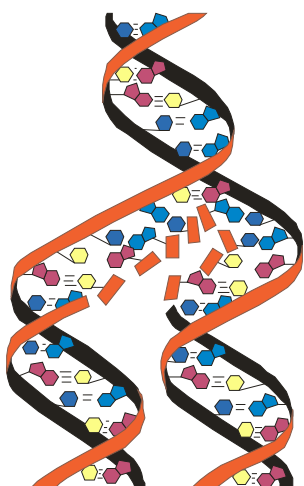


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського"

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*All-Ukrainian Public Scientific Organization
"Ukrainian Academy of Sciences"
SHEI "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University"*

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

1(46) TOM 13
2011

- ✓ *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*

МЕДИЧН ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить щоквартально
Published 4 times per year

Заснований у грудні 1999 року
Founded in December 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647 від 26.01.1999 р.
Certificate of state registration: series KB № 3647 from 26.01.1999

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 ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" (протокол № 8 від 25 січня 2011 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", 2011
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2011

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

<i>Непорада К.С., Слободяник Н.М., Слободяник В.М.</i> (Полтава) МЕХАНІЗМИ СТРЕСПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ НА ПІДШЛУНКОВУ ЗАЛОЗУ ЗАЛЕЖНО ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ	5
<i>Іванова Н.М., Каплун А.П., Швець В.І.</i> (Харків, Москва) ІНГІБУВАННЯ ГЕМОЛІЗУ ПОЛІМЕРАМИ ТА ЛІПОСОМАМИ	9
<i>Резуненко Ю.К.</i> (Харків) ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ МЕТИЛКАРБИТОЛУ ТА МЕТИЛЦЕЛЛОЗОЛВУ З ВИКОРИСТАННЯМ РІЗНИХ ТЕСТ-СИСТЕМ	14
<i>Нечипорук В.М., Корда М.М.</i> (Вінниця, Тернопіль) ОБМІН СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ПРИ ГІПЕРГЛЮКОКОРТИКОЇДЕМІЇ	19
<i>Шамро Н.Р., Панасюк Н.Б., Склярів О.Я.</i> (Рівне, Львів) ВПЛИВ ВІТАМІНУ С НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗ ТА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ЗА УМОВ БЛОКУВАННЯ ЦОГ-2, iNOS АБО ВВЕДЕННЯ L-АРГІНІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УЛЬЦЕРОГЕННОМУ КОЛІТИ У ЩУРІВ	25
<i>Качула С.О., Бондар С.А., Качула О.О.</i> (Вінниця) ВПЛИВ ГІПЕРКЕТОНЕМІЇ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КОН'ЮГАЦІЇ КСЕНОБИОТИКІВ ТА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ БРОМБЕНЗОЛУ	31
<i>Король Л.В.</i> (Київ) ВИЗНАЧЕННЯ L-АРГІНІН: ГЛІЦИН АМІДИНОТРАНСФЕРАЗИ ПРИ ДІАБЕТИЧНОМУ УРАЖЕННІ НИРОК	35
<i>Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г.</i> (Ужгород, Тернопіль) ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТУ З НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ХРІНУ ЗВИЧАЙНОГО ЗА УМОВ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ	39
<i>Петров С.А., Устянська О.В.</i> (Одеса) РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТАМИ АКТИВНОСТІ ДЕЯКИХ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ	44
<i>Сушко Ю.І., Ляхович Р.М., Олійник О.В., Гудима А.А.</i> (Тернопіль) ПОВТОРНЕ ОКСИДАНТНЕ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ПАНКРЕОНЕКРОЗІ У ЩУРІВ	48
<i>Бойчук Т.І.</i> (Чернівці) ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ ОКРЕМИХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ СТАРИХ ЩУРІВ НА ДВОБІЧНУ КАРОТИДНУ ІШЕМІЮ- РЕПЕРFUЗІЮ ЗА ПАРАМЕТРАМИ ПРОТЕО- ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ	53
<i>Підручна С.Р., Василюшин Н.А., Кулянда О.О., Кулянда І.С.</i> (Тернопіль) КОРИГУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ КСЕНОДЕРМОПЛАСТИКИ НА ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ТЯЖКІЙ ТРАВМІ	58
<i>Кленіна І.А., Горіла М.В., Полішко Т.М., Штеменко Н.І.</i> (Дніпропетровськ) ВПЛИВ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ ТА ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ- ПЛАТИНА НА БІЛКИ ПЛАЗМИ КРОВІ	63
<i>Григор'єва Г.С., Канахович Н.Ф., Шаповалов С.О., Долгая М.М., Узленкова Н.Є.</i> (Київ, Харків) КОРЕКЦІЯ ШТУЧНОЇ БЕНЗОЛЬНОЇ ГІПОПЛАСТИЧНОЇ АНЕМІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КОМПЛЕКСНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТНИХ КОМПОЗИЦІЙ	69

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

<i>Neporada K.S., Slobodanyk N.M., Slobodanyk V.M.</i> (Poltava) MECHANISMS OF STRESS-PROTECTIVE MELANIN ACTION ON PANCREAS IN DEPENDENCE OF ORGANISM STRESS-RESISTANCE	5
<i>Ivanova N.M., Kaplun A.P., Shvets V.I.</i> (Kharkiv, Moskva) INHIBITION OF HAEMOLYSIS USING LIPOSOMES AND POLYMERS	9
<i>Rezunenکو Yu.K.</i> (Kharkiv) EVALUATION OF METHYLCARBITOL AND METHYLCELLOSOLVE TOXICITY WITH USAGE OF DIFFERENT TEST SYSTEMS	14
<i>Nechyporuk V.M., Korda M.M.</i> (Vinnytsia, Ternopil) METABOLISM OF SULFUR CONTAINING AMINO ACIDS AND HYDROGEN SULFIDE FORMATION IN HYPERGLUCOCORTICOIDEMIA	19
<i>Shamro N.R., Panasiuk N.B., Skliarov O.Ya.</i> (Rivne, Lviv) EFFECT OF VITAMIN C ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTASES AND PROCESSES OF LIPOPEROXIDATION UNDER CONDITIONS OF COX-2 AND iNOS BLOCKAGE OR INJECTION OF L-ARGININE IN EXPERIMENTAL ULCEROGENIC COLITIS IN RATS	25
<i>Kachula S.O., Bondar S.A., Kachula O.O.</i> (Vinnytsia) EFFECT OF HYPERKETONEMIA ON THE ACTIVITY OF ENZYMES CONJUGATION OF XENOBIOTICS AND BROMBENZENE HEPATOTOXICITY	31
<i>Korol L.V.</i> (Kyiv) THE DETERMINATION OF L-ARGININE: GLICINE AMIDINETRANSFERASE OF DIABETIC INJURY OF KIDNEYS	35
<i>Vashkeba Ye.M., Fira L.S., Lykhatskyi P.H.</i> (Uzhhorod, Ternopil) THE USING OF EXTRACT FROM THE AERIAL PART OF HORSERADISH USUAL UNDER CONDITIONS OF PARACETAMOL HEPATITIS	39
<i>Petrov S.A., Ustianska O.V.</i> (Odessa) REGULATION BY THIAMINE AND ITS METABOLITES ACTIVITIES OF SOME PROTEOLYTIC ENZYMES	44
<i>Sushko Yu.I., Liahovych R.M., Oliynyk O.V., Hudyma A.A.</i> (Ternopil) REPEATED OXIDANT LIVER DAMAGE AT EXPERIMENTAL HEPATITIS AND PANCREONECROSIS IN RATS	48
<i>Boychuk T.I.</i> (Chernivtsi) PECULIARITIES OF SOME BRAIN STRUCTURE REACTION OF OLD RATS ON BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION BY THE PARAMETERS OF FIBRINOLYTIC AND PROTEOLITIC ACTIVITY	53
<i>Pidruchna S.R., Vasylyshyn N.A., Kulianda O.O., Kulianda I.S.</i> (Ternopil) CORRECT EFFECT OF XENODERMOPLASTIC ON INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CASE OF SEVERE TRAUMA	58
<i>Klenina I.A., Horila M.V., Polishko T.M., Shtemenko N.I.</i> (Dnipropetrovsk) INFLUENCE OF CLUSTER RHENIUM COMPOUNDS AND RHENIUM-PLATINUM ANTITUMOR SYSTEM ON BLOOD PLASMA PROTEINSH	63
<i>Hryhoryeva H.S., Kanakhovych N.F., Shapovalov S.O., Dolhaya M.M., Uzlenkova N.Ye.</i> (Kyiv, Kharkiv) CORRECTION OF ARTIFICIAL BENZOL PLASTIC ANEMIA DURING USING OF COMPLEX TRACE COMPOSITION	69

Лихацький П.Г., Фіра Л.С., Бурмас Н.І., Кернична І.З. (Тернопіль) СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ	74	<i>Lykhatskyi P.H., Fira L.S., Burmas N.I., Kernychna I.Z. (Ternopil) THE STATE OF CELL MEMBRANE OF RATS OF DIFFERENT AGE UNDER CONDITIONS OF AFFECTION BY SODIUM NITRITE</i>
Пида В.П. (Тернопіль) ЗАСТОСУВАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО КОМБІНОВАНОГО ГЕПАТИТУ В ЩУРІВ	78	<i>Pyda V.P. (Ternopil) USAGE OF THE THICK SEA-BUCKTHORN EXTRACT IN THE CONDITIONS OF CHRONIC COMBINED HEPATITIS IN RATS</i>
Українець І.В., Голік М.Ю., Кравченко В.М., Паршиков В.О. (Харків, Сімферополь) АРИЛАЛКІЛАМІДИ 1- <i>R</i> -4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ. СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ	82	<i>Ukrayinets I.V., Holik M.Yu., Kravchenko V.M., Parshykov V.O. (Kharkiv, Simferopol) ARYLALKYLAMIDES OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINO-LINE-3-CARBOXYLIC ACIDS. SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY</i>
Чубка М.Б., Вронська Л.В., Сур С.В., Смалюх О.Г., Кернична І.З. (Тернопіль, Київ, Львів) СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У ПЛОДАХ МОРКВИ ДИКОЇ	88	<i>Chubka M.B., Vronska L.V., Sur S.V., Smaliuh O.H., Kernychna I.Z. (Ternopil, Kyiv, Lviv) SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE GARDEN CARROT (DAUCUS CAROTA L.) SEEDS</i>
Рогачов І.О., Гладисhev В.В., Бурлака Б.С., Кечин І.Л. (Запоріжжя) БІОФАРМАЦЕВТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ІНТРАНАЗАЛЬНОЇ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ НІМОДИПІНУ	95	<i>Rohachov I.O., Hladyshev V.V., Burlaka B.S., Kechyn I.L. (Zaporizhzhya) BIOPHARMACEUTICAL SUBSTANTIATION OF COMPOSITION OF INTRANAZALIS SOFT MEDICINAL FORM OF NIMODIPIN</i>
Чорна М.В., Криницька І.Я., Бекус І.Р. (Тернопіль) ТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ КОБАЛЬТУ ХЛОРИДУ НА ШВИДКІСТЬ УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ БІЛИХ ЩУРІВ	100	<i>Chorna M.V., Krynytska I.Ya., Bekus I.R. (Ternopil) TOXIC EFFECT OF COBALT CHLORIDE ON THE RATE OF OXYGEN ACTIVE FORMS FORMATION AND LIPID PEROXIDATION IN WHITE RATS</i>
Ткаченко М.Ф., Ковальов В.М., Кононенко А.Г. (Харків) ВИВЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЛИСТКІВ ЕНДОСПЕРМАЛЬНОГО МУТАНТА КУКУРУДЗИ SUGARY-1	104	<i>Tkachenko M.F., Kovaliov V.M., Kononenko A.H. (Kharkiv) STUDY OF FLAVONS GLYCOSIDES LEAVES OF ENDOSPERMAL MUTANT OF CORN SUGARY-1</i>
Баєв О.О., Марчишин С.М. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ У ТРАВІ НАСТУРЦІЇ ВЕЛИКОЇ (TROPAEOLUM MAJUS L.)	108	<i>Bayev A.A., Marchyshyn S.M. (Ternopil) ANALYSIS OF THE VOLATILE OIL CONTENT IN GARDEN NASTURTIUM HERB (TROPAEOLUM MAJUS L.)</i>
Бандрівський Ю.Л. (Тернопіль) ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОТОВОЇ РІДИНИ У ПРАЦІВНИЦЬ КОНДИТЕРСЬКОГО ВИРОБНИЦТВА	111	<i>Bandrivskyi Yu.L. (Ternopil) PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF MOUTH LIQUID IN THE WORKWOMEN OF PASTRY PRODUCTION</i>
Ганьбергер І.І. (Тернопіль) КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ	115	<i>Hanberber I.I. (Ternopil) CLINICAL PECULIARITIES OF OSTEOARTHRITIS AND CONNECTIVE TISSUE METABOLISM INDICES IN PATIENTS WITH CHRONIC TOXIC HEPATITIS</i>
Березняков А.В., Попов С.Б. (Харків) ЕФЕКТИВНІСТЬ МАЗІ "ГЛІТАЦИД" НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ СКІПІДАРНОГО ДЕРМАТИТУ В ЩУРІВ	118	<i>Berezniakov A.V., Popov S.B. (Kharkiv) EFFICIENCY OF OINTMENT "HLITACID" ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF TURPINTINE-INDUCED DERMATITIS IN RATS</i>
Волобуєва О.В. (Харків) СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ГОМОГЕНАТІ ТКАНИН ПРИВУШНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ГОСТРОМУ СІАЛАДЕНІТІ	121	<i>Volobuyeva O.V. (Kharkiv) STATUS OF LIPID PEROXIDATION TISSUE HOMOGENATE OF PAROTID GLAND IN ACUTE SIALADENITIS</i>
Амброзіук О.Б., Марчишин С.М. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ ТРАВИ ПЕРСТАЧУ ГУСЯЧОГО (POTENTILLA ANSERINA L.)	123	<i>Ambroziuk O.B., Marchyshyn S.M. (Ternopil) RESEARCH OF POLYSACCHARIDE COMPLEX GRASS OF SILVERWEED CINGUEFOIL (POTENTILLA ANSERINA L.)</i>
Авдєєв О.В., Бойків А.Б. (Тернопіль) СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН ІЗ ЗАПАЛЕННЯМ У ПАРОДОНТІ ЗА ЗМІНЕНОЇ РЕАКТИВНОСТІ	126	<i>Avdieyev O.V., Boykiv A.B. (Ternopil) STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN ANIMALS WITH INFLAMMATION IN A PERIODONTITIS AT THE CHANGED REACTIVITY</i>

К.С. Непорада, Н.М. Слободяник, В.М. Слободяник
УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

МЕХАНІЗМИ СТРЕСПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ НА ПІДШЛУНКОВУ ЗАЛОЗУ ЗАЛЕЖНО ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ

В експериментах на щурах-самцях лінії Вістар доведено, що ступінь розвитку патологічних змін у підшлунковій залозі за умов гострого стресу залежить від індивідуально-типологічних особливостей тварин. Встановлено, що меланін проявляє стреспротекторну дію на підшлункову залозу, а саме попереджує розвиток цитолітичного синдрому, ендогенної токсемії та нормалізує стан NO-ергічної системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксидативний стрес, стресостійкість, оксид азоту, меланін.

