогенных ЛПВП и более выраженному улучшению общего клинического состояния, вероятно, за счет нормализации йодно-тиреоидной регуляции метаболизма у больных в условиях экологического йодного дефицита.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ИБС, симвастатин, холестерин, липопротеиды, тыквенное масло.

IMPACT OF IODINE-CONTAINING PUMPKIN OIL ON THE COURSE OF CARDIAC ISCHEMIA IN THE RESIDENTS OF ZACARPATTYA REGION AGAINST A BACKGROUND OF SIMVASTATIN TREATMENT

L.I. Balint¹, L.M. Rostoka¹, I.M. Turianytsi²
UZHHOROD NATIONAL UNIVERSITY¹
SLOVAKIAN AGRICULTURAL UNIVERSITY²

Summary

The impact of the conventional treatment in combination with simvastatin and iodine-containing pumpkin oil "Fortuna vita" on the values of lipid metabolism in cardiac ischemia patients, residing under condition of iodine deficit, has been investigation. It was determined that simvastatin is an effective and safe cholesterol-reducing preparation for cardiac ischemia patients which results in reduction of cholesterol level by 23 % and LDL by 42 % in two months. A combination of simvastatin and iodine-containing pumpkin oil appears to be more effective, probably due to potentiation of their effects, which also facilitates the growth of antiatherogenic HDL and consequently decreases the atherogenicity coefficient as well as more expressed general clinical state. This fact is explained by normalization of iodine-thyroid status, and, consequently, of the general metabolism of the patients under conditions of ecologic iodine deficit because of iodine-containing fatty acids.

KEY WORDS: **cardiac ischemia, simvastatin, cholesterol, lipoproteins, pumpkin oil.**

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: Л.М. Ростока, Ужгородський національний університет, пл. Народна, 1, Ужгород, 88000, Україна.

ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ВИНОГРАДУ НА СТАН І ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ГОСТРОГО ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ

Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, С.В. Заїка, Г.Б. Кравченко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Показано, що поліфенольні комплекси “Каберне” і “Ркацителі” проявляють в умовах гострого парацетамолового гепатиту виразний лікувальний ефект. Встановлено, що поліфенольні комплекси винограду пригнічують перекисні деструктивні процеси та нормалізують стан антиоксидантної системи, зменшують прояви цитолітичного синдрому та значно поліпшують функціональний стан печінки, але незначно поступаються референс-препарату “Силібор” за впливом на розвиток цитолітичного та холестатичного синдромів при ураженні печінки парацетамолом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **виноград, гепатити, поліфеноли.**

ВСТУП. Значна кількість лікарських препаратів, які застосовують на цей час, негативно впливають на печінку: НПЗЗ (індометацин, парацетамол), протитуберкульозні (ізоніазид), антибіотики (тетрацикліни, макроліди – еритроміцин, олеандоміцин, рифампіцин), сечогінні (фуросемід), антикоагулянти непрямой дії [7].

Парацетамол є одним із найпопулярніших анальгетиків-антипіретиків, проте тривале його застосування, навіть в субтоксичних дозах, може негативно вплинути на стан печінки. Це зумовило актуальність дослідження гепатопротекторної дії поліфенольних комплексів винограду на моделі гострого парацетамолового ураження печінки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 24 щурах-самичках масою 200-240 г. Піддослідним тваринам перорально вводили парацетамол в дозі 1250 мг/кг 1 раз на добу протягом 2-х діб [1]. Поліфенольні комплекси “Ркацителі” та “Каберне” вводили внутрішньошлунково в дозі 0,5 мг/кг через 1 год після введення токсичного агента. Препарат порівняння “Силібор” вводили в дозі 25 мг/кг за тією ж схемою: перші два дні паралельно з парацетамолом, а потім ще один день. На третю добу тварин виводили з експерименту шляхом декапітації та визначали функціонально-біохімічні показники печінки та сироватки крові.

У тканині печінки визначали вміст ТБК-активних сполук [2], відновленого глутатіону [6], активність каталази [4], у сироватці крові – активність аланінамінотрансферази (АлАТ), гаммаглутамілтранспептидази (ГГТП), лужної фосфатази (ЛФ), вміст загального білка [3] та сечовини [5].

© Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, С.В. Заїка, Г.Б. Кравченко, 2009.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Найвиразнішим проявом патології став розвиток цитолітичного синдрому. Ми спостерігали більш ніж двократне зростання активності аланінамінотрансферази (табл. 1). Вартий уваги той факт, що виразний цитолітичний синдром розвивався на тлі помірної інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Рівень ТБК-реактивних у тканині печінки тварин групи контрольної патології підвищувався на 36,0 %, а вміст відновленого глутатіону зменшувався на 35,9 %. Достовірного зростання активності каталази ми не спостерігали.

Наслідком масової загибелі гепатоцитів стали виразні функціональні порушення, що розвивалися на тлі парацетамолового ураження печінки.

Зростання активності лужної фосфатази і гаммаглутамілтранспептидази у сироватці крові тварин групи контрольної патології свідчить про порушення процесів утворення та виділення жовчі.

Ми спостерігали також порушення білоксинтетичної функції печінки, на що вказує достовірне зниження рівня сироваткового білка. Рівень сечовини у сироватці крові суттєво не змінювався.

Виразність патологічних змін значно зменшувалася на тлі застосування поліфенольних комплексів винограду та препарату порівняння “Силібор”.

Нами була зафіксована нормалізація вмісту ТБК-реактивних у тканині печінки піддослідних тварин на тлі використання поліфенольних комплексів “Каберне” та “Ркацителі”: він зменшувався на 35,7 і 31,2 % відповідно. Так само нормалізувався рівень відновленого глутатіону, підвищуючись на 59,9 та 52,3 %. І хоча зростання активності каталази у сиро-

Таблиця 1 – Вивчення гепатозахисної дії поліфенольних комплексів винограду на моделі лікарського гепатиту, викликаного парацетамолом (n=6)

Показник/ група	Інтактний контроль	Контрольна патологія	“Каберне” 0,5 мл/кг	“Ркацителі” 0,5 мл/кг	Силібор 25 мг/кг
ТБК-АП, мкмоль/г	63,03±4,80	85,74±4,41*	55,13±6,28**	58,97±5,13**	69,23±4,71**
ВГ, ум. од.	44,85±4,38	28,73±2,63*	45,95±3,71**	43,76±1,73**	40,48±2,19**
Каталаза, мкат/л	2,64±0,19	3,18±0,19	2,42±0,18**	2,45±0,26**	2,50±0,26
АлАТ, ммоль/г·л	0,76±0,07	1,58±0,07*	1,17±0,10*/**	1,15±0,10*/**	0,99±0,05*/**
ГГТП ммоль/г·л	3,09±0,21	6,55±0,75*	4,67±0,25*/**	4,71±0,31*/**	3,74±0,28**
ЛФ, мкат/л	3,25±0,24	4,63±0,32*	3,74±0,15**	3,78±0,26	3,53±0,27**
Загальний білок, г/л	59,20±1,91	53,60±1,57*	60,00±1,58**	59,40±2,11**	60,80±1,88**
Сечовина, моль/л	7,36±0,50	6,20±0,39	7,08±0,38	6,94±0,61	7,80±0,64

Примітка. * – відхилення достовірне відносно інтактного контролю; ** – відхилення достовірне відносно контрольної патології; n – кількість тварин у дослідній групі.

ватці крові тварин групи контрольної патології не було статистично значущим, у щурів, лікованих досліджуваними поліфенольними комплексами, вона була статистично меншою, ніж у нелікованих, чого не спостерігалось при застосуванні препарату порівняння. Незважаючи на те, що в цілому вплив референс-препарату на процеси ПОЛ і стан антиоксидантної системи (АОС) був менш виразним, силібор також призводив до нормалізації оксидативного балансу. Рівень ТБК-активних сполук при застосуванні силібору знижувався на 19,3 %, а вміст відновленого глутатіону підвищувався на 40,1 %.

Хоча застосування досліджуваних засобів призводило до повної нормалізації показників ПОЛ/АОС, ознаки цитолітичного синдрому при цьому зберігалися. Введення піддослідним тваринам поліфенольних комплексів “Каберне” і “Ркацителі” спричиняло зменшення активності аланінамінотрансферази у сироватці крові на 25,9 та 27,2 % відповідно, але вона залишалась підвищеною порівняно з інтактним контролем. Силібор чинив дещо виразніший антицитолітичний ефект, знижуючи активність АлАТ на 37,3 %, але також не призводив до її повної нормалізації.

Ми спостерігали значне поліпшення функціонального стану печінки на тлі лікування силібором та поліфенольними комплексами винограду, що проявилось нормалізацією

білоксинтетичної функції та відновленням рівня сироваткового білка.