ВСТУП. Сучасне суспільство характеризується зростанням розповсюдженості “хвороб цивілізації”, в патогенезі яких ключову роль відіграє емоційний стрес [3]. При цьому хронічні негативні впливи на організм людини за умов техногенного пресингу, соціальної нестабільності, напруженого ритму життя можуть бути основними етіологічними факторами розвитку захворювань, зокрема органів системи травлення. За останні 30 років у світі вдвічі збільшилась кількість хворих на хронічний панкреатит, а первинна інвалідизація складає 15 % [9]. Захворюваність на хронічний панкреатит в Україні становить 3–9 випадків на 100 тисяч населення і продовжує зростати [2]. За умов хронічного стресу знижуються резервні можливості організму, здатність до адаптації і підтримання гомеостазу відбувається завдяки напруженню регуляторних систем. Усе це сприяє пошуку адаптогенів природного походження як стреспротекторних препаратів. Серед них особлива увага приділяється поліфенольним сполукам, які мають багато властивостей. До поліфенольних сполук відносять меланіни різноманітного походження. Меланіни – це полімери фенольних сполук, колір і захисні функції яких зумовлені багато в чому наявністю неспарених електронів. Раніше проведені дослідження переконливо підтвердили протекторні властивості меланіну, отриманого з чорнильних сумок морських тварин *Ommastrephes batrami* Lesuel [13], березового гриба чаги [10], винограду [8], чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* var. *hesuelica* [6]. Меланіни володіють радіо- і фотопротекторними, протипухлинними, імуномодулюючими, нейролептичними, гепатопротекторними, антиоксидантними властивостями.

© К.С. Непорада, Н.М. Слободяник, В.М. Слободяник, 2011.

Метою даної роботи було вивчення впливу меланіну на підшлункову залозу тварин за умов гострого стресу залежно від індивідуально-типологічних особливостей організму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 83 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г з дотриманням біоетичних норм відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом фіксації тварин на спині протягом 3 год [7]. Стресостійкість щурів визначали за допомогою нейроестіологічного тесту “Відкрите поле”, аналізуючи перемінні та поділяючи тварин на групи (табл. 1). Тест проводили протягом 6 хв, враховуючи такі перемінні: латентний період першого переміщення, час у центрі майданчика, кількість пересічених квадратів, кількість вертикальних стійок, кількість виходів у центр майданчика, кількість вмивань та кількість болюсів. До стресостійких відносили тварин, в яких були висока швидкість адаптації, низькі показники дослідницько-рухової активності й вегетативного балансу. До стресонестійких належали щури з низькою швидкістю адаптації, високими показниками дослідницько-рухової активності й вегетативного балансу [5]. Забій тварин здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Об'єктами досліджень були підшлункова залоза і кров тварин, в яких визначали вміст молекул середньої маси [1], активність α -амілази (КФ: 3.2.1.1) (набір “ α – Амілаза”, “Філісіт – Діагностика”, Україна), ліпази (КФ: 3.1.1.3) [4], NO-синтази (КФ: 1.14.13.39) [12], вміст нітрид-аніона [12]. За 30 хв до моделювання гострого стресу щурам інтрагастрально через зонд вводили меланін у дозі 5 мг/кг. Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики.

Таблиця 1 – Поділ тварин на групи з використанням нейроетологічного тесту “Відкрите поле” (M±m)

Група тварин	Перемінна						
	рухова активність та дослідницька поведінка			швидкість адаптації		показник вегетативного балансу	
	кількість виходів у центр майданчика	горизонтальна активність (кількість квадратів)	кількість стійок (rearing)	час у центрі майданчика, с	латентний період першого переміщення, с	кількість вмивань (grooming)	кількість болюсів
Стресостійкі (n=22)	0,64±0,16	99,73±6,65	12,86±1,53	0,82±0,08	0,51±0,03	1,93±0,46	0,27±0,19
Помірно стійкі (n=39)	0,69±0,19	121,95±8,12	13,49±1,13	3,13±0,52	0,59±0,03	2,08±0,41	2,33±0,31
Стресонестійкі (n=22)	1,00±0,22	144,50±8,01	18,32±1,63	2,77±0,61	0,70±0,11	4,05±0,81	5,23±0,48
P ₁₋₃	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
P ₁₋₂	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05
P ₂₋₃	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Примітка. У цій та інших таблицях: n – кількість тварин.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для оцінки цитолітичного синдрому підшлункової залози використовували індикаторні ферменти, до яких відносять ліпазу та амілазу. Нами встановлено, що за умов гострого стресу активність ліпази й амілази достовірно зростає у підшлунковій залозі стресонестійких тварин порівняно

з контролем (табл. 2, 3). Попереднє введення меланіну до моделювання гострого стресу попереджувало цитоліз клітин підшлункової залози, про що свідчило вірогідне зниження активності ліпази та амілази у тварин дослідних груп порівняно зі щурами, які до стрес-синдрому не отримували корекції (табл. 2, 3).

Таблиця 2 – Активність ліпази в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/хв·г (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	13,11±3,79 (n=7)	4,05±1,51 (n=6)
Гострий стрес	14,86±6,19 (n=8)	22,75±8,09* (n=6)
Меланін+гострий стрес	9,18±7,54 (n=5)	1,65±0,63** (n=5)
Меланін	9,55±2,50 (n=6)	7,52±2,05 (n=6)

Примітка. У цій і таблицях 3, 4, 6: * – P₁₋₂<0,05; ** – P₂₋₃<0,05.

Таблиця 3 – Активність α-амілази в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, г/год·г (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	21,48±0,09 (n=6)	20,7±0,24 (n=8)
Гострий стрес	21,53±0,25 (n=5)	21,88±0,35* (n=5)
Меланін+гострий стрес	20,65±0,14** (n=5)	19,84±0,44** (n=7)
Меланін	19,04±0,49 (n=6)	18,50±0,71 (n=6)

Таким чином, меланін є ефективним стрес-протекторним препаратом, про що свідчить достовірне зменшення в підшлунковій залозі активності індикаторних ферментів при гострому стресі.

Універсальним показником, що відображає ступінь ендогенної інтоксикації, є молекули середньої маси [1]. Нами встановлено, що при гострому стресі в сироватці крові стресонестійких тварин вірогідно в 1,52 раза збільшився вміст молекул середньої маси порівняно з

відповідним контролем. Введення меланіну за 30 хв до моделювання гострого стресу сприяло достовірному зниженню вмісту молекул середньої маси у сироватці крові стресостійких тварин та в 1,52 раза у стресонестійких щурів порівняно з контролем без корекції (табл. 4).

Таким чином, меланін попереджує розвиток ендогенної інтоксикації за умов стрес-синдрому, про що свідчить достовірне зниження вмісту в крові молекул середньої маси.

Таблиця 4 – Вміст середніх молекул у сироватці крові щурів з різною стресостійкістю, ум. од. (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	0,19±0,02 (n=7)	0,21±0,01 (n=8)
Гострий стрес	0,20±0,01 (n=7)	0,32±0,05* (n=7)
Меланін+гострий стрес	0,075±0,06**(n=3)	0,21±0,09 (n=3)

Останнім часом дослідники приділяють багато уваги NO-ергічній системі, що виконує різноманітні функції і дисбаланс якої відіграє ключову роль у розвитку багатьох захворювань. Доведено, що одним із механізмів захисної дії меланіну на слизову оболонку шлунка при стресі є збільшення експресії ендотеліальної NO-синтази і збільшення продукції оксиду азоту – вазодилатора, що нормалізує кровопостачання за умов вазоконстрикторної дії стрес-синдрому [11].

Оксид азоту синтезується декількома ізоформами NO-синтаз, серед яких виділяють конститутивні та індукційні. Конститутивні ізоформи – нейрональна та ендотеліальна NO-

синтази – експресуються постійно, а індукційна NO-синтаза експресується за умов дії регуляторних факторів, важливими з яких є прозапальні цитокіни, компоненти бактеріальних мембран. Багато дослідників довело збільшення продукції оксиду азоту, який сприяє розвитку патологічних змін саме за рахунок експресії індукційної NO-синтази, тоді як роль конститутивних форм – протекторна.

Нами встановлено, що за умов гострого стресу в підшлунковій залозі виникав дисбаланс NO-ергічної системи, про що свідчило зниження рівня нітрит-аніона, яке сприяло активації вазоконстрикторних впливів і порушенню кровопостачання (табл. 5, 6).

Таблиця 5 – Активність NOS у підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/г·хв (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	3,35±0,92 (n=7)	4,69±2,62 (n=7)
Гострий стрес	5,05±0,78 (n=6)	3,58±1,17 (n=8)
Меланін+гострий стрес	1,32±0,41* (n=5)	1,69±0,43 (n=7)
Меланін	1,19±0,61 (n=6)	0,75±0,32 (n=6)

Примітка. * – $P_{2-3} < 0,05$.

Таблиця 6 – Вміст нітрит-аніона в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/г (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	8,01±1,74 (n=8)	6,87±0,64 (n=7)
Гострий стрес	6,07±0,89 (n=8)	5,01±0,54* (n=5)
Меланін+гострий стрес	6,73±0,59 (n=5)	8,30±1,11** (n=7)
Меланін	4,33±0,71 (n=6)	6,12±1,95 (n=6)

Попереднє введення меланіну до розвитку гострого стресу сприяло вірогідному збільшенню вмісту нітрит-аніона в підшлунковій залозі стресонестійких тварин порівняно зі щурами, яким моделювали гострий стрес без корекції (табл. 6).

Таким чином, меланін сприяє нормалізації NO-ергічної системи підшлункової залози при гострому стресі, збільшуючи рівень нітрит-аніона – кінцевого продукту оксиду азоту, що володіє судинорозширювальними властивостями.

ВИСНОВКИ. 1. Ступінь розвитку стресіндукованих ушкоджень підшлункової залози

щурів залежить від індивідуально-типологічних особливостей організму. В стресостійких тварин, порівняно зі стресостійкими, розвиток патологічних змін був максимальним, про що свідчать достовірне збільшення показника ендогенної інтоксикації, розвиток цитолітичного синдрому і гіперферментемії.

2. Меланін проявляє виражену стреспротекторну дію на підшлункову залозу, про що свідчать попередження стресіндукованого цитолітичного синдрому, зниження ендогенної інтоксикації і нормалізація NO-ергічної системи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Габриэлян Н. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липатова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
2. Губергриц Н. Б. Место фамотидина в лечении хронического панкреатита / Н. Б. Губергриц, К. Н. Слесарева // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2. – С. 72–80.
3. Кундиев Ю. И. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ / Ю. И. Кундиев, В. В. Кальниш, А. М. Нагорная // Журн. АМН України. – 2002. – 8, № 2. – С. 335–345.
4. Лабораторные методы исследования в клинике / [Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др.]; под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Майоров О. Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук: спец. 14.00.07 “Нормальная физиология” / О. Ю. Майоров. – М., 1988. – 45 с.
6. Савицкий Я. М. Влияние меланина на секреторную функцию желудка, процессы цитопroteкции та моторику проксимального відділу травної системи: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.03 “Нормальна фізіологія” / Я. М. Савицкий. – 2002. – 20 с.
7. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
8. Фармакологические свойства эномеланиновых пигментов / Ю. Л. Жеребин, Н. А. Бондаренко, С. Ю. Махан [и др.] // Доклады АМН Укр. ССР. – 1984. – № 3. – С. 64–68. – (Серия Б “Геологические, химические и биологические науки”).
9. Філіпов Ю. О. Сучасні уявлення про патогенетичні аспекти хронічного панкреатиту (огляд літератури) / Ю. О. Філіпов, О. О. Крилова // Журн. АМН України. – 2008. – 14, № 4. – С. 651–664.
10. Химические и фармакологические свойства сухого экстракта чаги / Г. Л. Рыжова, С. С. Кравцова, С. А. Матасова [и др.] // Химико-фармац. журн. – 1997. – 31, № 10. – С. 44–47.
11. Чижанська Н. В. Дослідження механізмів антистресової дії меланіну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук.: спец. 03.00.13 “Фізіологія людини і тварин” / Н. В. Чижанська. – К., 2008. – 17 с.
12. Hevel I. M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase / I. M. Hevel // J. Biol. Chem. – 1991. – 266, № 34. – P. 22789–22791.
13. Studies on Biological Activities of Melanin from Marine Animals. IV. Influence of Fr. SM II (Squid melanin) on a High Molecular Glycoprotein (Peak I) Level in Rat Gastric Mucosa, and Properties of Peak I as a Gastric Mucosal Defencive Factor / T. Mimura, K. Maeda, Y. Oda [et al.] // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 1985. – 33, № 5. – P. 2061–2068.

К.С. Непорада, Н.Н. Слободяник, В.М. Слободяник
УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

МЕХАНИЗМЫ СТРЕССПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЛАНИНА НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА

Резюме

В экспериментах на крысах-самцах линии Вистар доказано, что выраженность патологических изменений в поджелудочной железе в условиях острого стресса зависит от индивидуально-типологических особенностей животных. Установлено, что меланин обладает стресспротекторным действием на поджелудочную железу, а именно предупреждает развитие цитолитического синдрома, эндогенной токсемии и нормализует состояние NO-эргической системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **оксидативный стресс, стрессоустойчивость, оксид азота, меланин.**

K.S. Noporada, N.M. Slobodianyuk, V.M. Slobodianyuk
UKRAINIAN MEDICAL DENTAL ACADEMY, POLTAVA

MECHANISMS OF STRESS-PROTECTIVE MELANIN ACTION ON PANCREAS IN DEPENDENCE OF ORGANISM STRESS-RESISTANCE

Summary

In experiments of rats-males of Wistar line it has been proved, that the level of development of pathological changes in pancreas under conditions of acute stress depends on individual typological peculiarities of animals. We have determined, that melanin manifests stress-protective action on pancreas, in particular prevents the development of cytolytic syndrome, endogenous toxemia and normalises the condition of NO-ergic system.

KEY WORDS: **oxidative stress, stress-resistance, nitrogen oxide, melanin.**

Отримано 06.12.10

Адреса для листування: К.С. Непорада, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

ІНГІБУВАННЯ ГЕМОЛІЗУ ПОЛІМЕРАМИ ТА ЛІПОСОМАМИ

Встановлено, що позитивно або негативно заряджені полімери і полімерні наночастки з великою щільністю заряду проявляють високу антигемолітичну активність в інгібуванні імунного гемолізу. Полімерні фосфатидилхолінові везикули мають меншу IC_{50} , ніж інтактні полімери без фосфатидилхоліну.

Негативно заряджені полімерні наночастки проявляли більшу антигемолітичну активність при меншій концентрації, ніж позитивно заряджені, в інгібуванні неспецифічного гемолізу, викликаного дією сурфактантів. Полімери без ліпосом були малоефективними в інгібуванні неспецифічного гемолізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоліз, ліпосоми, полімери, антигемолітична активність.

ВСТУП. Гемоліз відбувається в результаті пошкодження мембрани еритроцитів. Список захворювань, що супроводжуються або викликані гемолізом, великий. До імунних захворювань, спричинених лізисом еритроцитів, належать: 1) гемолітична хвороба немовлят (ГХН), зумовлена імунологічним конфліктом через несумісність крові плода і матері по еритроцитарних антигенах, частіше при несумісності по резус-фактору; 2) пароксизмальна нічна гемоглобінурія. Тяжкі форми ГХН можуть призводити до летального наслідку.

Неспецифічний гемоліз спричиняється дією різних гемолітичних агентів. От неповний перелік захворювань, що супроводжуються або викликані гемолізом:

1. Гострий гемоліз при тропічній малярії.
2. Анаеробні клостридії виділяють ряд екзотоксинів, що спричиняють гемоліз.
3. Гемоліз викликається дією бактеріальних ферментів: гемолізинів – альфа (hemolysin *Staphilococcus aureus*), бета (*Streptococcus agalacta*).
4. Причиною анемії у хворих із хронічною нирковою недостатністю, лікованих гемодіалізом, є гемоліз.
5. Лікарський гемоліз, викликаний дією лік - окиснювачів (амінохіноліни, хінідин, сульфаніламід, нітрофуран, вітамін А, великі дози пеніциліну, цефалоспоринів).

Чи можна запобігти гемолізу або інгібувати його? Відомий білковий препарат (антирезусний імуноглобулін людини) для превентивного лікування вагітних жінок з резус-конфліктом з метою попередження гемолітичної

хвороби новонароджених, але він викликає сильні алергічні реакції, що супроводжуються іноді анафілактичним шоком [2].

Раніше ми показали, що ліпосоми, приготовлені на основі полярних ліпідів, запобігають комплементіндукованому гемолізу [3]. Оскільки зазначені ліпосоми (Лс) мали негативний заряд, припустили, що можна інгібувати гемоліз, використовуючи полімери або полімерні наночастки з негативним зарядом.

Метою даного дослідження було вивчення антигемолітичної активності (АА) різних полімерів, а також негативно і позитивно заряджених полімерних наночасток в імунному комплементзалежному і неспецифічному гемолізі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано: 10 % спиртовий розчин яєчного лецитину, кролячу гемолітичну сироватку, ліофілізований комплемент морської свинки, еритроцити барана (ЗАТ "Біолік", Україна); холестерин, лаурил-сульфат, Dextran, Polyglycine, Poly-L-valine, Polygalacturonic acid, Poly-L-Glutamic acid, Polyadenylic acid, De-N-sulfated Heparin Na-salt, Heparin Na-salt, Poly-L-lysine HBR-salt, Polyethylenimine та Dextran sulfate придбано у фірми "Sigma" (США); Polyacrylic acid і Poly (vinil sulfate, K-salt) – у фірмі "Aldrich" (США).

Одержання ліпосом. Лс було отримано з яєчного лецитину або суміші лецитин+ холестерин (ФХ+Хол) у співвідношенні 80:20 %. Лс одержували методом упарювання ліпідів на вакуумному ротаційному упарювачі (Швейцарія). Далі суміш суспендували у фізіологічному розчині й інтенсивно струшували до повного видалення плівки ліпідів зі стінок колби. Кінцева концентрація ліпідів – 1 мг/мл.

© Н.М. Іванова, А.П. Каплун, В.І. Швець, 2011.

Для одержання Лс використовували ультразвукову баню Branson 2210 (США) і прилад Microfluidizer 110Y (Microfluidics Corp., США). Розмір Лс визначали за допомогою спектрометра лазерного кореляційного розсіювання, змонтованого з He-Ne лазера (632,8 нм; Model 127, Lexel Laser, Inc., США), гоніометра BI-200 SH (Brookhaven Instruments Co., США), цифрового корелятора BI-8000 AT (Brookhaven Instruments Co., США) і циркулятора (Neslab RTE-100, США), при 25 °С. Середній розмір Лс складав 100–180 нм. Потім отриману дисперсію розводили фізіологічним розчином до потрібних концентрацій.

Одержання полімерних наночастинок.

Для отримання полімерних наночастинок використовували яєчний ФХ або суміш ФХ+Хол і полімери у співвідношенні 1:1 полімер:ліпіди, тому що більшість обраних полімерів має гнучку структуру, а для додаткової взаємодії з клітинами необхідна тверда структура. Ми вибрали ФХ, оскільки він найбільш поширений природний полярний ліпід.

До 1 % розчину ФХ або суміші ліпідів додавали 1 % розчин полімерів. Потім одержували Лс, як було зазначено вище. Отриману дисперсію розводили фізіологічним розчином до потрібних концентрацій. Проводили контроль за рН ліпосом, що коректували додаванням 1 % розчинів NaOH або HCl до рН=7-8.

Визначення антигемолітичної активності ліпосом і полімерів в імунному комплементозалежному гемолізі. Для перевірки антигемолітичної активності отриманих зразків в імунному комплементозалежному гемолізі 1 % дисперсії Лс, що містять ліпіди і полімери, додавали до гемолітичної системи, яка складалась з 0,3 % дисперсії еритроцитів барана, антитіл до них (титр 1:1200) і 10 % комплементу морської свинки у рівних обсягах. У контролі (повний гемоліз) додавали замість Лс такий же обсяг фізіологічного розчину. Після інкубування всіх зразків при 37 °С відокремлювали інтактні та зруйновані еритроцити шляхом центрифугування і вимірювали в супернатанті концентрацію гемоглобіну за оптичним поглинанням при 418 нм. AA було обчислено за рівнянням: $AA = ((OD_c - (OD_{ex} - ODL_s + P)) / OD_c) \cdot 100 \%$, де OD_{ex} – оптична щільність в експерименті; OD_c – оптична щільність у контролі; $ODL_s + P$ – оптична щільність Лс із полімерами або оптична щільність полімерів, розведена до концентрації в експерименті.

Визначення антигемолітичної активності ліпосом і полімерів в імунному гемолізі за присутності EDTA. Визначали, як

описано вище, але в рівних обсягах у пробірці було додано 1 mM розчин EDTA.

Методи інгібування гемолізу, викликаного дією сурфактантів. 0,0041 % розчин лаурил-сульфату додавали через 5 хв після інкубування 0,3 % суспензії еритроцитів із 0,02–1 % дисперсіями Лс при 20 °С. Одночасно здійснювали контроль – повний гемоліз еритроцитів: замість Лс додали рівний обсяг фізіологічного розчину. Після одержання повного гемолізу в головному контролі (10 хв) усі зразки центрифугували (3 хв, 3000 об. за хвилину). Супернатант розвели у 8 разів і вимірювали оптичну щільність при 418 нм. Оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі Beckman DU-68 (Швеція).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Інгібування імунного гемолізу полімерами і ліпосомами з полімерами. Результати вивчення антигемолітичної активності полімерів і полімерних наночастинок, отриманих на основі яєчного ФХ і полімерів, наведено на рисунку 1. Тільки полімери і полімерні наночастки зі значними зарядами, як позитивним, так і негативним, проявляли високу антигемолітичну активність (рис. 1, поз. 10–13).

У ході експерименту було встановлено, що Лс із полімерами мають меншу IC_{50} , ніж полімери без Лс. Ми припустили, що взаємодія полімерів з компонентами гемолітичної системи (комплемента, антитіла, еритроцити) може бути специфічною, неспецифічною (електростатичною) або комбінованою. Треба відзначити, що основний внесок в енергію комплементарних взаємодій роблять гідрофобні взаємодії. Заряди, як видно, в основному правильно орієнтують молекули, що взаємодіють.

Механізм взаємодії ліпосом і полімерів з гемолітичними агентами. Ми запропонували, щоб взаємодія негативно заряджених полімерів з білками (комплемента і антитіла) в імунному гемолізі була через Ca^{++} -міст, перевірили AA Лс в імунному комплементозалежному гемолізі за присутності етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA). Відомо, що EDTA зв'язують Ca^{++} у людській сироватці. Ми запропонували: якщо AA негативно заряджених Лс зменшиться за присутності EDTA, а AA позитивно заряджених Лс буде стабільною, то в цьому випадку матимемо взаємодію Лс із білками через Ca^{++} -міст. Розходження між AA Лс без EDTA і за присутності EDTA не виявлено. Тому наша пропозиція щодо взаємодії Лс і полімерів з комплементом і антитілами через Ca^{++} -міст не була підтверджена в експериментах з EDTA.

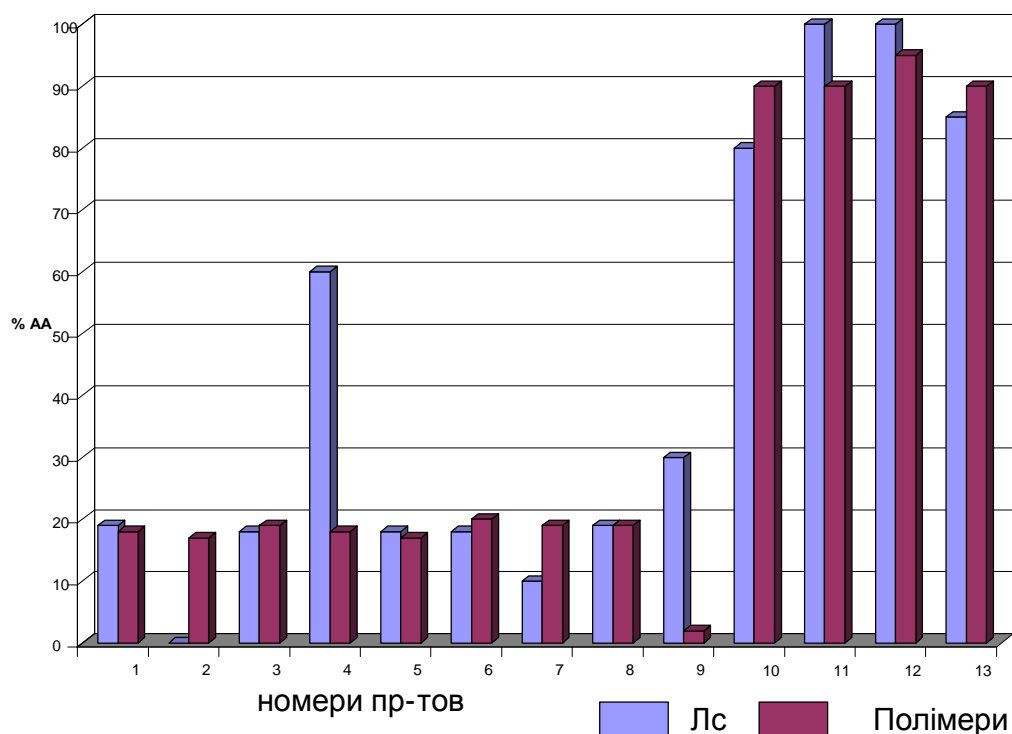


Рис. 1. Антигемолітична активність полімерів та полімерних ліпосом в інгібуванні імунного гемолізу.

Примітка. Незаряджені полімери: 1 – Лс із декстраном та декстран; 2 – Лс із полігліцином та полігліцин; 3 – Лс із поліваліном та полівалін.

Слабозаряджені полімери: 4 – Лс із поліакриловою кислотою та поліакрилова кислота; 5 – Лс із полігалактуроною кислотою та полігалактуронова кислота; 6 – Лс із поліглутаміною кислотою та поліглутамінова кислота; 7 – Лс із поліаденіловою кислотою та поліаденілова кислота; 8 – Лс із сульфатированим гепарином та сульфатирований гепарин; 9 – Лс із гепарину Na-сіллю та гепарину Na-сіль.