Одночасно мало місце достовірне зменшення активності ГГТП. При застосуванні поліфенольних комплексів “Каберне” і “Ркацителі” вона знижувалась на 28,7 та 28,1 % відповідно. При введенні поліфенольного комплексу “Каберне” активність ЛФ повністю нормалізувалась, а у тварин, лікованих поліфенольним комплексом “Ркацителі”, не відрізнялась ані від інтактного контролю, ані від контрольної патології. Виявлені зміни дозволяють зробити висновок про зменшення виразності холестатичного синдрому при застосуванні досліджуваних поліфенольних комплексів. Разом із тим, введення силібору призводило до повної нормалізації активності ЛФ та ГГТП, що свідчить про перевагу препарату порівняння за впливом на розвиток холестатичного синдрому.

ВИСНОВКИ. Поліфенольні комплекси “Каберне” і “Ркацителі” чинять в умовах гострого парацетамолового гепатиту виразний позитивний вплив на розвиток патології. Досліджувані засоби зменшують виразність синдрому пероксидації, нормалізують стан системи ПОЛ/АОС, зменшують прояви цитолітичного синдрому та значно поліпшують функціональний стан печінки, хоча і поступаються незначно референс-препарату “Силібор” за впливом на розвиток цитолітичного та холестатичного синдромів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Дрогозов С.М., Сальникова С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холе-

спазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств // Издание официальное. – К.: ФК МЗ Украины, 1994.

3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Мн.: Беларусь, 2002. – 1. – 495 с.

4. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.

5. Строев Е. А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1986. – С. 208-211.

6. Beutler E.D., Duron Q., Kelly B.M. Improved method for the determination of blood glutathione // J. Lab. Clin. Med. – 1963. – 61, № 5. – P. 882.

7. Nyompa A.M., Shencer S. Drug and the liver // Gastroenterology and Hepatology. The Comprehensive Visual Reference. – Philadelphia: Current Medicine, 1996. – P. 611-612.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВИНОГРАДА НА СОСТОЯНИЕ И ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТА

Л.Н. Воронина, А.Л. Загайко, С.В. Заика, А.Б. Кравченко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Показано, что полифенольные комплексы “Каберне” и “Ркацители” проявляют в условиях острого парацетамолового гепатита выраженный лечебный эффект. Установлено, что полифенольные комплексы винограда угнетают перекисные деструктивные процессы и нормализуют состояние антиоксидантной системы, уменьшают проявления цитолитического синдрома и значительно улучшают функциональное состояние печени, хотя незначительно уступают референс-препарату “Силибор” по влиянию на развитие цитолитического и холестатического синдромов при поражении печени парацетамолом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: виноград, гепатиты, полифенолы.

INFLUENCE OF POLYPHENOL COMPLEXES FROM GRAPES ON CONDITION AND FUNCTION OF LIVER UNDER ACUTE PARACETAMOL HEPATITIS CONDITIONS

L.M. Voronina, A.L. Zahayko, S.V. Zaika, H.B. Kravchenko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

On the model of acute paracetamol hepatitis it has been revealed that polyphenol complexes from “Cabernet” and “Rcaciteli” grapes show the expressive medical effect. It has been established that polyphenol complexes from grapes oppress peroxidative processes and normalize antioxidative state, reduce cytolytic syndrome and improve considerably the functional condition of liver, though a little bit concede to a reference-preparation silibor by influence on cytolytic and cholestatic syndrome development under conditions of liver defeat by paracetamol.

KEY WORDS: grape, hepatitis, polyphenols.

Отримано 9.09.2009 р.

Адреса для листування: А.Л. Загайко, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

Із збірника – № 11, 1 3, 2009

СТАН СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ЗА ОНКОПАТОЛОГІЇ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ЖІНОК РІЗНОГО ВІКУ

Н.В. Мотрук¹, І.Л. Вовчук¹, В.В. Мосягін²
 ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА¹
 КУРСЬКИЙ ІНСТИТУТ СОЦІАЛЬНОЇ ОСВІТИ²

Досліджена активність протеолітичних ферментів та їх інгібіторів в зразках тканини молочної залози у жінок різного віку. Встановлено, що за наявності онкологічного захворювання істотно змінюється характер взаємозв'язку між досліджуваними ферментами тканини молочної залози. У жінок без новоутворень та з онкопатологією молочної залози встановлено негативні кореляційні зв'язки між активністю компонентів протеолітичної системи та віком хворих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протеолітичні ферменти, інгібітор трипсину, молочна залоза, пухлина.

ВСТУП. На сьогодні рак молочної залози є одним з найпоширеніших злоякісних захворювань у жінок. Слід зазначити, що в процесі пухлиноутворення, інвазії і метастазування центральну роль відіграють реакції протеолітичного розщеплювання [7]. Для тканин новоутворень молочної залози притаманні порушення протеїназно-інгібіторного співвідношення та надмірна активація ферментативної активності [8]. Проте автори більшості досліджень не акцентують свою увагу на вікових аспектах канцерогенезу. Але, на думку деяких дослідників, виникнення пухлин гормоночутливих органів, в тому числі і новоутворень молочної залози, пов'язано з порушеннями обміну статевих гормонів.

Мета нашого дослідження полягала у вивченні вікових особливостей взаємодії компонентів системи протеолізу тканини новоутворень молочної залози у жінок.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували гомогенати неураженої тканини та зразки но-

воутворень молочної залози, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування. Патоморфологічні діагнози були верифіковані за Міжнародною класифікацією ВООЗ [5]. У супернатанті тканини молочної залози визначали активність катепсинів: D [9] і L [3], активність трипсиноподібної протеїнази (ТП) [10] та її ендогенного інгібітора α_1 -антитрипсину (ІТ) [1], активність матриксної металопротеїнази-2 (ММП-2) [2], активність карбоксипептидази А (КА) [4] та вміст білка [11]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою критерію Стюдента та кореляційного аналізу [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В тканині молочної залози без новоутворень встановлено значний негативний кореляційний зв'язок між віком жінок та активністю ММП-2 ($r = -0,905$) і ІТ ($r = -0,905$) (табл. 1). Значно менший негативний коефіцієнт кореляції встановлений між віком хворих та активністю усіх інших досліджених ферментів.

Таблиця 1 – Вікові особливості та взаємозв'язок компонентів системи протеолізу тканини молочної залози у жінок без новоутворень

Параметр	Вік	Катепсин D	Катепсин L	ТП	ІТ	ММП-2	КА
Вік							
Катепсин D	-0,579						
Катепсин L	-0,217	-0,023					
ТП	-0,349	-0,371	0,677*				0,017
ІТ	-0,905*	0,640*	-0,537	-0,488		-0,726*	0,307
ММП-2	-0,905*	-0,196	0,209	0,294			-0,192
КА	-0,477	0,822*	0,528				

Примітка. * – $r > r_{xy} = 0,580$ ($p < 0,05$).

© Н.В. Мотрук, І.Л. Вовчук, В.В. Мосягін, 2009.

Історія розвитку – 0.11, 1 3, 2009

На відміну від зв'язку між активністю компонентів системи протеолізу та віком жінок без онкоураження молочної залози, за онкопроцесу встановлено підвищення негативного взаємозв'язку між активністю катепсину D ($r = -0,942$)

і катепсину L ($r = -0,411$) та віком хворих (табл. 2). Одночасно ми спостерігали зменшення негативного кореляційного зв'язку між віком жінок та активністю КА ($r = -0,101$), ТП ($r = -0,115$), ІТ ($r = -0,346$) та ММП-2 ($r = -0,645$).

Таблиця 2 – Вікові особливості та взаємозв'язок компонентів системи протеолізу в жінок з новоутвореннями тканини молочної залози

Параметр	Вік	Катепсин D	Катепсин L	ТП	ІТ	ММП-2	КА
Вік							
Катепсин D	-0,942*						
Катепсин L	- 0,411	-0,122					
ТП	-0,115	0,067	-0,704*				0,153
ІТ	-0,059	-0,346	0,503	-0,387		0,294	-0,498
ММП-2	-0,645*	0,257	0,605*	-0,036			-0,712*
КА	- 0,101	0,443	-0,579				

Примітка. * – $r > r_{xy} = 0,580$ ($p < 0,05$).

В неураженій тканині молочної залози встановлено значний позитивний кореляційний зв'язок між активністю катепсину D та КА ($r = 0,822$), катепсином L та ТП ($r = 0,677$) (табл. 1). Активність ММП-2 має вірогідний негативний кореляційний зв'язок з вмістом ІТ в тканині молочної залози без новоутворень ($r = -0,726$), що підтверджує гіпотезу про можливу участь трипсину в активації ММП-2 в тканині молочної залози без онкопатології.

За злякисного процесу у порівнянні з неураженою тканиною підвищився негативний кореляційний зв'язок між активністю катепсину D та катепсину L ($r = -0,122$) і вдвічі знизився кореляційний взаємозв'язок між активністю катепсину D та КА з ($r = 0,822$) до ($r = 0,443$). Негативний кореляційний зв'язок між активністю катепсину D і ТП ($r = -0,371$ і $r = 0,067$) та катепсином D і ММП-2 ($r = -0,196$ і $r = 0,257$) в тканині злякисної пухлини молочної залози змінився на позитивний, тоді як взаємозв'язок між катепсином D та ІТ, навпаки, змінився з позитивного на негативний ($r = 0,640$ і $r = -0,346$).