Полімери з великою щільністю заряду: 10 – Лс із полілізином та полілізин; 11 – Лс із поліетиленіміном та поліетиленімін; 12 – Лс із сульфатом полівінілу та сульфат полівінілу; 13 – Лс із сульфатом декстрану та сульфатом декстрану.

Після попереднього інкубування полімерних наночасток з компонентами гемолітичної системи встановлено, що негативно заряджені полімерні наночастки взаємодіють з комплементом та інгібують його активність, а позитивно заряджені – взаємодіють з антиеритроцитарними антитілами та інгібують їх активність, тим самим запобігаючи гемолізу.

Інгібування неспецифічного гемолізу. На відміну від імунного гемолізу, неспецифічний викликається низькомолекулярними субстанціями. Для того, щоб перешкоджати такому виду гемолізу, досить знайти субстанцію, що має велику спорідненість до руйнівного агента або до продукції його дії: субстанції, які володіють довгими гідрофобними регіонами (ліпосоми або жирові емульсії, або альбумін) [1]; Fe-іон-комплекс [6]; циклодекстрини, що інгібують гемоліз, викликаний адряміцином [4], хлорпромазин [5]. Через неспецифічну взаємодію інгібування активності руйнівних агентів було невеликим, крім того, була необхідна значна кількість цих субстанцій для запобігання гемолізу.

У даній роботі ми перевірили позитивно і негативно заряджені полімери та полімерні наночастки для запобігання неспецифічному гемолізу, викликаному сурфактантом: лаурилсульфатом.

Для вивчення антигемолітичної активності полімерів у цьому експерименті використовували позитивно і негативно заряджені полімери, що мають значну щільність заряду: поліетиленімін (позитивний заряд) і сульфат декстрану (негативний заряд) (табл.).

Таблиця – Кількість специфічного заряду полімерів

Назва полімеру	Специфічний заряд
Сульфат декстрану	242
Поліетиленімін	43

Результати проведення цього експерименту наведено на рисунку 2. Полімери без Лс мали невелику AA незалежно від їх заряду (рис. 2, лінії 5, 6), полімерні наночастки – значну AA. У цьому випадку, на відміну від імун-

ного гемолізу, мав значення заряд полімерних Лс. Негативно заряджені полімерні Лс на основі ФХ та ФХ+Хол, що містили сульфат декстрану (рис. 2, лінії 2, 4), проявляли вищу (100 %) АА при меншій концентрації, ніж позитивно заряджені Лс, що містили поліетиленімін (рис. 2, лінії 1, 3). IC_{50} Лс із поліетиленіміном – 0,8 мг/мл, із сульфатом декстрану – 0,2 мг/мл. Додавання холестерину до фосфатидилхоліну практично не впливало на активність Лс (рис. 2, лінії 3, 4).

Таким чином, експерименти щодо інгібування неспецифічного гемолізу показали

можливість створення ліпосомального препарату на основі яєчного лецитину і полімерів.

Основний недолік фосфатидилхолінових ліпосом як лікарської форми – відносно невелика стабільність при збереженні. Цього недоліку позбавлені полімерні наночастки, що мають ті ж галузі можливого застосування. Але, на відміну від ліпосом, полімерні наночастки складаються з менш безпечного матеріалу, ніж ліпіди.

Використання полімерних нановезикул для інгібування гемолізу може мати місце при імплантації кардіопротезів.

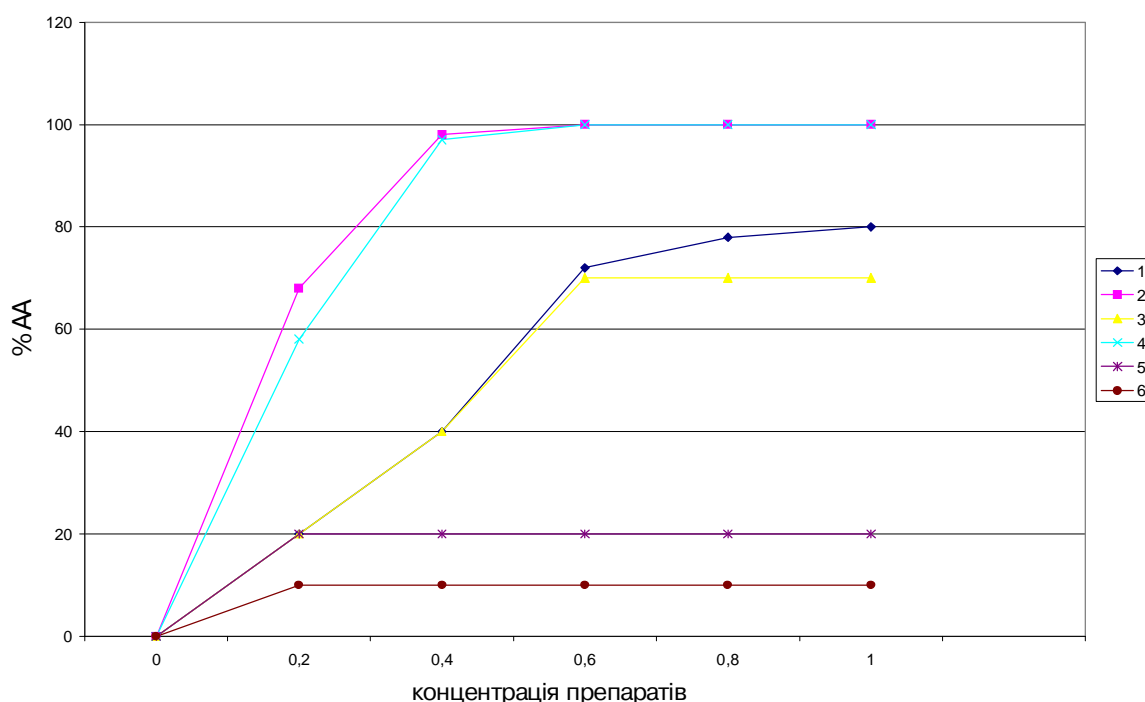


Рис. 2. Антигемолітична активність ліпосом з полімерами і полімерів у неспецифічному гемолізі, викликаному дією лаурил-сульфату.

Примітка. 1 – фосфатидилхолінові Лс із поліетиленіміном; 2 – фосфатидилхолінові Лс із сульфатом декстрану; 3 – фосфатидилхолін-холестеринові Лс із поліетиленіміном; 4 – фосфатидилхолін-холестеринові Лс із сульфатом декстрану; 5 – поліетиленімін; 6 – сульфат декстрану.

ВИСНОВКИ. 1. Полімери і полімерні наночастки зі значними зарядами (позитивним або негативним) проявляли високу антигемолітичну активність в інгібуванні імунного комплементзалежного гемолізу.

2. Полімерні ліпосоми мали меншу IC_{50} , ніж інтактні полімери, при інгібуванні імунного комплементзалежного гемолізу.

3. Полімерні наночастки проявляли високу антигемолітичну активність в інгібуванні неспецифічного гемолізу, викликаного дією детергенту.

4. Негативно заряджені полімерні наночастки проявляли високу антигемолітичну активність при меншій концентрації, ніж позитивно заряджені ліпосоми, в інгібуванні гемолізу, викликаного лаурил-сульфатом.

5. Додавання холестерину до фосфатидилхолінових ліпосом практично не впливало на їх активність.

6. Використання полімерних наночасток для інгібування гемолізу може мати місце при імплантації кардіопротезів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Albumin inhibits hemolysis of erythrocytes induced by ethanolamine oleate during endoscopic injection sclerotherapy / M. Ohta, M. Hashizume, K. Ueno, [et al.] // *Hepatogastroenterology*. – 1993. – **40**. – P. 65–68.
2. Bob van Dijk. Preventing RhD haemolytic disease of the newborn / Bob van Dijk // *BMJ*. – 1997. – **315**. – P. 1480–1481.
3. Hard charged liposomes inhibit complement-induced haemolysis / A. P. Kaplun, N. N. Ivanova, Yu. M. Krasnopolsky [et al.] // *The 24th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials. Proceedings. Stockholm*. – 1997. – P. 757–758.
4. Пат. 5776914 США, МКИ А61К 35/18. Prevention of hemolysis / Weisz, Paul B. Macarak, Edward J. (США). – Оубл. 07.07.98. – НКИ 424/533. – 4 с.
5. Shpakova N. M. Antihemolytic effect of chlorpromazine on erythrocytes in hyperosmotic and cold shock / Shpakova N. M., Pantaler E. R., Bondarenko V. A. // *Biochemistry*. – 1995. – **60**. – P. 1624–1631.
6. Sullivan S. G. Inhibition of hemin-induced hemolysis by desferrioxamine: binding of hemin to red cell membranes and the effects of alteration of membrane sulfhydryl groups / S. G. Sullivan, E. Baysal, A. Stern // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1992. – **1104**, № 1. – P. 38–44.

Н.Н. Иванова¹, А.П. Каплун², В.И. Швець²

ИНСТИТУТ ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ¹, ХАРЬКОВ
МОСКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ТОНКОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА²

ИНГИБИРОВАНИЕ ГЕМОЛИЗА ПОЛИМЕРАМИ И ЛИПОСОМАМИ

Резюме

Установлено, что положительно или отрицательно заряженные полимеры и полимерные нановезикулы с большой плотностью заряда проявляют высокую антигемолитическую активность в ингибировании иммунного гемолиза. Полимерные фосфатидилхолиновые везикулы имеют меньшую IC_{50} , чем интактные полимеры без фосфатидилхолина.

Отрицательно заряженные полимерные нановезикулы проявляли большую антигемолитическую активность при меньшей концентрации, чем положительно заряженные, в ингибировании неспецифического гемолиза, вызванного действием сурфактантов. Полимеры без липосом были малоэффективными в ингибировании неспецифического гемолиза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемолиз, липосомы, полимеры, антигемолитическая активность.

N.M. Ivanova¹, A.P. Kaplun², V.I. Shvets²

INSTITUTE OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY OF UKRAINE¹, KHARKIV
M.V. LOMONOSOV STATE ACADEMY OF FINE CHEMICAL TECHNOLOGY²

INHIBITION OF HAEMOLYSIS USING LIPOSOMES AND POLYMERS

Summary

It was determined that the positive or negative polymers and the polymeric nanoparticles with strong charges show the high antihemolytic activity in the inhibiting of immune hemolysis. The polymeric liposomes from egg phosphatidylcholine had smaller IC_{50} than the polymers without liposomes.

The negatively charged polymeric nanoparticles showed the bigger antihemolytic activity at the smaller concentration, than the positively charged polymeric nanoparticles in the inhibiting of nonspecific hemolysis, caused by detergent's action. The polymers without liposomes were ineffective in the inhibition of nonspecific hemolysis.

KEY WORDS: hemolysis, liposomes, polymers, antihemolytic activity.

Отримано 20.12.10

Адреса для листування: Н.М. Иванова, вул. Танкопия, 7/1, кв. 12, Харків, 61060, Україна.

**ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ МЕТИЛКАРБІТОЛУ ТА МЕТИЛЦЕЛЛОЗОЛЬВУ
З ВИКОРИСТАННЯМ РІЗНИХ ТЕСТ-СИСТЕМ**

У роботі вивчено токсичність метилкарбітолу та метилцеллозольву, що характеризуються великим об'ємом виробництва, широким використанням, надходженням до водних об'єктів довкілля, можливою негативною дією на організм людини. Для теплокровних тварин метилцеллозольв є помірно токсичною речовиною зі значно вираженою кумуляцією, метилкарбітол – малотоксичною зі слабовираженими кумулятивними властивостями. За умов гострого отруєння досліджувані сполуки порушують функції ЦНС, дихання та кровообігу. Культури клітин J₉₂₉ і X-63 більш чутливі до дії речовин, що підтверджується суттєвим порушенням процесу їх розплавлення, зниженням включення ³H-тимідину і ³H-уридину, негативного заряду ядер букального епітелію людини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метилкарбітол, метилцеллозольв, токсичність, кумуляція, теплокровні тварини, клітинні культури.

ВСТУП. Сполуки метилкарбітол (МК) $\text{CH}_3(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OH}$ і метилцеллозольв (МЦ) $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ характеризуються великим об'ємом виробництва, широким застосуванням у різних галузях промисловості й сільськогосподарства як розчинників, абсорбентів, ефективних агентів при екстракції та екстрактивній ректифікації, антикорозійних сполук, а також необхідних компонентів для синтезу полієфірів [9]. Зі стічними водами промислових підприємств ці речовини надходять до водоймищ, у тому числі джерел господарсько-питного та культурно-побутового призначення, і можуть мати несприятливий вплив на умови водокористування та організм людини. Вищезазначене зумовлює актуальність та доцільність всебічного вивчення МК і МЦ з метою обґрунтування та створення наукової основи для розробки еколого-профілактичних заходів із захисту здоров'я населення, факторів довкілля від їх несприятливого впливу [7, 9]. Біологічна та токсикологічна оцінка хімічних речовин, обмеження до безпечних рівнів впливу у виробничому та навколишньому середовищі включає великий діапазон досліджень, серед яких обов'язковим є встановлення летальних ефектів, кумулятивних властивостей, шкірно-подразнювальної, © Ю.К. Резуненко, 2011.

шкірно-резорбтивної, сенсibiliзувальної дій на організм тощо [2]. Експериментальні дослідження такого напрямку проводять, як правило, на теплокровних тваринах, а також деякі з них можуть включати методи, в яких використовують клітини різних культур, штами бактерій, водні мікроорганізми.

Метою даної роботи було визначення параметрів токсичності, кумулятивності, видової чутливості, клінічної картини отруєння за умов перорального надходження МК і МЦ до організму теплокровних тварин та ступеня їх токсичності на тканинній культурі J₉₂₉ і X-63.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано хімічно чисті зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками, синтезовані та надані НВО "Синтез ПАВ" (м. Шебекіно, Росія). Дослідження токсичності сполук проводили на 48 статевозрілих щурах популяції Вістар масою (190±10) г і 48 білих мишах масою (23±2) г з урахуванням методичних підходів [1, 7]. Тваринам перорально за допомогою зонда вводили водні розчини речовин одноразово в діапазоні доз 1,0–15,0 г/кг маси у випадку гострого експерименту. Процедури з експериментальними тваринами здійснювали відповідно до вимог Державного комітету з етики. Тварин утриму-

вали в стаціонарних умовах виварію за постійної температури та природного освітлення. Забій проводили методом декапітації, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію (50 мг/кг в/п) [8].

Клінічні прояви гострого отруєння вивчали з урахуванням методичних рекомендацій [1]. Дози було вибрано таким чином, щоб визначити летальний ефект в інтервалі летальних доз LD₀-LD₁₀₀. Спостереження за тваринами проводили протягом 15 діб. Реєстрували час загибелі тварин і сумарну кількість введеної речовини. Оцінювали результати на підставі середнього ефективного часу загибелі тварин [5]. Розрахунок середньо-летальних доз (LD₅₀) здійснювали відповідно до [4, 5]. Загиблих тварин і тварин, які вижили, піддавали розтину з подальшим макро- та мікроскопічним дослідженням внутрішніх органів. Кумулятивні властивості речовин вивчали за методом Lim [12]. Коефіцієнти кумуляції визначали відповідно до [3]. Розрахунок коефіцієнта кумуляції проводили за формулою: $K_k = (D_k \cdot 50) / (LD_{50} \cdot a \cdot n)$, де D_k – сумарна доза, отримана всіма тваринами; n – число тварин; a – відсоток загиблих.

Токсикологічну оцінку МК і МЦ проводили також з використанням клітинних культур: J₉₂₉ – лінії фібробластів мишей та X-63 – мишачої мієломи. В експеримент брали культури клітин з вирослим моношаром, приготовлені та вирощені за загальноприйнятою методикою [10]. Результати виражали за цитотоксичною дією – появою округлих клітин, зморщуванням або сповзанням зі скла. Для вивчення впливу речовин на функціональний стан (адгезію та розпластування) клітин використовували культуру J₉₂₉, яка росте на середовищі Ігла з 10 % розчином сироватки великої рогатої худоби. Клітини висівали в 96-лунковий планшет для культивування по 10⁵ на лунку в ростовому середовищі з додаванням МК і МЦ. Результати оцінювали за кількістю клітин, які розпласталися в полі зору мікроскопа через

4 год. Через 24 год інкубації використовували також методику поглинання нейтрального червоного (кінцева концентрація в середовищі 0,01 %). Враховували відсоток клітин у лунці, які містять у цитоплазмі гранули барвника через 1 год після інкубації при 37 °С.

Вплив МК і МЦ на біосинтетичні процеси культури клітин X-63 (5×10⁶ на мл) вивчали радіоізотопним методом за включенням радіоактивних речовин у ТХО-нерозчинний осад. МК і МЦ додавали за 1 год до внесення радіоактивної речовини в середовище. Для вивчення синтезу ДНК і РНК використовували гідролізат ³H-тимідину (2,0 мСі/мл) та ³H-уридину (5,0 мСі/мл). Включення міток здійснювали при 37 °С та 5 % CO₂ протягом 4-х год. Реакцію зупиняли шляхом додавання ТХО-кислоти. Проби обробляли на нітроцелюлозних фільтрах за загальноприйнятою методикою, радіоактивність вимірювали за допомогою лічильника "Бекман-7800". Досліджували концентрації речовин 250,0 і 50,0 мг/л.

Забезпечували контакт МК і МЦ у різних концентраціях із нативними клітинами букального епітелію людини *in vitro* при експозиції протягом 20 хв. Про токсичний вплив судили за зміною біоелектричного потенціалу ядра [11]. Електрокінетичні властивості ядер клітин букального епітелію вивчали методом внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу.

Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень свідчать про те, що МЦ належить до помірно токсичних сполук (3 клас небезпеки), а МК – до малотоксичних (4 клас небезпеки). Токсикометричні показники були близькими для різних видів лабораторних тварин і за ступенем небезпеки не виходили за межі 3 класу для МЦ та 4 класу для МК (табл. 1).

Таблиця 1 – Параметри токсичності метилкарбітолу та метилцеллозольву за умов одноразового внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам

Речовина	Вид тварин	Параметр токсичності ^a			ET ₅₀ ^b	Клас небезпеки
		LD ₀	LD ₅₀	LD ₁₀₀		
Метилкарбітол	щури	6,0	9,37	14,0	22,7	4
	миші	6,0	10,12	13,0	23,4	4
Метилцеллозольв	щури	1,25	1,50	2,5	19,3	3
	миші	1,0	1,42	2,5	20,1	3

Примітка. ^a – г/кг маси тварини; ^b – год.

За коефіцієнтами кумуляції МЦ відносять до речовин з помірно вираженою кумуляцією (Кк=3,62), а МК має слабовиражені кумулятивні властивості (Кк=6,21). Середній час загибелі тварин в основному вкладається у першу добу. Відмінностей видової чутливості не встановлено.

У клінічній картині отруєння МК і МЦ переважали симптоми порушення ЦНС. Зміни внутрішніх органів при гострому експерименті були подібними. Спостерігалися повнокров'я та дистрофія у печінці, нирках; редукція лімфої-

дних фолікулів, в окремих випадках – гіперплазія останніх у селезінці; перичелюлярний та периваскулярний набряки у головному мозку, стази у капілярах.

Слід зазначити, що досліджувані речовини проявляли біологічну активність відносно клітинних культур. Недіюча доза була встановлена на рівні 1,0 мг/л. Отримані результати свідчать про те, що культури клітин є більш чутливими до дії МК і МЦ. Речовини у концентраціях до 10,0 мг/л порушували процес розпластування клітин культури тканини фібробластів мишей J₉₂₉ (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив метилкарбітолу та метилцеллозольву на розпластування клітин J₉₂₉ після 4-х год інкубації

Речовина	Концентрація ^a			
	1000,0	100,0	10,0	1,0
Метилкарбітол	76±4	95±5	100±3	100 % утворення пласту
Метилцеллозольв	79±5	92±4	98±2	

Примітка. ^a – мг/л; вплив виражали у % клітин, що утворили пласт.

Також культури клітин втрачали здатність поглинати барвник нейтральний червоний (кінцева концентрація у середовищі 0,01 %) під впливом МК і МЦ, що є показником виживання клітин. Недіючою була концентрація 1,0 мг/л. Досліджувані сполуки у концентраціях 5,0 мг/л і нижче не впливали на час формування моношару (табл. 3).

МК і МЦ призводили до зниження включення у культури клітин ³H-тимідину і ³H-уридину (табл. 4, 5). Зміна інтенсивності інкорпорації ³H-тимідину і ³H-уридину залежала від дози впливу речовин. МК і МЦ у концентраціях

50,0 мг/л практично не впливали на включення ³H-тимідину в культуру клітин X-63, тоді як інкорпорація в них ³H-уридину значно знижувалася порівняно з контролем. В усіх випадках концентрація 5,0 мг/л не впливала на інкорпорацію ³H-тимідину та ³H-уридину і була недіючою на біосинтетичні процеси.

МК і МЦ знижували негативний заряд ядер букального епітелію порівняно з контролем (табл. 6). Спостерігалася залежність впливу речовин на електрокінетичні властивості ядер від дози. Концентрація 0,5 мг/л виявилася недіючою на нативні клітини букального епітелію.

Таблиця 3 – Вплив метилкарбітолу та метилцеллозольву на поглинання нейтрального червоного клітинами J₉₂₉ після 24-х год інкубації

Речовина	Концентрація ^a			
	100,0	25,0	5,0	1,0
Метилкарбітол	90±4	98±4	100±4	–
Метилцеллозольв	86±5	100±4	100±4	

Примітка. ^a – мг/л; вплив виражали у % клітин, що поглинали барвник.

Таблиця 4 – Вплив метилкарбітолу та метилцеллозольву на включення ³H-тимідину в культуру клітин X-63 (M±m)

Речовина	Концентрація ^a	
	250,0	50,0
Контроль	30294±2328	
Метилкарбітол	15176±806*	29451±1478
Метилцеллозольв	21160±972*	28585±1379

Примітка. ^a – мг/л; включення ³H-тимідину виражали в імп/хв · 10⁶ клітин; * – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 5 – Вплив метилкарбітолу та метилцеллозольву на включення ³H-уридину в культуру клітин X-63 (M±m)

Речовина	Концентрація ^a	
	250,0	50,0
Контроль	63830±4483	
Метилкарбітол	39460±2481*	30974±2377*
Метилцеллозольв	45668±3982*	42940±3506*

Примітка. ^a – мг/л; включення ³H-уридину виражали в імп/хв • 10⁶ клітин; * – p<0,05 відносно контролю.

Таблиця 6 – Вплив метилкарбітолу та метилцеллозольву на негативний заряд клітинних ядер букального епітелію людини (M±m)

Речовина	Концентрація ^a			
	100,0	10,0	1,0	0,5
Контроль	55,66±2,46			
Метилкарбітол	38,50±2,42*	44,30±1,84*	49,12±3,26	–
Метилцеллозольв	32,12±2,96*	41,24±2,83*	45,38±3,40*	–

Примітка. ^a – мг/л; вплив виражали у % електронегативних ядер; * – p<0,05 відносно контролю.

ВИСНОВКИ. 1. Метилцеллозольв є помірно токсичною речовиною з вираженими кумулятивними властивостями, тоді як метилкарбітол відносять до малотоксичних речовин зі слабо вираженими кумулятивними властивостями.

2. Досліджувані сполуки за умов перорального надходження в організм теплокровних тварин порушують функції ЦНС, дихання та

кровообігу, причому найбільш виражено метилцеллозольв.

3. Метилкарбітол і метилцеллозольв дозозалежно негативно впливають на біологічну активність клітинних культур, інгібують синтез ДНК і РНК у культурі клітин X-63, знижують негативний заряд ядер букального епітелію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Елизарова О. Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении / О. Н. Елизарова. – М. : Медицина, 1971. – 173 с.
2. Зилькарнаев Т. Р. Подход к прогнозированию острой токсичности химических веществ / Т. Р. Зилькарнаев, Л. А. Тюрина, Т. С. Соломинова // Гигиена и санитария. – 1999. – № 3. – С. 54–61.
3. Каган Ю. С. Процессы адаптации и кумуляции в организме при воздействии химических соединений / Ю. С. Каган // Профилактическая токсикология. – 1984. – 1. – С. 256–268.
4. Красовский Г. Н. Система критериев комплексной оценки опасности химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Г. Н. Красовский, С. Л. Авалиани, З. И. Жолдакова // Гигиена и санитария. – 1992. – № 9–10. – С. 15–17.
5. Красовский Г. Н. Среднее эффективное время гибели животных как параметр для прогнозирования хронической токсичности веществ / Г. Н. Красовский // Гигиена и санитария. – 1982. – № 7. – С. 12–14.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 154 с.
7. Методологія оцінки впливу чинників довкілля на здоров'я населення: вибір типу досліджень і

показників (огляд літератури) / О. І. Тимченко, А. М. Сердюк, О. І. Турос [та ін.] // Журн. АМН України. – 2000. – 6, № 3. – С. 566–574.

8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко та ін.] – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

9. Попова Л. Д. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / Л. Д. Попова, О. В. Зайцева, Р. И. Кратенко – Х. : Торнадо, 2000. – 437 с.

10. Уосли Д. Новые методы выращивания культуры животных тканей / Д. Уосли. – М. : Мир, 1976. – 255 с.

11. Шахбазов В. Г. Биоэлектрические свойства клеточного ядра, ядрышка и хроматина в функциональной активности ядерного генома / В. Г. Шахбазов. – М. : МГУ, 1982. – Т. 2. – С. 826–828.

12. Lim R. K. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subacute medium effective doses / R. K. Lim, K. C. Rink, H. G. Class // Arch. Int. Pharmac. Et Ther. – 1971. – 30. – P. 336–339.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МЕТИЛКАРБИТОЛА И МЕТИЛЦЕЛЛОЗОЛЬВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Резюме

В работе изучена токсичность метилкарбитола и метилцеллозолева, характеризующихся большим объемом производства, широким использованием, поступлением в водные объекты окружающей среды, возможным негативным действием на организм человека. Для теплокровных животных метилцеллозольв является умеренно токсичным веществом с сильно выраженной кумуляцией, метилкарбитол – малотоксичным со слабовыраженными кумулятивными свойствами. При остром отравлении исследуемые соединения нарушают функции ЦНС, дыхания и кровообращения. Культуры клеток J₉₂₉ и X-63 более чувствительны к действию веществ, что подтверждается существенным нарушением процесса их расщепления, снижением включения ³H-тимидина и ³H-уридина, отрицательного заряда ядер буккального эпителия человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метилкарбитол, метилцеллозольв, токсичность, кумуляция, теплокровные животные, клеточные культуры.

Yu.K. Rezenenko
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

EVALUATION OF METHYLCARBITOL AND METHYLCELLOSOLVE TOXICITY WITH USAGE OF DIFFERENT TEST SYSTEMS

Summary

The study investigates the toxicity of methylcarbitol and methylcellosolve which are characterized by great sizes of production, wide usage, entrance in water objects of environment and possible negative action on the human organism. Methylcellosolve is a moderately toxic substance with pronounced cumulation for the warm blooded animals as well as methylcarbitol is minitoxic with weakly pronounced cumulation. When there is an acute intoxication, the investigative substances disturb functions of CNS, respiration and blood circulation. The cultures of cells J₉₂₉ and X-63 are more susceptible to the action of substances which is verified by pronounced disturbances of their spreads and by decrease in ³H-thymidine and ³H-uridine inclusion and in negative action of buccal epithelium nucleus of human.