За онкопроцесу майже втричі збільшився позитивний кореляційний зв'язок між активністю катепсину L та ММП-2 з $r = 0,209$ до $r = 0,605$. В той час як позитивний кореляційний

зв'язок між катепсином L з КА ($r = 0,528$ і $r = -0,579$) та катепсином L і ТП ($r = 0,677$ і $r = -0,704$) і зв'язок між активністю КА і ІТ ($r = -0,498$) змінився на негативний. За наявності злякисного новоутворення молочної залози позитивний кореляційний зв'язок між активністю ТП та ММП-2 змінився на негативний ($r = 0,294$ і $r = -0,036$). Одночасно негативний взаємозв'язок між активністю ММП-2 і ІТ ($r = -0,726$ і $r = 0,294$) та між L і ІТ ($r = -0,537$ і $r = 0,503$), навпаки, змінився на позитивний. У тканині пухлин молочної залози в порівнянні з неураженою тканиною значно підвищився негативний кореляційний зв'язок між активністю КА і ММП-2 ($r = -0,712$). Також змінився з позитивного на негативний взаємозв'язок між активністю КА і ІТ ($r = -0,498$).

ВИСНОВОК. Нами встановлено, що за наявності онкозахворювання в тканині молочної залози істотно змінюється характер взаємозв'язку між досліджуваними ферментами. Отримані результати свідчать про центральне місце ТП в регуляції активності компонентів системи протеолізу тканини молочної залози. За наявності онкопроцесу в тканині молочної залози напрямок цього впливу змінюється з позитивного на негативний.

ЛІТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы в клинической диагностике // Ферменты в лабораторной диагностике. – М., 1973. – Т. 1. – С. 37–39.
2. Вовчук И.Л., Петров С.А. Активность металлопротеиназы (ММП-2) в тканях новообразований яичников женщин // Экспериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2007. – № 2. – С. 92–97.
3. Вовчук И.Л., Чернадчук С.С. Активность тканевых катепсин- L-подобных протеиназ у женщин с онкопатологией тела матки // Укр. биохим. журн. – 2004. – № 2. – С. 56–60.
4. Вовчук И.Л., Чернадчук С.С., Мотрук Н.В. та ін. Активність карбоксипептидази А в новоутвореннях молочної залози // Вісник ОНУ. – 2004. – 9, вип. 5. – С. 29–37.
5. Всемирная организация здравоохранения: Материалы ежегодных отчетов. – Санкт-Петербург, 1981. – 286 с.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с. англ. – М.: Практика, 1998. – 495 с.
7. Локшина Л.А. Протеолитические ферменты в регуляции биологических процессов // Биоорг. химия. – 1994. – 20, № 2. – С. 143–142.
8. Сологуб Л.І., Пашковська І.С., Антопяк Г.Л. Протеази клітин та їх функція. – К: Наукова думка, 1992. – 195 с.
9. Anson M.L., Mirsky A.E. The estimation of pepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. – 1932. – 16, № 1. – P. 59-67.
10. Kunitz M.I. The determination of kaseine in the blood and urine // Biol. Chem. – 1946. – 164. – P. 563-571.
11. Lowry O.H., Rosen-Brough N.I., Fan A.Z., Randol R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193. – P. 265-275.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Н.В. Мотрук¹, И.Л. Вовчук¹, В.В. Мосигин²
ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.И. МЕЧНИКОВА¹
КУРСКИЙ ИНСТИТУТ СОЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ²

Резюме

Исследовали активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в образцах ткани молочной железы у женщин разного возраста. Установлено, что при наличии онкозаболевания существенно изменяется характер взаимосвязи между ферментами. У женщин без новообразований и с онкопатологией молочной железы установлены отрицательные корреляционные взаимосвязи между активностью исследованных ферментов и возрастом больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеолитические ферменты, ингибитор трипсина, молочная железа, опухоль.

CONDITION OF PROTEOLYTIC SYSTEM IN BREAST TUMOR AT WOMEN OF DIFFERENT AGE

N.V. Motruk¹, I.L. Vovchuk¹, V.V. Mosyahin²
ODESSA NATIONAL UNIVERSITY BY I.I. MECHNYKOV¹
KURSK INSTITUTE OF SOCIAL EDUCATION²

Summary

The activity of proteolytic enzymes and their inhibitors in breast samples of different-aged women has been investigated. It has been established that at oncoprocess presence changes essentially the character of interrelation between investigated enzymes of breast tissue. At women without tumors and with breast tumor the negative correlative interrelations between the activity of proteolytic system components and the patients' age are established.

KEY WORDS: proteolytic enzymes, inhibitor of trypsin, breast, tumor.

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: Н.В. Мотрук, Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, пров. Шампанський, 2, Одеса, 65058, Україна.

ПОБІЧНИЙ ПРОДУКТ ВИРОБНИЦТВА КАРОТИНУ – ВІТАДЕПС ЯК ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Л.О. Прімова
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У статті викладено результати досліджень складу вітадепсу – побічного продукту виробництва каротину з біомаси мукорового гриба *Blakeslea trispora*, який культивували на напівсинтетичному поживному середовищі. Встановлено високий вміст ліпідів і низьку концентрацію білка. Визначено всі незамінні амінокислоти. Відмічено особливо високу концентрацію метіоніну, незначну кількість фракцій небілкового азоту з переважанням нетоксичних його форм. Встановлено концентрацію аскорбінової кислоти. Показано, що вітадепс є комплексним препаратом, який може бути джерелом каротиноїдів, метіоніну, фосфоліпідів, вітаміну С.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вітадепс, гриб *Blakeslea trispora*, каротиноїди, фосфоліпіди, метіонін, небілковий азот, вітамін С.

ВСТУП. Питання щодо забезпечення медицини, ветеринарії вітамінами, гормонами, ферментами, антибіотиками все частіше вирішують за рахунок їх синтезу мікроорганізмами [9, 15, 16]. В останні роки було встановлено, що муковий гриб *Blakeslea trispora*, крім каротину, продукує та накопичує у складі міцелію амінокислоти, вітаміни групи В, аскорбінову кислоту, поліненасичені жирні кислоти, мікроелементи [2, 5, 10, 12]. На сьогодні біомасу гриба використовують лише як сировину для виробництва каротину, тому вітадепс – залишок біомаси після екстракції пігменту – може бути джерелом біологічно активних речовин. Необхідно відмітити, що у літературі дані про хімічний склад побічних продуктів виробництва каротину значно відрізняються, що пов'язано із застосуванням нових штамів *Blakeslea trispora*, вдосконаленням технології його культивування [2, 11, 13, 14]. Досліджувані зразки вітадепсу одержано з біомаси гриба, що вирощена на напівсинтетичному поживному середовищі, в якому основним джерелом азотного живлення є сульфат амонію.

Метою роботи було визначення у вітадепсі вмісту ліпідів, білка та його амінокислотного спектра, фракцій небілкового азоту, аскорбінової кислоти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували зразки вітадепсу з різних партій біомаси *Blakeslea trispora* виробництва Верхньо-

дніпровського біотехнологічного комбінату. Сухі речовини, загальну вологу визначали гравіметричним методом, сиру золу – методом сухого озолення [6]. Вміст загальних ліпідів встановлювали за Рушковським, фосфоліпідів – за Блюром, каротиноїдів, каротину, ксантофілів – фотокolorиметричним методом. Каротин відділяли шляхом розподільної хроматографії, ксантофіли – за методом Вільштеттера [6, 7]. Загальний азот визначали за К'ельдалем, білковий і небілковий – за Барнштейном, амонійний – за методом Конвея, нітратний – потенціометричним і амідний – алкаліметричними методами, амінний – за різницею між сумою небілкового азоту і концентрацією різних його форм [6]. Спектр амінокислот вивчали методом іонообмінної хроматографії на амінокислотному аналізаторі-835 фірми "Hitachi" [3]. Вітамін С визначали за реакцією Тільманса [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У зразках, які досліджували, виявлено незначну кількість води. У сухій частині переважають органічні речовини, частка сирої золи становить 4,9 % (табл. 1). Серед органічної складової преобладають ліпіди – 53,5 %, їх концентрація у десятки разів більша, ніж в інших видах грибів [1].

У ліпідній фракції препарату каротиноїди складають 11,4 г/кг, з них β -каротин становить 30 %, інші каротиноїди – 67,5 % всіх ліпідів (табл. 2). Вміст каротиноїдів у вітадепсі значно перевищує кількість цих пігментів у інших видах грибів [1, 12]. Ліпідна фракція вітадепсу

Таблиця 1 – Хімічний склад вітадепсу, г/кг

Показник	Вітадепс	
	$x \pm S_x$	% у АСП
Загальна вологість	85,7±11,5	–
Суша речовина	914,3±11,5	100,0
Сира зола	45,0±0,6	4,9
Органічні речовини:	869,3±7,4	95,1
у т.ч. ліпіди	489,5±6,2	53,5
протеїн (ЗА · 6,25)	124,4±1,4	13,6
вуглеводи	255,4±4,2	28,0

Примітка. ЗА – загальний азот.