KEY WORDS: methylcarbitol, methylcellosolve, toxicity, cumulation, warm-blooded animals, cellular cultures.

Отримано 02.12.10

Адреса для листування: Ю.К. Резуенко, вул. Іл'їнська, 67, кв. 224, Харків, 61093, Україна.

ОБМІН СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ПРИ ГІПЕРГЛЮКОКОРТИКОЇДЕМІЇ

У щурів моделювали гіперглюкокортикоїдемію за допомогою дексаметазону і в плазмі крові визначали рівень гомоцистеїну, цистеїну і гідроген сульфїду. На сьомий день від початку введення дексаметазону вміст гомоцистеїну був в 1,7 разів вищим, ніж в контролі, цистеїну – в 1,3 разів, а рівень гідроген сульфїду знижувався в 1,8 разів. Екзогенне введення фолієвої кислоти, ціанокобаламіну, бетаїну і піридоксину паралельно з дексаметазоном частково запобігало гіпергомоцистеїнемії і гіперцистеїнемії. На рівень H_2S достовірний ефект справив тільки піридоксин. У печінці й нирках тварин, яким вводили дексаметазон, спостерігали зниження активності цистатіонін- β -синтази, цистатіонін- γ -ліази і цистеїнамінотрансферази, яке частково коригували піридоксином. Зроблено висновок, що збільшення вмісту гомоцистеїну і цистеїну, зменшення рівня гідроген сульфїду, пригнічення десульфуразної активності ферментів є вагомими факторами ризику розвитку атеросклерозу, ендотеліальної дисфункції та гіперкоагуляції при хворобах, що супроводжуються тривалою гіперглюкокортикоїдемією.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дексаметазон, сірковмісні амінокислоти, гідроген сульфід, вітаміни B_9 , B_{12} , B_6 , бетаїн.

ВСТУП. Нещодавно було відкрито десульфуразний шлях обміну цистеїну та гомоцистеїну, з якими асоціюється продукція важливої регуляторної газової молекули гідроген сульфїду (H_2S) [3, 11]. Синтез H_2S із цистеїну каталізується кількома ферментами: цистеїнамінотрансферазою (КФ 2.6.1.3), цистатіонін- γ -ліазою (КФ 4.4.1.1) і цистатіонін- β -синтазою (КФ 4.2.1.22) [5]. Також H_2S може синтезуватись шляхом відновлення тіосульфату з участю тіосульфатдитіолсульфід-трансферази (КФ 2.8.1.5). H_2S здатний вступати в численні перетворення [8, 11], зокрема зв'язуватись із SH-групами білків та низькомолекулярних тіолів, модифікуючи їх активність, взаємодіяти із сульфїт-аніоном, утворюючи тіосульфат, або може піддаватись метилуванню до метантіолу під дією тіолметилтрансферази (КФ 2.1.1.9). H_2S може також утворювати нітрозотіоли та неферментативно окиснюватись до сульфїтів та сульфатів [4].

На сьогодні відомо, що H_2S відіграє досить значну роль у регуляції судинного тону та агрегації тромбоцитів, скоротливості міокарда, нейротрансмісії, секреції інсуліну [6, 10].

З іншого боку, відомо, що стан хронічної гіперглюкокортикоїдемії, який буває у пацієнтів при синдромі чи хворобі Кушинга, а також у хворих, які тривалий час приймають глюкокор-

© В.М. Нечипорук, М.М. Корда, 2011.

тикоїди з лікувальною метою, характеризується судинними розладами, ризиком розвитку атеросклерозу і тромбозу. Виникає гіпотеза, чи кардіоваскулярні розлади, що мають місце при гіперпродукції гормонів кори надниркових залоз, не зумовлені, хоча б частково, порушенням утворення гідроген сульфїду в організмі. Відомо, що глюкокортикоїди є важливими регуляторами всіх видів обміну, в тому числі обміну амінокислот і білків. Проте вплив цих гормонів на метаболізм сірковмісних амінокислот все ще не зовсім зрозумілий. Недослідженими є питання впливу глюкокортикоїдів на вміст гідроген сульфїду в організмі, функціональний стан ферментів, що забезпечують процеси десульфуровання цистеїну і від функціонування яких безпосередньо залежить концентрація гідроген сульфїду в крові.

Метою даної роботи було дослідити вплив тривалого введення щурам дексаметазону на ферментні системи утворення гідроген сульфїду в печінці та нирках, а також вивчити можливість корекції порушень функціонування цих систем за допомогою фолієвої кислоти, ціанокобаламіну, піридоксину та бетаїну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досліджень використано 58 безпородних щурів-самців масою 150–180 г, яких утримували на стан-

дартному раціоні. Усіх тварин поділили на 6 груп: 1-ша – контроль (інтактні щури), цій групі тварин внутрішньочеревно вводили стерильний фізіологічний розчин; 2-га – тварини, в яких викликали гіперглюкокортикоїдемію (щоденно протягом 7 днів вводили по 4 мг/кг дексаметазону внутрішньочеревно); 3-тя – щури, яким вводили дексаметазон і вітаміни В₉ (2 мг/кг щоденно протягом тижня) та В₁₂ (0,2 мг/кг щоденно протягом тижня); 4-та – дексаметазон+бетаїн (20 мг/кг щоденно протягом тижня); 5-та – дексаметазон+В₆ (10 мг/кг щоденно протягом тижня); 6-та – дексаметазон+В₉+В₁₂+бетаїн+В₆. На 7-му добу щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Для досліджень використовували плазму крові, тканину печінки та нирок і сечу тварин.

Для підтвердження синдрому гіперкортицизму й оцінки ступеня гіперглюкокортикоїдемії визначали вміст 17-кетостероїдів у сечі за їх реакцією з метадинітробензолом [2]. У сироватці крові визначали загальний вміст гомоцистеїну імуноферментним методом з використанням набору фірми “Axis-Shield” (Велика Британія), а також цистеїну – за реакцією з нінгідриновим реактивом у кислому середовищі [7].

Печінку та нирки перфузували холодним 1,15 % розчином калію хлориду і гомогенізували при 3000 об/хв у середовищі 1,15 % калію хлориду (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували впродовж 30 хв при 1500 г та 4 °С і отриману пост’ядерну фракцію використовували для визначення активності ферментів, що забезпечують процеси десульфування цистеїну, – цистатіонін-β-синтази (ЦБС), цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ) і цистеїнамінотрансферази (ЦАТ). Десульфуразну активність ЦБС, ЦГЛ і ЦАТ визначали за утворенням Н₂С у реакції з N,N-диметилпарафенілендіаміном [12]. Для визначення активності зазначених ферментів добирали такий склад інкубаційних середовищ, який дозволяв оцінити максимальне утворення Н₂С у відповідних реакціях [1].

Результати виражали як середнє±SEM з 8 експериментів. Зміни р<0,05 розглядалися як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статистичні програми і критерій t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що кінцевими продуктами обміну глюкокортикоїдів є 17-кетостероїди і за вмістом останніх у сечі можна судити про рівень глюкокортикоїдів в організмі. Як видно з рисунка 1, введення тваринам по 4 мг/кг синтетичного глюкокортикоїду дексаметазону протягом 7 днів ви-

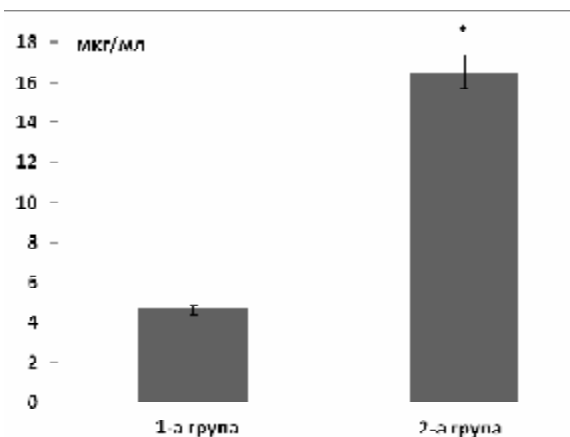


Рис. 1. Вміст 17-кетостероїдів у сечі щурів, яким вводили дексаметазон. * – зміни достовірні порівняно з контрольною групою (1-ша група) тварин.

кликало збільшення вмісту 17-кетостероїдів у сечі в 3,5 раза (з (4,66±0,24) до (16,52±0,86) мкг/мл).

Дані, наведені на рисунках 2 і 3, свідчать про те, що тривале введення дексаметазону викликало дисбаланс в обміні сірковмісних амінокислот. Так, вміст гомоцистеїну в крові тварин з гіперглюкокортикоїдемією зростав в 1,7 раза порівняно з контролем (з (3,98±0,05) до (6,88±0,08) мкмоль/л), а вміст цистеїну – в 1,3 раза (з (102,3±7,5) до (135,7±8,4) мкмоль/л). Збільшення концентрації гомоцистеїну може бути наслідком зниження під впливом глюкокортикоїдів вмісту фолієвої кислоти в крові [9], яка необхідна для процесу реметилування гомоцистеїну до метіоніну ферментом гомоцистеїнметилтрансферазою. Для цього процесу також необхідний ціанкобаламін. На користь вищенаведеного припущення свідчить той факт, що екзогенне введення вітамінів В₉ і В₁₂ знижувало вміст гомоцистеїну в крові тварин з (6,88±0,08) до (4,39±0,66) мкмоль/л. Гомоцистеїн також може реметилуватися до метіоніну ферментом бетаїн-гомоцистеїнметилтрансферазою з участю коферменту бетаїну. Як видно з рисунка 2, застосування бетаїну знижувало рівень гомоцистеїну в 1,4 раза у щурів з гіперглюкокортикоїдемією. Можливо, оскільки дексаметазон є потужним активатором глікоконнегенезу з амінокислот, а бетаїн утворюється з амінокислоти гліцину, то при тривалому введенні дексаметазону виникає дефіцит бетаїну в організмі. Тому його екзогенне введення в наших експериментах можна розглядати як замісну терапію, що ефективно коригує вміст гомоцистеїну при гіперглюкокортикоїдемії. Гомоцистеїн, крім реметилування до метіоніну, може реагувати із серином з утворенням цистатіоніну в реакції, яка каталізується піридоксиновим ферментом цистатіонін-

бета-синтазою, а цистатіонін далі руйнується ще одним вітаміном B_6 -залежним ферментом цистатіонін-гамма-ліазою до цистеїну. На відміну від застосування фолієвої кислоти, ціанкобаламіну та бетаїну, введення щурам з викликаною дексаметазоном гіпергомоцистеїнемією піридоксину призводило до лише незначного зниження вмісту гомоцистеїну (рис. 2). Очевидно, саме посиленою утилізацією надлишкової кількості гомоцистеїну у вищенаведеному шляху транссульфування, де цистеїн функціонує як проміжний метаболіт, можна пояснити підвищення концентрації останнього в крові щурів, яким вводили дексаметазон (рис. 3). Паралельне з дексаметазоном введення щурам вітамінів B_9 , B_{12} і B_6 частково запобігало індукованому гормоном збільшенню вмісту цистеїну. У тварин, яким вводили суміш фолієвої кислоти і ціанкобаламіну, рівень

цистеїну був на 9 % нижчим порівняно з некоригованою групою. Це, очевидно, зумовлено показаним вище впливом даних вітамінів на процеси реметилування. Оскільки більше гомоцистеїну реметилується до метіоніну, то менше навантаження припадає на шлях транссульфування і, відповідно, менше цистеїну утворюється. Вітамін B_6 викликав навіть більш виражену (на 17 %), ніж вітаміни B_9 і B_{12} , нормалізацію рівня цистеїну. Це, можливо, зумовлено тим, що ферменти цистеїнамінотрансфераза, цистатіонін- γ -ліаза і цистатіонін- β -синтаза, що беруть участь у подальшому перетворенні цистеїну шляхом його десульфування з утворенням H_2S , є піридоксिनозалежними. Тому екзогенне насичення організму вітаміном B_6 неминуче призведе до активації цих ферментів, а отже, і до зменшення рівня цистеїну та посиленого утворення гідроген сульфїду.

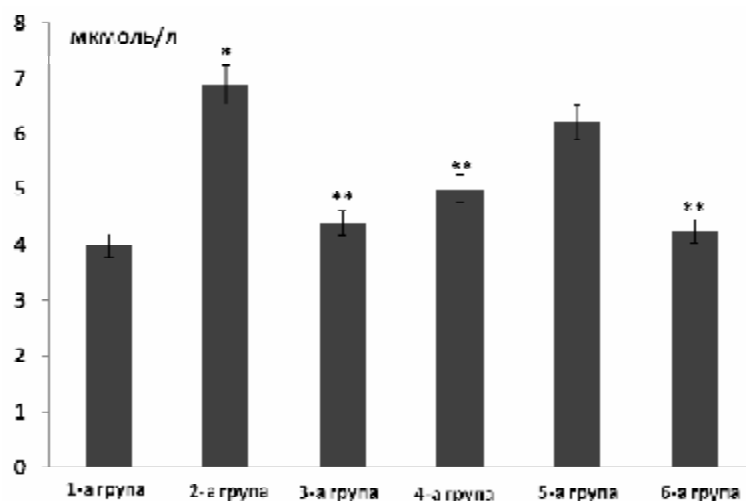


Рис. 2. Вміст гомоцистеїну в плазмі крові щурів, яким вводили дексаметазон і комбінації вітамінів. * – зміни достовірні порівняно з контрольною групою (1-ша група) тварин; ** – зміни достовірні порівняно з некоригованою групою тварин, яким вводили дексаметазон (2-га група).