містить 24,3 г/кг фосфоліпідів, це досить багато для грибів [1].

На фоні високої концентрації ліпідів вітадепс має незначну кількість білка – 12,6 %, що містить усі незамінні амінокислоти. Препарат відзначається великою кількістю метіоніну – 40,9 г/кг. Відомо, що для більшості білків ця амінокислота є лімітуючою. Імовірно, висока концентрація метіоніну у вітадепсі зумовлена наявністю у середовищі для культивування продуцента значної кількості сульфатів (амонію, заліза, цинку та ін.) [8].

Відомо, що гриби здатні відновлювати сірку, тому присутність сульфатів може змінювати напрямок біосинтетичних процесів у гриба. Білки препарату мають високий амінокислотний індекс – 1,46, що свідчить про їх якість.

Поряд з білком до складу вітадепсу входить небілковий азот, який містить у незначних концентраціях небажані форми – нітратний і амонійний азот при більш високій кількості амінного та амідного, сума останніх становить 72,0 % від небілкового азоту. *Blakeslea trispora* відносять до грибів, які слабо засвоюють азот нітратів, частина їх може утворюватися при окисненні аміаку. Серед інших форм небілкового азоту на нітратний припадає лише 0,6 % (табл. 2). Кількість нітратів у досліджуваних зразках нижча ГДК, які вста-

Таблиця 2 – Вміст органічних речовин у вітадепсі, г/кг

Показник	Вітадепс	
	$x \pm S_x$	% у АСП
Сухі речовини	914,3±11,5	100,0
Органічні речовини	869,3±7,4	95,1
Ліпіди:	489,5±6,2	53,5
каротиноїди:	11,4±0,1	1,2
каротин	3,4±0,03	0,4
ксантофіли	0,3±0,03	0,03
інші каротиноїди	7,7±0,02	0,8
фосфоліпіди	24,3±0,5	2,6
інші ліпіди	453,8±5,6	49,6
Білки (БА · 6,25)	115,6±0,3	12,6
Небілковий азот:	1,4±0,2	0,15
у т.ч. нітратний	0,008±0,0001	0,0009
амонійний	0,385±0,026	0,04
амідний	0,320±0,015	0,03
амінний	0,687±0,026	0,07
Вітамін С	0,554±0,048	0,06

Примітка. БА – білковий азот.

новлено для рослин [4]. У складі вітадепсу виявлено також аскорбінову кислоту, концентрація якої аналогічна вмісту вітаміну С у чорній смородині, суніцях, зеленій цибулі, шпинаті (500-700 мг/кг).

ВИСНОВКИ. Вітадепс є комплексним препаратом, що містить у своєму складі біологічно активні речовини у концентраціях, які дозволяють вважати його джерелом каротиноїдів, амінокислот, зокрема метіоніну, фосфоліпідів, вітаміну С. Встановлено, що концентрація небажаних форм небілкового азоту в препараті не перевищує ГДК. Отримані результати вказують на перспективність подальшого вивчення хімічного складу та використання вітадепсу як джерела біологічно активних речовин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. – М.: МГУ, 1988. – 229 с.
2. Бобнева С.М. Биомасса гриба *Blakeslea trispora* - источник каротина, белка и липидов // Сб.: Использование биомассы микроорганизмов для пищевых целей. – Пушино, 1985. – С. 61-72.
3. Високоэффективная жидкостная хроматография в биохимии / Под ред. А. Хеншен. – М.: Мир, 1988. – 688 с.
4. Дерягина В.П., Жукова Г.Ф., Хотимченко С.А. Содержание в продуктах питания нитратов и нит-

ритов и оценка их поступления с суточным рационом // Вопр. питания. – 1993. – № 4. – С. 47-52.

5. Живовер О.В., Киндя В.И. Физиологически активные соединения мицелиального гриба *Blakeslea trispora* // Вісник Сумського державного аграрного університету. Міжнародна конф. “Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі” (Суми, 2-4 жовтня 2009 р.) – Суми, 2002. – С. 140-152.

6. Петухова Е.А., Бесарабова Р.Ф., Холенева Л.Д., Антонова О.А. Зоотехнический анализ кормов. – М.: Агропромиздат, 1989.

7. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1969.
8. Примова Л.О., Кіндя В.І. Амінокислотний склад білків вітатону та вітадепсу // Вісник Сумського державного аграрного університету. Міжнародна конф. "Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі" (Суми, 2-4 жовтня). – Суми, 2002. – С. 15-19.
9. Стенько А.С., Мартиновський В.П., Кунщикова Є.А., Кунщикова І.С. Мікроорганізми – продуценти β-каротину природного походження // Вісник Сумського державного аграрного університету. Міжнародна конф. "Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі" (Суми, 2-4 жовтня 2002 р.): Тез. доп. – Суми, 2002. – С. 19-21.
10. Bohme K., Richter C., Patz R. New insights into mechanisms of growth and beta-carotene production in *Blakeslea trispora* // *Biotechnol. J.* – 2006. – 1 (10). – P. 1080-1084
11. Choudhari S.M., Ananthanarayan L., Singhal R.S. Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of beta-carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* // *Bioresour. Technol.* – 2008. – 99 (8). – P. 3166-3173.
12. Kuzina V., Cerda-Olmedo E. Ubiquinone and carotene production in the Mucorales *Blakeslea* and *Phycomyces* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2007. – 76 (5). – P. 991-999.
13. Mantzouridou F., Roukasa T., Kotzekidou P., Liakopoulou M. Optimization of beta-carotene production from synthetic medium by *Blakeslea trispora*: a mathematical modeling // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2002. – 101 (2). – P. 153-175.
14. Mehta B.J., Obratsova I.N., Cerda-Olmedo E. Mutants and intersexual heterokaryons of *Blakeslea trispora* for production of beta-carotene and lycopene // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – 69 (7). – P. 4043-4048.
15. Pandey U, Pandey J. Enhanced production of biomass, pigments and antioxidant capacity of a nutritionally important cyanobacterium *Nostocopsis lobatus* // *Bioresource Technology.* – 2008. – 99 (10). – P. 4520-4523.
16. Rodriguez-Villalon A., Perez-Gil J., Rodriguez-Concepcion M. Carotenoid accumulation in bacteria with enhanced supply of isoprenoid precursors by upregulation of exogenous or endogenous pathways // *J. Biotechnol.* – 2008. – 135 (1). – P. 78-84.

ПОБОЧНИЙ ПРОДУКТ ПРОИЗВОДСТВА КАРОТИНА – ВИТАДЕПС КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Л.А. Примова

СУМСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В статье изложены результаты исследований состава витадепса – побочного продукта производства каротина из биомассы мукорового гриба *Blakeslea trispora*, который культивировали на полусинтетической питательной среде. Установлено высокое содержание липидов и низкую концентрацию белка. Обнаружены все незаменимые аминокислоты. Отмечены особенно высокая концентрация метионина, незначительное количество фракций небелкового азота с преобладанием нетоксичных его форм. Определена концентрация аскорбиновой кислоты. Показано, что витадепс является комплексным препаратом, который может быть источником каротиноидов, метионина, фосфолипидов, витамина С.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: витадепс, гриб *Blakeslea trispora*, каротиноиды, фосфолипиды, метионин, небелковый азот, витамин С.

BY-PRODUCT OF CAROTENE PRODUCTION – VITADEPS AS A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

L.O. Primova

SUMY STATE UNIVERSITY

Summary

The results of researches of vitadeps structure – a by-product of carotene production from biomass of mucorales fungus *Blakeslea trispora*, are adduced in the article. For cultivation of a producer the semisynthetic nutrient medium has been used. The high content of lipids and low concentration of protein has been established. All essential amino acids have been found out. Very high concentration of methionine, the insignificant amount of fractions of nonproteinous nitrogen with prevalence of its nontoxic forms has been marked. The concentration of ascorbic acid has been determined. It is shown that vitadeps is a complex preparation which can be a source of carotenoids, methionine, phospholipids, vitamin C.

KEY WORDS: vitadeps, fungus *Blakeslea trispora*, carotenoids, phospholipids, methionine nonproteinous, nitrogen, vitamin C.

Отримано 15.09.2009 р.

Адреса для листування: Л.О. Примова, Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007, Україна.

ISSN 1606-8070 – 0.11, 1 3, 2009

СТАН БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ТВАРИН ПРИ СПОЖИВАННІ ВОДНО-СОЛЬОВОГО РОЗЧИНУ З РІЗНИМИ КОНЦЕНТРАЦІЯМИ ІОНІВ НАТРІЮ І КАЛІЮ

І.Р. Мисула, В.В. Лотоцький

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вода із вмістом різних концентрацій іонів натрію і калію та їх різноманітні комбінації негативно впливають на білковий обмін в організмі білих щурів, викликаючи гіпопротеїнемію і збільшення кількості сечовини та креатиніну в плазмі крові. Недіючими були концентрації іонів калію 2,5 і натрію 25,0 мг/дм³.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вода, печінка, іони натрію, іони калію, білковий обмін

ВСТУП. Хімічні елементи, які потрапляють в організм людини з водою, особливо мінеральною, володіють більшою фізіологічною активністю порівняно з елементами, що надходять з продуктами харчування [9]. Недостатня або надмірна їх кількість в організмі, як правило, призводить до фізіологічних порушень, а в окремих випадках є першопричиною формування патологічних станів [4]. Численні літературні дані свідчать про тісний зв'язок між мінеральним складом води і рівнем захворюваності населення [3, 6, 8].

Натрій і калій відносять до групи макроелементів, вони є одними з головних у формуванні хімічного складу природних вод [10]. Це незамінні елементи живого організму, що володіють вираженим гомеостазом і паралелізмом – зміна концентрації одного впливає на вміст іншого і призводить до розвитку патологічних процесів [7]. Одним з органів, що регулюють водно-сольовий обмін в організмі, є печінка, в якій іони натрію і калію на деякий час затримуються, що попереджує різке їх коливання в сироватці крові [1, 3].

Метою дослідження було з'ясувати особливості білкового обміну у тварин в результаті споживання водно-сольових розчинів з різними концентраціями та комбінаціями іонів натрію і калію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дію іонів натрію і калію на організм тварин вивчали на 72 білих нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г, по 12 тварин в кожній групі. Усіх тварин утримували на стандартному раціоні віварію, вони

мали вільний доступ до води з різним вмістом і співвідношенням іонів натрію та калію, яку споживали досхочу. Щурів поділили на шість груп: 1-ша (контрольна) – піддослідні тварини, які пили воду без додавання Na⁺ і K⁺; 2-га – споживали воду із вмістом Na⁺ в концентрації 100,0 мг/дм³; 3-тя – воду з K⁺ у кількості 10,0 мг/дм³; 4-та – воду з Na⁺ (100,0 мг/дм³) і K⁺ (10,0 мг/дм³); 5-та – Na⁺ (50,0 мг/дм³) і K⁺ (5,0 мг/дм³); 6-та – Na⁺ (25,0 мг/дм³) і K⁺ (2,5 мг/дм³). Як розчинник використовували питну воду гідрокарбонатно-кальцієвого класу Тернопільського міського водогону. Дослід проводили з дотриманням правил біоетики і згідно з вимогами правил GMP.

Тварин виводили з експерименту на 15 і 30 доби від початку досліду шляхом декапітації під тіопентал-натрієвим наркозом. Для дослідження брали цільну кров, сироватку крові та шматочки печінки для гістологічного дослідження. Концентрацію білка в сироватці крові визначали біуретовим методом, вміст сечовини – уніфікованим методом за кольоровою реакцією з діацетилмонооксимом, креатиніну – за кольоровою реакцією Яффе [5]. Отримані результати піддавали статистичному аналізу з визначенням середньої величини (M), середнього квадратичного відхилення (δ), критерію Стьюдента (t) та показника достовірності (p) [2]. Зміни вважали достовірними при p < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з рисунка 1, на 15 добу експерименту спостерігалось зниження концентрації загального білка у всіх групах піддослідних тварин порівняно з контрольною.

© І.Р. Мисула, В.В. Лотоцький, 2009.

І ааè:іà öïï іÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

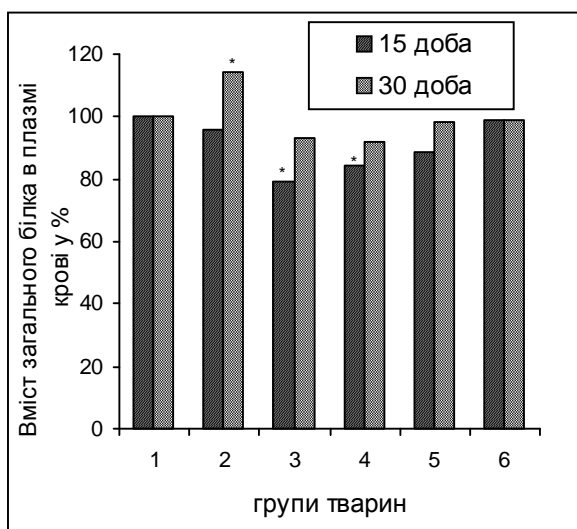


Рис. 1. Вміст загального білка в сироватці крові піддослідних щурів на 15 і 30 доби спостереження. (Тут і на інших рисунках: * – достовірність відмінностей показників дослідних і контрольної груп (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$)).

Статистично достовірну гіпопротеїнемію відмічали у тварин 3-ї групи (на 21,7 %, $p < 0,05$). Меншою мірою, хоча й статистично достовірно, впливала вода з комбінацією концентрацій іонів калію і натрію у щурів 4-ї групи (на 16 %, $p < 0,05$). У 5-й групі різниця з контролем становила 11 %. Вода з іонами натрію у кількості $100,0 \text{ мг/дм}^3$ викликала різницю з контролем лише 4 %.

На 30 добу спостереження лише у тварин 2-ї групи відмічали статистичне зростання вмісту загального білка в сироватці крові порівняно з контрольною групою (на 14,0 %, $p < 0,05$). У щурів 3–5 груп даний показник незначно підвищився порівняно з першим терміном спостереження, але рівня контрольних тварин не було досягнуто. Порушення процесів синтезу білка у піддослідних тварин можна пояснити певним негативним впливом на печінку питної води з концентрацією іонів натрію і калію (Na^+ – понад $25,0 \text{ мг/дм}^3$ і K^+ – $2,5 \text{ мг/дм}^3$). Причому найбільше на білоксинтетичну функцію печінки щурів впливали іони калію.

Наступним показником, який ми досліджували, була сечовина. Як видно з рисунка 2, споживання водно-сольових розчинів з різними концентраціями іонів натрію і калію викликало зростання вмісту сечовини в сироватці крові як у перший термін спостереження, так і в другий.

Найбільше зростання показника відмічали при споживанні питної води з іонами натрію в концентрації $100,0 \text{ мг/дм}^3$. Так, на 15 добу кількість сечовини збільшилася на 43 %

($p < 0,05$), а на 30 – на 119 % ($p < 0,001$). Дещо менше вплинуло на організм піддослідних тварин пиття води як у поєднанні з іонами калію в кількості $10,0 \text{ мг/дм}^3$, так і окремо лише з цими іонами в тій же концентрації. На 15 добу статистична достовірність спостерігалася в щурів 3-ї групи (показник підвищився на 30 %, $p < 0,05$). При збільшенні терміну спостереження – на 30 добу – зростання кількості сечовини було статистично достовірним як у 3-й, так і в 4-й групі (відповідно, на 80 % ($p < 0,001$) і 90 % ($p < 0,001$)).

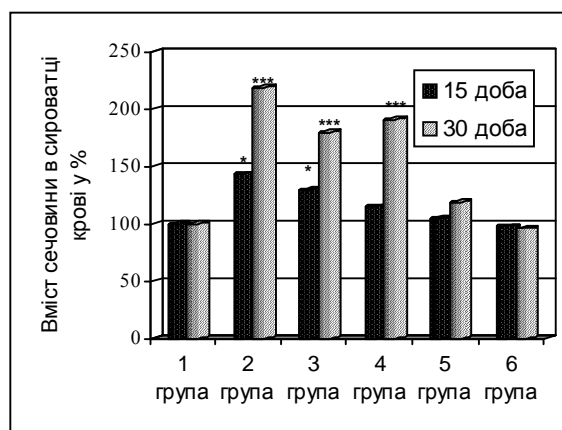


Рис. 2. Вміст сечовини в сироватці крові піддослідних щурів на 15 і 30 доби спостереження.

Як видно з рисунка 3, у піддослідних тварин на 15 і 30 доби спостереження мало місце статистично достовірне зростання кількості креатиніну в щурів 2-4 груп, які споживали водно-сольовий розчин з концентрацією іонів натрію $100,0 \text{ мг/дм}^3$, калію – $10,0 \text{ мг/дм}^3$ як окремо, так і в комбінації. Збільшення показника відмічали в межах 42–49 % ($p < 0,01$) в обидва терміни спостереження. У тварин 5-ї і 6-ї груп кількість креатиніну в сироватці крові дорівнювала контрольним величинам.

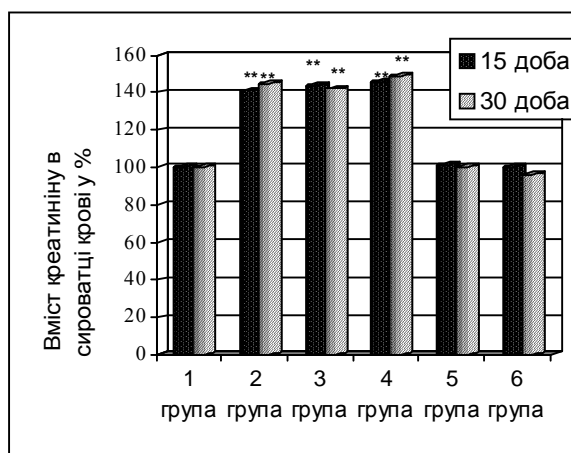


Рис. 3. Вміст креатиніну в сироватці крові піддослідних щурів на 15 і 30 доби спостереження.