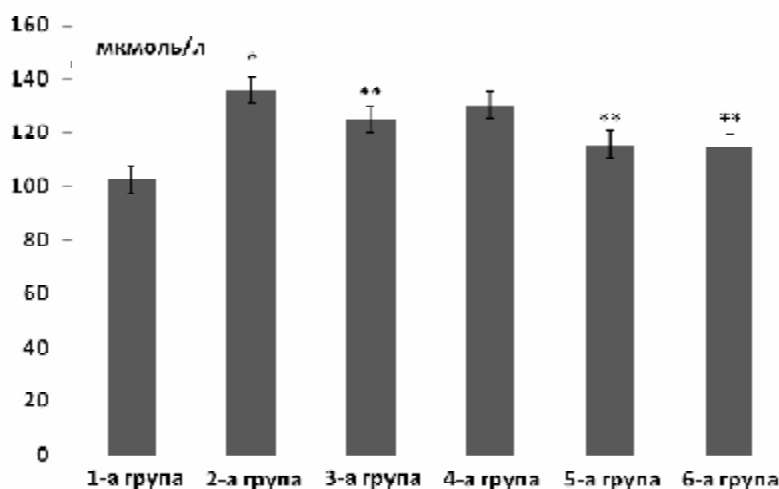


Рис. 3. Вміст цистеїну в плазмі крові щурів, яким вводили дексаметазон і комбінації вітамінів. * – зміни достовірні порівняно з контрольною групою (1-ша група) тварин; ** – зміни достовірні порівняно з некоригованою групою тварин, яким вводили дексаметазон (2-га група).

Було виявлено, що введення щуром протягом тижня дексаметазону призводить до зниження H_2S у крові в 1,8 раза (з $(77,60 \pm 5,65)$ до $(42,30 \pm 4,20)$ мкмоль/л) (рис. 4). Оскільки на сьогодні відомо, що H_2S , подібно до NO , має вазодилатаційні властивості й запобігає посиленому тромбоутворенню, то таке зменшення його вмісту при підвищеній концентрації глюкокортикоїдів має несприятливий ефект. Можливо, цей факт і пояснює виникнення ендотеліальної дисфункції і кардіоваскулярні розлади, що з'являються у хворих з гіперфункцією кори надниркових залоз. Варто відмітити, що ані фолієва кислота з ціанкобаламіном, ані бетаїн достовірного впливу на рівень гідроген сульфід у крові не справили. Разом із тим, застосування піридоксину суттєво (в 1,5 раза) підвищувало вміст H_2S . Це ще раз свідчить про важливість коферменту піридоксаль фосфату у функціонуванні ферментів, що беруть участь у десульфуванні цистеїну.

Ми проаналізували вплив дексаметазону на активність цистатіонін- β -синтази, цистатіонін- γ -ліази і цистеїнамінотрансферази, що забезпечують десульфуразні реакції в організмі, а також дослідили можливість корекції функціонування цих ферментів за допомогою вітамінів B_9 , B_{12} , B_6 і бетаїну (табл.). Як свідчать дані, наведені в цій таблиці, навантаження дексаметазоном спричинило пригнічення активності H_2S -синтезуючих ферментів у печінці й нирках. Так, у тканині печінки десульфуразна активність цистатіонін- β -синтази, цистатіонін- γ -ліази і цистеїнамінотрансферази достовірно знижувалася у тварин з гіперглюкокортикоїдемією, відповідно, в 1,5, 1,2 і 1,2 раза. У нирках під впливом дексаметазону достовірно (в 1,2 раза) знижувалася тільки активність цистатіонін- β -синтази, а активність двох інших ферментів – цистатіонін- γ -ліази і цистеїнамінотрансферази мала тільки тенденцію до зменшен-

ня, проте при статистичному аналізі зміни виявилися недостовірними. Таким чином, можемо констатувати, що виявлене нами зменшення вмісту гідроген сульфід у крові при дії дексаметазону (рис. 4), очевидно, є наслідком пригнічення активності ферментів десульфування цистеїну в органах.

Аналізуючи характер впливу досліджуваних препаратів на перебіг десульфуразних реакцій, варто відмітити, що фолієва кислота і ціанкобаламін, а також бетаїн достовірного ефекту на активність цистатіонін- β -синтази, цистатіонін- γ -ліази і цистеїнамінотрансферази у щурів з гіперглюкокортикоїдемією ані в печінці, ані в нирках не справили. Разом із тим, паралельне введення тваринам разом із дексаметазоном вітаміну B_6 запобігало пригніченню цистатіонін- β -синтази і цистеїнамінотрансферази у печінці.

Отже, можна констатувати, що при гіперглюкокортикоїдемії, паралельно із збільшенням вмісту гомоцистеїну, в крові зменшується рівень гідроген сульфід, очевидно, за рахунок пригнічення активності ферментів, що відповідають за десульфування цистеїну. Таке зменшення вмісту H_2S частково коригується піридоксином. Імовірно, оскільки дексаметазон є сильним активатором амінотрансфераз, які вимагають піридоксаль фосфату як коферменту, то при тривалій дії глюкокортикоїдів просто виснажується пул піридоксину в організмі. Це пояснює отриманий нами позитивний ефект вітаміну B_6 на функціонування ферментів десульфування цистеїну, для яких піридоксаль фосфат також є коферментом.

ВИСНОВКИ. 1. Введення щуром дексаметазону протягом семи днів викликає достовірне збільшення вмісту гомоцистеїну і цистеїну в крові з одночасним зниженням рівня гідроген сульфід. Застосування вітамінів B_9 , B_{12} , B_6

Таблиця – Показники активності ферментів, які каталізують утворення гідроген сульфід, в печінці й нирках щурів при застосуванні дексаметазону і комплексу вітамінів

Орган	Активність ферментів, нмоль/хв·мг білка	Група щурів					
		контроль, n=10	дексаметазон, n=8	дексаметазон+ B_9 + B_{12} , n=8	дексаметазон+бетаїн, n=8	дексаметазон+ B_6 , n=8	дексаметазон+ B_9 + B_{12} +бетаїн+ B_6 , n=8
Печінка	ЦБС	2,80±0,15	1,85±0,11*	2,00±0,21	1,95±0,14	2,45±0,09**	2,44±0,12**
	ЦГЛ	3,15±0,20	2,68±0,18*	2,75±0,15	2,78±0,25	2,85±0,28	2,94±0,20
	ЦАТ	2,79±0,15	2,28±0,10*	2,40±0,24	2,25±0,18	2,60±0,12**	2,65±0,14**
Нирки	ЦБС	2,15±0,09	1,85±0,08*	1,95±0,15	1,86±0,18	1,99±0,12	2,12±0,15
	ЦГЛ	1,56±0,09	1,49±0,08	1,58±0,14	1,46±0,10	1,59±0,13	1,60±0,18
	ЦАТ	2,47±0,14	2,45±0,18	2,48±0,19	2,40±0,20	2,55±0,22	2,64±0,28

Примітка. * – зміни достовірні порівняно з контролем;

** – зміни достовірні порівняно з некоригованою групою тварин, яким вводили дексаметазон.

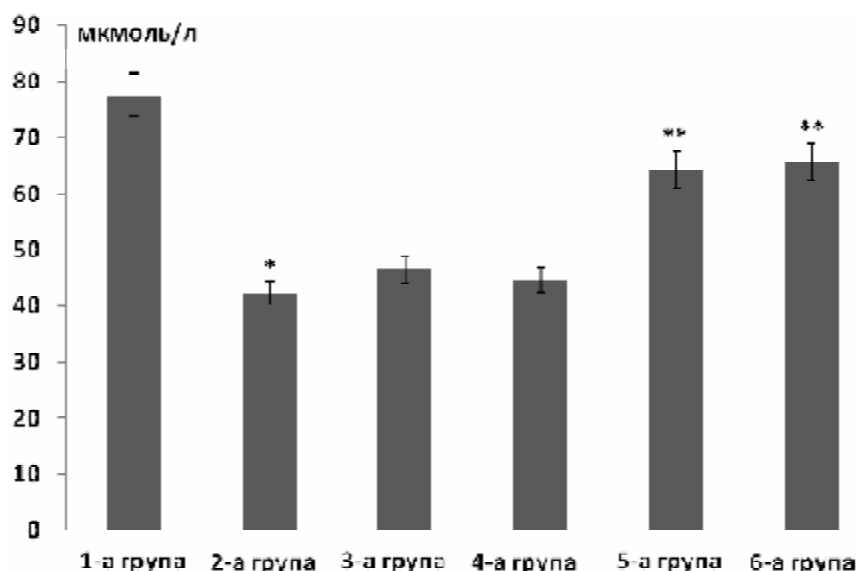


Рис. 4. Вміст гідроген сульфїду в плазмі крові щурів, яким вводили дексаметазон і комбінації вітамінів. * – зміни достовірні порівняно з контрольною групою (1-ша група) тварин; ** – зміни достовірні порівняно з некоригованою групою тварин, яким вводили дексаметазон (2-га група).

і бетаїну позитивно впливає на рівень гомоцистеїну і цистеїну за цих умов, тоді як на концентрацію гідроген сульфїду достовірний ефект справляє тільки застосування піридоксину.

2. За умов дексаметазозової гіперглюкокортикоїдемії в печінці щурів пригнічується активність цистатіонін-β-синтази, цистатіонін-γ-ліази і цистеїнамінотрансферази, а в нирках тільки цистатіонін-β-синтази. Таке пригнічення частково попереджується застосуванням піридоксину.

3. Збільшення вмісту гомоцистеїну і цистеїну, зменшення рівня гідроген сульфїду, пригнічення десульфуразної активності ферментів є вагомими факторами ризику розвитку атеросклерозу, ендотеліальної дисфункції та гіперкоагуляції при хворобах, що супроводжуються тривалою гіперглюкокортикоїдемією. Для попередження таких ускладнень у пацієнтів з гіперкортицизмом доцільно в комплекс лікувальних заходів включати фолієву кислоту, ціанокобаламін, бетаїн та піридоксин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив гострої метіонінової гіпергомоцистеїнемії на утворення гідроген сульфїду в органах щурів та його корекція комплексом вітамінів B₆, B₉, B₁₂ / Н. В. Заїчко, І. І. Андрушко, А. В. Мельник, О. І. Штатко // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2009. – № 4. – С. 29–35.
2. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – С. 251–253.
3. Dombkowski R. A. Olson Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout / R. A. Dombkowski, M. J. Russell, K. R. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2004. – **286**, № 4. – P. 678–685.
4. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide / M. Whiteman, L. Li, I. Kostetski [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2006. – **343**, № 1. – P. 303–310.
5. Ferechide D. Hyperhomocysteinemia in renal diseases / D. Ferechide, D. Radulescu // J. Med. Life. – 2009. – **2** (1). – P. 53–59.
6. From O₂ to H₂S: a landscape view of gas biology / M. Kashiba, M. Kajimura, N. Nobuhito Goda, M. Suematsu // Keio. J. Med. – 2002. – **51**, №1. – P. 1–10.
7. Gaitonde M. K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids / M. K. Gaitonde // Biochem. J. – 1967. – **104**, № 2. – P. 627–633.
8. Hildebrandt T. M. Three enzymatic activities catalyze the oxidation of sulfide to thiosulfate in mammalian and invertebrate mitochondria / T. M. Hildebrandt, M. K. Grieshaber // FEBS J. – 2008. – **275**, № 13. – P. 3352–3361.
9. Hyperhomocysteinemia in Patients with Cushing's Syndrome / M. Terzolo, B. Allasino, S. Bosio E. Brusa, F. Daffara // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2004. – **89**, № 8. – P. 3745–3751.

10. Li. L. Hydrogen sulphide-a novel mediator of inflammation? / L. Li, M. Bhatia, P. K. Moore // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – 6 (2). – P. 125–129.

11. Łowicka E. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists / E. Łowicka, J. Bettowski // Pharmacological Reports. – 2007. – 59, № 1. – P. 4–24.

12. Stipanuk M. H. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat / M. H. Stipanuk, P. W. Beck // Biochem. J. – 1982. – 206, № 2. – P. 267–277.

В.М. Нечипорук¹, М.М. Корда²

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.И. ПИРОГОВА¹
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ОБМЕН СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И ОБРАЗОВАНИЕ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА ПРИ ГИПЕРГЛЮКОКОРТИКОИДЕМИИ

Резюме

У крыс моделировали гиперглюкокортикоидемию с помощью дексаметазона и в плазме крови определяли уровень гомоцистеина, цистеина и сульфида водорода. На седьмой день от начала введения дексаметазона содержание гомоцистеина было в 1,7 раза выше, чем в контроле, цистеина – в 1,3 раза, а уровень гидроген сульфида снижался в 1,8 раза. Экзогенное введение фолиевой кислоты, цианокобаламина, бетаина и пиридоксина параллельно с дексаметазоном частично предотвращало гипергомоцистеинемию и гиперцистеинемию. На уровень H₂S достоверный эффект произвел только пиридоксин. В печени и почках животных, которым вводили дексаметазон, наблюдали снижение активности цистатионин-*b*-синтазы, цистатионин-*g*-лиазы и цистеинами-нотрансферазы, которое частично корректировали пиридоксином. Сделан вывод, что увеличение содержания гомоцистеина и цистеина, уменьшение уровня гидроген сульфида, угнетение десульфуразной активности ферментов являются весомыми факторами риска развития атеросклероза, эндотелиальной дисфункции и гиперкоагуляции при болезнях, сопровождающихся длительной гиперглюкокортикоидемией.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дексаметазон, серосодержащие аминокислоты, сульфид водорода, витамины В₉, В₁₂, В₆, бетаин.

V. M. Nechyporuk¹, M. M. Korda²

M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY¹
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

METABOLISM OF SULFUR CONTAINING AMINO ACIDS AND HYDROGEN SULFIDE FORMATION IN HYPERGLUCOCORTICOIDEMIA

Summary

The state of hyperglucocorticoidea was modulated in rats by dexamethasone injections and homocysteine, cysteine as well as hydrogen sulfide levels were measured in blood plasma. On the seventh day after the beginning of dexamethasone administration homocysteine and cysteine levels were 1,7 and 1,3 times higher than in control group. At the same time the concentration of hydrogen sulfide decreased in 1,8 times. Exogenous administration of folic acid, cyanocobalamin, pyridoxine and betaine simultaneously with dexamethasone partially prevented hyperhomocysteinemia and hypercysteinemia. Only pyridoxine affected positively the level of H₂S. In the liver and kidneys of animals which were administered with dexamethasone, decreased activities of cystathionine-*b*-synthase, cystathionine-*g*-lyase, cystathionine amino transferase were observed. This decrease was partially corrected by pyridoxine. It was concluded that the increased level of homocysteine and cysteine, hydrogen sulfide reduction, inhibition of cystathionine-*b*-synthase, cystathionine-*g*-lyase, cystathionine amino transferase activities are the significant risk factors of atherosclerosis, endothelial dysfunction and hypercoagulation in diseases accompanied with prolonged hyperglucocorticoidea.