ВИСНОВКИ. 1. Споживання водно-сольових розчинів як з іонами калію у концентрації 10,0 мг/дм³, так і при поєднанні з іонами натрію в концентрації 100,0 мг/дм³ в перший термін спостереження викликало статистично достовірне зменшення вмісту загального білка в сироватці крові піддослідних тварин, тенденція до якого збереглася і на 30 добу.

Споживання водно-сольового розчину лише з іонами натрію в кількості 100,0 мг/дм³ на 15 добу спричиняло незначне пригнічення білкоутворюючої функції організму зі статистично достовірним підсиленням її на 30 добу.

2. Споживання водно-сольового розчину із вмістом іонів натрію і калію у концентраціях, відповідно, 100,0 і 10,0 мг/дм³ як окремо, так і в комбінації впродовж 1 місяця призводило до статистично достовірного збільшення кількості сечовини і креатиніну в сироватці крові щурів.

3. Споживання впродовж 1 місяця водно-сольового розчину з вмістом іонів натрію і калію у концентраціях, відповідно, 25,0 і 2,5 мг/дм³ змін білкової функції у піддослідних тварин не викликало.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – М.: ООО “Издательский дом “М-Вести”, 2002. – 416 с.
2. Вальвачёв Н.И. Статистический метод в медицинской практике с применением микроЭВМ и персональных компьютеров/ Н.И. Вальвачёв, М.И. Рижма. – Минск: Беларусь, 1989. – 112 с.
3. Влияние минеральных лечебно-столовых вод карпатского региона на функциональное состояние печени и почек в эксперименте / К.Д. Бабов, Е.Н. Никипелова, Н.А. Алексеенко, И.А. Колкер // Буковинський медичний вісник. – 2000. – 4, № 2. – С. 148-152.
4. Иванова Л.Н. Физиологические механизмы регуляции водно-солевого баланса у животных и человека [Электронный ресурс] // Соросовский образовательный журнал. – 1996, Режим доступа до журн. : <http://www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/176.html>
5. Клінічна лабораторна діагностика: Практичні заняття з клінічної біохімії: Навчальний посібник / Л.П. Аксененко, З.С. Баркаган, З.П. Гетте та ін. / За ред. М.А. Базарнової, З.П. Гетте. – К.: Вища школа, 1994. – 423 с.
6. Коломийцева М.Г. Микроэлементы в медицине / М.Г. Коломийцева, Р.Д. Габович. – М., 1970. – 170 с.
7. Мальцев В.И. Гомеостаз натрия и калия в организме, его нарушения [Электронный ресурс] / В.И. Мальцев, В.К. Казимирко // Здоров'я України. – Ноябрь 2004 г. – № 89. – Режим доступа до газети: <http://www.health-ua.com/articles/591.html>
8. Мудрый И.В. О влиянии минерального состава питьевой воды на здоровье человека (обзор) // Гигиена и санитария. – 1999. – № 1. – С. 15-18.
9. Печеникова Е.В. О биологическом значении микроэлементов (обзор) / Е.В. Печеникова // Гигиена и санитария. – 1997. – № 4. – С. 41-44.
10. Хухрянский В.Г. Химия биогенных элементов / В.Г. Хухрянский, А.Я. Цыганенко, Н.В. Павленко. – К.: Вища школа. Головное изд-во, 1984. – 176 с.

СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА У ЖИВОТНЫХ ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ВОДНО-СОЛЕВОГО РАСТВОРА С РАЗНЫМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ ИОНОВ НАТРИЯ И КАЛИЯ

И.Р. Мисула, В.В. Лотоцкий

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Вода с содержанием разных концентраций ионов натрия и калия и их различные комбинации негативно влияют на белковый обмен в организме белых крыс, вызывая гипопроотеинемию и увеличение количества мочевины и креатинина в плазме крови. Недействующими были концентрации ионов калия 2,5 и натрия 25,0 мг/дм³.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вода, печень, ионы натрия, ионы калия, белковый обмен.

STATE OF PROTEIN EXCHANGE IN ANIMALS AT THE USE OF WATER-SALT SOLUTION WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS OF SODIUM AND POTASSIUM IONS

I.R. Mysula, V.V. Lototsky

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

Summary

Water, containing different concentration of sodium and potassium ions and their different combinations influence negatively on protein exchange processes in the organism of white rats and cause hypoproteinemia and the increase of urea and kreatinine amount in blood plasma. The concentrations of potassium ions 2,5 and sodium 25,0 mg/dm³ were not active.

KEY WORDS: **water, liver, sodium ions, potassium ions, protein exchange.**

Отримано 16.09.2009 р.

Адреса для листування: В.В. Лотоцький, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Історія лікування – 11, 1 3, 2009

105

ПРОТИПУХЛИННІ АНТИБІОТИКИ – БІОХІМІЧНІ НАСЛІДКИ ЗАСТОСУВАННЯ

Л.Б. Бондаренко, С.С. Таніна, Т.А. Карацуба, Г.Л. Гайдай
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Робота присвячена біохімічним наслідкам застосування протипухлинних антибіотиків у нервовій та сполучній тканинах. Високомолекулярні складові структури позаклітинного матриксу нервової і сполучної тканин здатні серйозно модифікувати ефекти протипухлинних антибіотиків, як знижуючи, так і підвищуючи їх вплив на пухлинний ріст та організм у цілому.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протипухлинні антибіотики, колаген, нервова тканина.

Напрямок та ступінь прояву впливу протипухлинних антибіотиків на тканини значною мірою залежать від метаболічного статусу і ступеня диференціювання їх клітин, а також від стану складових позаклітинного матриксу [7, 14, 15].

На даний час в хіміотерапії різних пухлин широко використовують великий спектр протипухлинних антибіотиків. Враховуючи різноманітність препаратів та відмінності в механізмах їх дії на неопластичні процеси й організм в цілому, на особливу увагу заслуговують проблеми взаємного впливу даних препаратів та клітин і тканин, як у пухлинах, так і в цілому організмі, під час розвитку патології та в нормі.

Ретельне вивчення таких взаємозалежностей дозволило б розширити наші уявлення щодо процесів впливу протипухлинних антибіотиків на рівні геному, клітини, органів і тканин, оптимізувати хіміотерапію неопластичних процесів, а також уникнути розвитку небажаних побічних ефектів та несприйнятливості пухлин до препаратів, які застосовують.

При вивченні ефекту протипухлинних антибіотиків на нервову тканину нами використувався штам гліобластоми Яблонівської – гліальна пухлина, яку перевивали інтрацеребрально білим щурятам (*Rattus norvegicus*) масою 40,0-50,0 г. Як донорів використовували тварин з ознаками ураження нервової системи. Внутрішньоочеревинне введення адриаміцину починали через 10 днів у такому режимі: 1,1 мг/кг щоденно, 3 дні. Внутрішньоочеревинне введення препарату щурам з перевитою гліобластою надало значний відсоток збільшення тривалості життя відносно контролю,

а саме 25,3 % (при критерії значущості $\geq 25,0$ % збільшення тривалості життя тварин).

Але успішне пригнічення пухлинного росту протипухлинними антибіотиками часто супроводжується щонайширшим спектром негативних наслідків. При цьому токсичний ефект протипухлинних антибіотиків не обмежується впливом на нуклеїнові кислоти, глікопротеїновмісні рецепторні структури та мієлін. Серйозні порушення відмічають і в процесах енергетичного обміну клітин, у структурі та функціонуванні мітохондрій, наприклад при впливі доксорубіцину [10].

Ще більш складні взаємозв'язки між реалізацією ефектів протипухлинних антибіотиків та складом клітин-мішеней у комплексі з їх позаклітинним матриксом наочно виражені у випадку сполучної тканини.

Роль позаклітинного матриксу, зокрема колагенових білків, у процесах виникнення, росту, проліферації та некрозу пухлин різної локалізації важко переоцінити. Молекули колагенів різних типів несуть на своїй поверхні специфічні сайти, відповідальні за регуляцію процесів диференціації та адгезії цілого ряду клітин організму [12].

Фізіологічний процесинг колагену типу XVIII до ендостаніну фактично є локальним механізмом контролю та регуляції процесів ангиогенезу в організмі [17]. На процеси інвазії пухлин здатні впливати й колагени інших типів [9], а також ферменти, що беруть участь в їх обміні [6]. Процес формування та руйнування структур позаклітинного матриксу відіграє провідну роль в інвазії пухлинних клітин [6].

Виявлення всіх аспектів взаємодії колагенових білків позаклітинного матриксу та пух-

линних клітин дозволяє розробити нову концепцію терапії для зниження інвазії пухлинних клітин. Проте слід враховувати, що позаклітинний матрикс, зокрема глікопротеїди в комплексі з колагеновими структурами, не тільки впливає на неопластичні процеси на всіх їх етапах, але й здатний безпосередньо модифікувати ефекти засобів хіміотерапії, які використовують в лікарській терапії пухлин [5, 11].

Зараз в хіміотерапії різних пухлин часто застосовують широкий спектр протипухлинних антибіотиків, що різною мірою взаємодіють з колагеновими структурами.

Під час використання доксорубіцину (адриаміцину) в комбінованій хіміотерапії за схемою FAM (5-фторурацил, адриаміцин, мітоміцин С) при дифузних кісткових метастазах вдалося досягти корекції неопластичних змін позаклітинного матриксу кісткової тканини [16]. Доксорубіцин вивчався нами і на моделі лімфосаркоми Плісса [3]. У щурів з експериментальною перевагою пухлиною лімфосаркоми Плісса в процесі росту пухлини спостерігалось накопичення сполучнотканинних волокон з інтенсифікацією формування надмолекулярних комплексів. Слід зазначити, що такі зміни, очевидно, є загальними для цілого ряду пухлин – вони відзначалися нами при вивченні якісного складу колагену на моделі карциноми Герена і гострого лейкозу Аkr-50 [1, 4]. Застосування адриабластину на вищезазначеній моделі приводило до гальмування росту пухлин в наших експериментах [16] (у дозах 2,2; 1,4 і 1,1 мг/кг, відповідно, 84,0; 75,0 і 43,0 %), не пригнічуючи при цьому накопичення сполучнотканинних білків.

У результаті вивчення нами ефекту актиноміцину D на колаген типу I шкіри щурів була показана здатність цього протипухлинного препарату викликати не лише кількісні, але і

якісні зміни в амінокислотному складі даного білка [2]. При внутрішньоочеревинному введенні тваринам актиноміцину D в дозі 2 мг/кг маси тіла подальше вивчення кислоторозчинного колагену і колагену типу I показало, що в амінокислотному складі кислоторозчинних колаген-глікопротеїнових комплексів зі шкіри щурів спостерігались вірогідні зміни вмісту 7 амінокислот: знижувався вміст аргініну, аспарагінової кислоти, валіну і зростав – треоніну, серину, тирозину і гідроксипроліну.

В амінокислотному складі колагену типу I вірогідні зміни було відмічено щодо 5 амінокислот: знижувалась кількість серину та аланіну, зростала – аспарагінової кислоти, проліну і гідроксипроліну. Такі зміни в амінокислотному складі колагену можуть позначитися на формі самої колагенової спіралі й поверхневому заряді молекул [13].

Паралельно з амінокислотним складом в наших експериментах реагував на дію актиноміцину D і вміст вуглеводного компонента як в кислоторозчинних колаген-глікопротеїнових комплексах зі шкіри щурів, так і в чистих препаратах колагену типу I [2]: вміст гексоз в обох випадках помітно зростав порівняно з нормою. Відмічені зміни, очевидно, зумовлені здатністю актиноміцину D спричиняти вплив на процеси біосинтезу білків як на рівні геному, так і на посттрансляційному рівні [8].

Таким чином, високомолекулярні складові позаклітинного матриксу і в нервовій, і в сполучній тканині здатні серйозно модифікувати ефекти протипухлинних антибіотиків, як знижуючи, так і підвищуючи їх дію на ріст пухлин і на організм в цілому. У свою чергу, різні протипухлинні антибіотики регулюють якісний склад і кількісні показники метаболізму сполучнотканинних білків у даних клітинах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондаренко Л.Б., Гайдай Г.Л. Вплив білка раціону на колагени шкіри щурів, уражених карциномою Герена // Наукові вісті. – 2004. – № 1. – С.118-122.
2. Бондаренко Л.Б., Данилюк Т.П. Якісні зміни у колагенах шкіри щурів при дії актиноміцину D // Четверті Каршинські читання. – Полтава, 1997. – С. 34-36.
3. Танина С.С. Комбинированное действие веществ с противоопухольевой активностью при опухолях головного мозга: Диссертация на соискание ученой степени канд. мед. наук. – К., 1992. – 352 с.

4. Bondarenko L.B., Pechenova T.N., Volodina T.T. Biological consequences of low doses irradiation in animal and human organisms // Abs. IX Int. Workshop on Radiation Damage to DNA, May 13-17, 2006, Tekirova, Antalya, Turkey. – P. 31.
5. Furukawa T., Kubota T., Hoffman R.M. Clinical applications of the histoculture drug response assay // Clin. Cancer Res. – 1995. – 1, № 3. – P. 305-311.
6. Ishii K., Usui S., Sugimora Y. et al. Aminopeptidase N regulated by zinc in human prostate participates in tumor cell invasion // Int. J. Cancer. – 2001. – 92, № 1. –P. 49-54.

7. Johnson L.K., Lan N.C., Baxter J.D. Stimulation and inhibition of cellular functions by glucocorticoids. Correlations with rapid influences on chromatin structure // J. Biol Chem. – 1979. – **254** (16). – P. 7785-7794.

8. Koba M., Konopa J. Actinomycin D and its mechanisms of action // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2005. – № 59. – P. 290-298.

9. Marian B., Danner M.W. Skin tumor promotion is associated with increased type V collagen content in the dermis // Carcinogenesis. – 1987. – **8**, №1. – P. 151-154.

10. Ortial S., Durand G., Poeggeler B. et al. Fluorinated amphiphilic amino acid derivatives as antioxidant carriers: a new class of protective agents // J. Med. Chem. – 2006. – **49** (9). – P. 2812-2820.

11. Plum S.M., Hanson A.D., Volker K.M. et al. Synergistic activity of recombinant human endostatin in combination with adriamycin: analysis of in vitro activity on endothelial cells and in vivo tumor progression in an orthotopic murine mammary carcinoma model // Clin. Cancer Res. – 2003. – **9**, № 12. – P. 4619-4626.

12. Pfeilschifter J., D'Souza S.M., Mundy G.R. Effects of transforming growth factor-beta on osteoblastic

osteosarcoma cells // Endocrinology. – 1987. – **121**, № 1. – P. 212-218.

13. Ramachandran G.N. Biochemistry of collagen. – New York, London: Plenum Press, 1976. – 536 p.

14. Stokke T., Holte H., Smeland E.B. et al. Differential chromatin structure-dependent binding of 7-aminoactinomycin D in normal and malignant bone marrow hematopoietic cells // Cancer Res. – 1992. – **52** (18). – P. 5007-5012.

15. Young D.M., Fioravanti J.L., Olson H.M. et al. Chemical and morphologic alterations of rabbit bone induced by adriamycin // Calcif. Tissue Res. – 1975. – **18** (1). – P. 47-63.

16. Yumoto Y., Okuda T., Kato Y. et al. A cancer of unknown primary site with diffuse metastasis to the bone marrow treated effectively with FAM combination chemotherapy // Gan To Kagaku Ryoho. – 1988. – № **15** (5). – P.1783-1786.

17. Zatterstrom U.K., Fukai N., Olsen B.R. A fragment of collagen XVIII inhibits angiogenesis // Tidsskr. Nor. Laegeforen. – 2000. – **120**, № 29. – P. 3547-3550.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АНТИБИОТИКИ – БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Л.Б. Бондаренко, С.С. Танина, Т.А. Карацуба, Г.Л. Гайдай
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Работа посвящена биохимическим последствиям применения противоопухолевых антибиотиков в нервной и соединительной тканях. Высокомолекулярные составляющие структуры внеклеточного матрикса в нервной и соединительной тканях способны серьезно модифицировать эффекты противоопухолевых антибиотиков, как снижая, так и повышая их влияние на опухолевый рост и организм в целом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: противоопухолевые антибиотики, коллаген, нервная ткань.

ANTITUMOR ANTIBIOTICS – BIOCHEMICAL CONSEQUENCES OF APPLICATION

L.B. Bondarenko, S.S. Tanina, T.A. Karatsuba, H.L. Hayday
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

Study is dedicated to the problems of biochemical consequences of antitumor antibiotics application in nerve and connective tissues. High-molecular structures of extracellular matrix of nerve and connective tissues are able to modify seriously antitumor antibiotics effects via decreasing and increasing their influence on tumor growth and organism at whole.

KEY WORDS: antitumor antibiotics, collagen, nerve tissue.

Отримано 14.09.2009 р.

Адреса для листування: Л.Б. Бондаренко, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03680, Україна.

І ааè:íà öïì ÿ – ò.11, ¹ 3, 2009

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ У КОРЕКЦІЇ ОПІКІВ НА ТЛІ ПОЛІТРАВМИ

С.Р. Підручна, І.С. Кулянда, О.І. Острівка, У.М. Захарчук, С.О. Ястремська, М.І. Куліцька, О.М. Сопель, Г.Г. Шершун

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В оглядовій статті доведено доцільність використання ксенодермотрансплантатів для лікування опіків на тлі політравматичного ураження. Застосування ксеношкіри при термічних опіках позитивно впливає на структурний і функціональний стан внутрішніх органів. Вивчено механізми ураження печінки, серця, нирок при комплексній політравмі на тлі опіків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма, опік, поліорганна недостатність, ліофілізовані ксенодермотрансплантати.

Вивчення проблеми комбінованого політравматичного ураження на тлі механічної, холодової та термічної травм зумовлене значним зростанням травматизму внаслідок екстремальних ситуацій на виробництві, транспорті, під час воєнних дій та стихійного лиха [7, 8]. З огляду на відому актуальність проблеми опікової травми, є тенденція до наростання у вигляді побутової і виробничої травм, а пошук шляхів корекції наслідків їх впливу на організм залишається в центрі уваги сучасної експериментальної і клінічної медицини. Так, за даними ряду дослідників, головною причиною летальності серед людей молодого віку (до 45 років) є політравма, а питома вага опіків, за даними ВООЗ, складає від 5,6 до 10 % і займає 3-тє місце в структурі загального травматизму [1]. У людей молодого і середнього віку травма серед причин летальності й у цілому наближається до онкопатології. За умов зростання соціальної незахищеності населення в Україні щорічно відмічають сотні випадків обморожень, які нерідко закінчуються летально [1]. У ході багаторічних досліджень встановлено, що серед факторів летальності при політравматичному ураженні головну роль відіграють метаболічні порушення, які зумовлюють поліорганну недостатність [4].

З огляду на актуальність проблеми лікування при поліорганній недостатності, питан-

ня пошуку шляхів корекції порушених функцій набуває особливого значення. Серед останніх дедалі ширше використовують перспективні медичні технології, зокрема ті, в основі яких лежить застосування консервованих трансплантатів [5, 10-12]. З наведених позицій на особливу увагу заслуговує доведений в останні роки протекторний вплив на печінку ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. Так, у роботах школи професора В.В. Бігуняка чітко показана висока ефективність консервованих ксенодермотрансплантатів при опіках, трофічних виразках і механічних дефектах шкіри [2]. При цьому важливим у методологічному відношенні є те, що ксенодермопластику застосовують для лікування не лише термічної травми, а й ран іншого походження, зокрема трофічних виразок, обморожень та ін. [9]. Таким чином, враховуючи механізми пошкоджуючої дії низьких температур та явища токсемії, що виникають при цьому, слід зробити висновки про те, що поліорганна недостатність реалізується на рівні всього організму системними порушеннями, зокрема на рівні печінки, серця, нирок, оскільки саме вони забезпечують існування високоорганізованого багатоклітинного організму як цілого. Усе це свідчить про необхідність глибокого дослідження морфофункціональних змін серцево-судинної, ниркової та гепатобілярної систем після впливу на шкіру локальних опіків, обморожень, механічного ураження та розробки принципово нових підходів до системної корекції па-

© С.Р. Підручна, І.С. Кулянда, О.І. Острівка, У.М. Захарчук, С.О. Ястремська, М.І. Куліцька, О.М. Сопель, Г.Г. Шершун, 2009.

тологічних змін на рівні провідних функціональних систем, у тому числі з використанням ксенодермопластики як багатогранного і високоефективного методу системної корекції патологічних змін в організмі.

При тяжких опіках (ІІІА ст.) хворим в строк до 2-3 днів проводять поверхневу некректомію і закривають рану ліофілізованими ксенодермотрансплантатами. Це запобігає розвитку опікової хвороби та пов'язаних з нею ускладнень, прискорює одужання, попереджує формування патологічних рубців. Накладені ксенодермотрансплантати щільно прилягають до рани, що супроводжується поліпшенням загального стану хворого, значним зниженням, а в ряді випадків – і повною відсутністю больового синдрому, нормалізацією температури тіла [2-4, 6].

При глибоких опіках (ІІІБ-ІV ст.) використання ранньої некректомії з ксенодермопластикою попереджує прогресуючу інтоксикацію з вогнища ураження і розвиток інфекції в ранах, зменшує больовий синдром, плазмовтрату, створює сприятливі умови для подальшої аутодермопластики [3, 4].

У роботах ряду авторів досліджувався корегувальний вплив ліофілізованих ксенодермотрансплантатів на печінку при опіках ІІІА-Б ступеня в експерименті [2, 5, 6].

Встановлено, що на тлі ранньої некректомії і ксенодермотрансплантації помітно знижується вміст токсичних продуктів у плазмі крові, зменшується ступінь деструктивних змін і судинних розладів печінкових часточок, активізуються регенераторні процеси у всі терміни спостереження порівняно з некорегованими тваринами. Таким чином, застосування ксеноскіри при термічних опіках позитивно впливає на структурний і функціональний стан внутрішніх органів, зокрема печінки. Проте на сьогодні відсутні дані про морфофункціональні зміни у нирках, серці та інших органах на тлі політравматичного ураження в комбінації з опіком, раною тощо. Крім того, вплив гіпер- та гіпотермії при політравматичному ураженні на дистальні органи (серце, нирки, печінку) залишається недостатньо вивченим. Так, на сьогодні практично відсутні дані щодо процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту, показників ендогенної інтоксикації. Не до кінця з'ясовано є імунна система на тлі локальних впливів (опіку, обмороження та механічної травми). Саме тому комплексне вивчення політравматичного ураження на тлі комбінованої травми дозволяє глибше розкрити патогенетичні механізми ураження печінки, серця та нирок, ніж ізольовано кожного з чинників зокрема.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев А.А., Лавров В.А. Острая ожоговая токсемия // Рос. мед. журн. – 1998. – № 2. – С. 41-43.
2. Бігуняк В.В., Демяненко В.В., Бігуняк Н.В. Біологічні і біофізичні властивості ліофілізованої шкіри свині: загальнобіологічні аспекти, проблеми, перспективи // Матеріали ХХ з'їзду хірургів України. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – С. 536-538.
3. Бігуняк В.В., Повстяний М.Ю., Волков К.С. та ін. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів у комбустіології: Методичні рекомендації. – Тернопіль, 2003. – 21 с.
4. Бігуняк В.В., Повстяний М.Ю. Термічні ураження. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 195 с.
5. Бігуняк В.В., Савчин В.С., Лучанко Л.І. та ін. Досвід використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів в комплексному лікуванні як поверхневих, так і глибоких опіків // Шпитальна хірургія. – 1999. – № 4. – С. 104-108.
6. Бігуняк Т., Кирик О., Савчин Н. Ультроструктурні зміни в рані при поверхневих опіках в умовах застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів // Матеріали Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 43.
7. Бойко В.В., Рынченко В.Г., Зайцев А.Е. и др. Политравма: патофизиологические и клинические

аспекты, лечебная тактика и принципы организации помощи больным // Международный медицинский журнал. – 2002. – № 3. – С. 68-74.

8. Гудима А.А., Сван О.Б. Використання лабораторних білих шурів як об'єкту вивчення лікувальних властивостей ліофілізованих ксенодермотрансплантатів // Матеріали підсумкової наук.-практ. конф. "Здобутки клінічної і експериментальної медицини". – Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. – С. 157-158.

9. Сван О.Б., Гудима А.А. Вплив локальної кріодеструкції шкіри на динаміку функціональної активності печінки та її корекція // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2007. – № 3. – С. 108-111.

10. Boody A.R., Wongworawat M.D. Accuracy in the Measurement of Compartment Pressures: A Comparison of Three Commonly Used Devices // J. Bone and Joint Surgery Am. – 2005. – **87**. – P. 2415-2422.

11. Haidukewych G.J. Temporary external fixation for the management of complex intra- and periarticular fractures of the lower extremity // J. Orthop. Trauma. – 2002. – **16** (9). – P. 678-685.

12. Pape H.C., Giannoudis P., Krettek C. The timing of fracture treatment in polytrauma patients: Relevance of damage control orthopedic surgery // Am. J. Surg. – 2002. – **183** (6). – P. 622-629.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ В КОРРЕКЦИИ ОЖОГОВ НА ФОНЕ ПОЛИТРАВМЫ

С.Р. Пидручная, И.С. Кулянда, О.И. Остривка, У.М. Захарчук, С.А. Ястремская,
М.И. Кулицкая, О.Н. Сопель, Г.Г. Шершун

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В обзорной статье доказана целесообразность использования ксенодермотрансплантатов для лечения ожогов на фоне политравматического поражения. Применение ксенокожи при термических ожогах положительно влияет на структурное и функциональное состояние внутренних органов. Изучены механизмы поражения печени, сердца, почек при комплексной политравме на фоне ожогов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма, ожог, полиорганная недостаточность, лиофилизированные ксенодермотрансплантаты.

PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF XENODERMAL TRANSPLANTS APPLICATION IN CORRECTION OF BURNS AGAINST A BACKGROUND OF POLYTRAUMA

S.R. Pidruchna, I.S. Kulyanda, O.I. Ostrivka, U.M. Zakharchuk, S.O. Yastremska,
M.I. Kulitska, O.M. Sopol, H.H. Shershun

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The expediency of xenoderma transplants usage for treatment of burns against a background of polytrauma is proved in this review. Application of xenoderm in thermal burns influences positively on the structural and functional state of internal organs. The mechanisms of injuries of liver, heart and kidneys against a background of complex polytrauma and burns have been studied.

KEY WORDS: polytrauma, burns, polyorganic insufficiency, lyophilized xenodermal transplants.

Отримано 17.09.2009 р.

Адреса для листування: С.Р. Пидручна, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.