KEY WORDS: dexamethasone, sulfur-containing amino acids, hydrogen sulfide, vitamin В₉, В₁₂, В₆, betaine.

Отримано 10.12.10

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

Н.Р. Шамро¹, Н.Б. Панасюк, О.Я. Склярів
РІВНЕНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ГУМАНІТАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ВПЛИВ ВІТАМІНУ С НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗ ТА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ЗА УМОВ БЛОКУВАННЯ ЦОГ-2, iNOS АБО ВВЕДЕННЯ L-АРГІНІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УЛЬЦЕРОГЕННОМУ КОЛІТІ У ЩУРІВ

В експериментах на щурах на моделі виразкового коліту, викликаного введенням 4 % оцтової кислоти, вивчено вплив вітаміну С на активність NO-синтаз та процеси ліпопероксидації за умов блокування ЦОГ-2, iNOS або введення L-аргініну. Встановлено, що дія вітаміну С спричиняла зниження активності iNOS, вмісту нітрит-аніона, продуктів ТБК, активності супероксиддисмутази (СОД), тоді як активність eNOS мала тенденцію до зростання, при цьому концентрація L-аргініну в плазмі крові підвищувалась. Дія вітаміну С на тлі блокування iNOS, порівняно із самостійним впливом вітаміну С, не викликала виражених змін активності NO-синтаз у СОТК. Дія вітаміну С за умов блокування ЦОГ-2 при коліті призводила до зменшення активності eNOS, тоді як активність iNOS, вміст нітрит-аніона, продуктів ТБК, активність СОД і каталази у СОТК та концентрація L-аргініну в плазмі крові суттєво не змінювались. Поєднана дія вітаміну С та L-аргініну, порівняно із самостійним впливом вітаміну С за умов виразкового коліту, викликала зниження активності eNOS, активність iNOS, вміст продуктів ТБК та активність СОД і каталази не змінювались. Отже, цитопротекторна дія вітаміну С при виразковому коліті зумовлена не тільки його антиоксидантними властивостями, але й впливом на активність iNOS та ЦОГ-2.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аміногуанідин, вітамін С, L-аргінін, нітрит-аніон, NO-синтази, продукти ТБК, СОТК, улцерогенний коліт, ЦОГ-2.

ВСТУП. Розвиток улцерогенного коліту характеризується формуванням деструктивних ушкоджень СОТК, що супроводжується підвищенням експресії прозапальних ензимів – iNOS та ЦОГ-2 і, відповідно, значним продукуванням нітрит-аніона та ПГЕ2. Роль нітроген оксиду, що синтезується eNOS та iNOS за умов запалення, є різною. Так, вважається, що eNOS/NO має протекторну дію, тоді як iNOS/NO бере участь у розвитку улцерогенних механізмів [19, 21, 29]. Експресія індукційної NOS при виразкових ушкодженнях СОТК різко зростає у макрофагах, нейтрофілах, епітеліоцитах та ендотеліоцитах. Паралельно активуються процеси ліпопероксидації. Взаємодія між супероксидним радикалом та NO призводить до утворення цитотоксичної речовини – пероксинітриту, що нітрозильює тирозинові залишки багатьох протеїнів, супероксиддисмутази та інших мідьвмісних протеїнів [17, 22].

Одним із важливих неферментних антиоксидантів є вітамін С (віт С), який включає аскорбінову (відновлена форма) та дегідро-аскорбінову кислоти (окиснена форма). Ан-

тиоксидантна роль аскорбінової кислоти пов'язана з декількома механізмами, які включають його взаємодію з відновленим глутатіоном або вітаміном Е [7, 10, 30], зв'язування супероксидного радикала, пероксиду водню, гідроксильного радикала, синглетного кисню, гіпохлоритної кислоти, пероксинітриту [14]. Інший механізм хемопротекції віт С пов'язаний з відновленням N-нітросокомпонентів, а також моделюванням проліферації клітин та індукуванням апоптозу [11, 26].

Проте вплив віт С на активність ензимів NO-синтазної системи, процеси ліпопероксидації, активність ензимів антиоксидантного захисту, вміст нітрит-аніона у СОТК та концентрацію L-аргініну в плазмі крові за умов блокування iNOS і ЦОГ-2 та екзогенного введення L-аргініну при експериментальному коліті потребує вивчення.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 48 щурах згідно з міжнародними умовами проведення експериментів на лабораторних тваринах. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, при проведенні

досліді тварин брали натщесерце, забезпечуючи безперешкодний доступ до води. Коліт моделювали шляхом введення оцтової кислоти [8]. Забір матеріалу для досліджень проводили під уретановим знеболюванням (1,1 мг/кг). Для оцінки системи NOS/NO визначали у СОТК активність NO-синтаз за [4], вміст нітрит-аніона за [16], концентрацію L-аргініну в плазмі крові [1].

Для оцінки процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантної системи у СОТК визначали вміст продуктів ТБК [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [6] і каталази [2].

Віт С (200 мг/кг) вводили самостійно та на фоні блокування ЦОГ-2 целекоксибом (10 мг/кг), iNOS – аміногуанідином (20 мг/кг) та одночасно з впливом прекурсора для дії NO-синтаз – L-аргініном (100 мг/кг) [27, 28]. Препарати вводили двічі: перший раз – за 30 хв до дії оцтової кислоти, а другий раз – на наступну добу після моделювання коліту.

Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В інтактних тварин активність NO-синтаз у СОТК становила: cNOS – (0,726±0,14) нмоль/хв·г, iNOS – (0,199±0,09) нмоль/хв·г, а вміст нітрит-аніона складав (15,8±2,0) мкмоль/л, що відповідає результатам, отриманим іншими авторами [3, 24].

Дія ульцерогенного коліту призводила до підвищення у СОТК активності iNOS у 6 разів (p<0,01), тоді як активність cNOS майже не змінювалась. Вміст нітрит-аніона у СОТК зрос-

тав на 155 % (p<0,05). Концентрація L-аргініну в плазмі крові зменшилась з (47,2±9,5) до (23,27±4,55) мкг/мл (на 49 %, p<0,05). За умов ульцерогенного коліту різко підвищувалась активність процесів ліпопероксидації – вміст продуктів ТБК збільшувався на 92 % (p<0,05). Активність СОД при цьому зростала на 87 % (p<0,05), активність каталази також мала тенденцію до підвищення.

Отримані нами результати подібні до даних літератури і свідчать про те, що за умов ульцерогенного коліту відбувається різке підвищення активності iNOS у клітинах СОТК. Зростання активності iNOS та збільшення продукції нітроген оксиду призводять до різкого зменшення концентрації L-аргініну в плазмі крові. Одночасно активуються процеси ліпопероксидації та підвищується активність ензимів антиоксидантної системи [3, 25]. Експресія iNOS призводить до різкого зростання синтезу NO, з якого можуть утворюватись нітроксил (NO-), пероксинітрит (ONOO-) та нітрозотіоли, дія яких порушує функції внутрішньоклітинних білків, плазматичної мембрани та мембран органел, структуру ДНК [21].

Введення екзогенного віт С на фоні коліту призводило до зменшення активності iNOS – на 32 % (p<0,05), тоді як активність eNOS не змінювалась (табл. 1).

Вміст нітрит-аніона зменшувався на 18 % (p<0,05), а концентрація L-аргініну в плазмі крові зростала на 84 % (p<0,05) порівняно з показниками при дії коліту. Вміст продуктів ТБК при дії віт С зменшувався на 30 %, активність СОД знижувалась на 36 %, активність каталази – на 10 % (табл. 2).

Таблиця 1 – Вплив вітаміну С на активність NO-синтаз, вміст NO у СОТК і концентрацію L-аргініну в плазмі крові за умов блокування ЦОГ-2, iNOS та введення L-аргініну при оцтовому коліті

Серія досліджень	NO, мкмоль/л	iNOS, нмоль/хв·г	eNOS, нмоль/хв·г	NOS, нмоль/хв·г	L-аргінін, мкг/мл
Інтактні тварини	15,8±2	0,199±0,097	0,726±0,14	0,926±0,08	47,2±9,5
Ульцерогенний коліт	24,5±1,3*	1,3±0,2*	0,757±0,15	2,06±0,18*	23,2±4,5*
Вплив віт С на фоні коліту	20,14±1,9#	0,878±0,3	0,735±0,14	1,6±0,29	43,5±7,6#
Вплив віт С на фоні блокування ЦОГ-2 целекоксибом при коліті	21±3,16	0,816±0,24	0,493±0,07	1,31±0,18#	36,4±5,4#
Вплив віт С на фоні блокування iNOS аміногуанідином при коліті	19±2,4#	0,769±0,32	0,690±0,29	1,46±0,19	49±9,1#
Поєднаний вплив віт С та L-аргініну при коліті	19±1,0#	0,847±0,13	0,594±0,1	1,44±0,19	49,8±2,0#

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – вірогідність різниці порівняно з контрольною групою (p<0,05); # – вірогідність різниці порівняно з групою тварин із колітом.

Таблиця 2 – Вплив вітаміну С на вміст продуктів ТБК та активність ензимів антиоксидантного захисту (СОД, каталаза) у СОТК за умов блокування ЦОГ-2, іNOS та введення L-аргініну при оцтовому коліті

Серія досліджень	Вміст продуктів ТБК, мкмоль/г-тк	Активність СОД, мкмоль НСТ/хв·мг білка	Активність каталази, мкмоль H ₂ O ₂ /хв·л
Інтактні тварини	238,7±23	16,7±3,6	0,278±0,02
Ульцерогенний коліт	458,1±39,9	31,2±3,6	0,349±0,04
Вплив віт С на фоні коліту	322±6,2	20,1±1,86	0,312±0,03
Вплив віт С на фоні блокування ЦОГ-2 целекоксибом при коліті	292,1±17,5	24,4±6,9	0,298±0,03
Вплив віт С на фоні блокування іNOS аміногуанідином при коліті	304,2±20,5	22,6±4,0	0,287±0,04
Поєднаний вплив віт С та L-аргініну при коліті	323,2±29,6	22,4±5,4	0,282±0,03

Отже, віт С за умов ульцерогенного коліту виражено блокує активність іNOS, що призводить до зменшення продукції нітрит-аніона та продуктів ТБК у СОТК та підвищує концентрацію L-аргініну в плазмі крові.

Вплив віт С на фоні блокування іNOS селективним блокатором аміногуанідином призводив до зменшення активності іNOS на 41 %, активність еNOS суттєво не змінювалась порівняно з показниками за умов коліту. Вміст нітрит-аніона при цьому знижувався у СОТК на 22 %, а концентрація L-аргініну в плазмі крові зростала у 2 рази (p<0,05) порівняно з показниками при дії ульцерогенного коліту.

При зіставленні даних, отриманих за дії віт С на фоні блокування іNOS, з показниками самостійного впливу віт С на тлі ульцерогенного коліту можна констатувати, що виражених змін активності загальної NOS, іNOS, еNOS та вмісту нітрит-аніона у СОТК не було. Концентрація L-аргініну в плазмі крові за умов впливу віт С на фоні блокування іNOS, порівняно із самостійним впливом віт С на тлі ульцерогенного коліту, також значно не змінювалась. У попередніх дослідженнях показано зниження експресії іNOS у СОШ при дії віт С за умов виразки. Блокування віт С активності іNOS може бути зумовлене його впливом на компоненти ензиму, NF-κB - сигнальну систему, процеси транскрипції mRNA [13, 15].

Порівнюючи отримані результати при дії віт С за умов блокування ЦОГ-2 у СОТК при коліті з даними самостійного впливу віт С, можна відзначити, що загальна активність NOS знизилась на 18 %, активність іNOS не змінилась, а активність еNOS зменшилась на 33 %. Показники вмісту нітрит-аніона у СОТК та концентрація L-аргініну в плазмі крові також

достовірно не відрізнялись. Вміст продуктів ТБК, активність СОД і каталази за вказаних умов виражено не змінювались.

Поєднана дія віт С та L-аргініну, порівняно із самостійним впливом віт С за умов ульцерогенного коліту в СОТК, призводила до зменшення активності еNOS (на 19 %), активність іNOS, вміст продуктів ТБК та активність СОД і каталази не змінювались.

Отже, отримані результати свідчать про те, що за умов ульцерогенного коліту в регуляції активності NO-синтаз домінує ефект впливу віт С.

У раніше проведених дослідженнях було відзначено, що як дія віт С, так і екзогенне введення L-аргініну при виразкових ушкодженнях шлунка або виразковому коліті призводили до зменшення активності іNOS [23]. Експресія іNOS залежала від вмісту L-аргініну в клітині – рівень mRNA іNOS зростав із збільшенням концентрації і різко зменшувався при блокуванні потрапляння L-аргініну [20].

Віт С проявляє виражену антиоксидантну дію, що пов'язано не тільки із зв'язуванням різних радикалів та зниженням рівня оксидативного стресу, а також із зменшенням інфільтрації нейтрофілів у слизовій оболонці товстої кишки та концентрації цитокінів (інтерлейкіну-1β та фактора некрозу пухлин-α), зростанням експресії mRNA антиоксидантних ензимів – СОД, глутатіонпероксидази і каталази [9, 12, 18].

Що стосується дії віт С на фоні блокування іNOS аміногуанідином, то виявлена домінуюча дія віт С у регуляції активності NO-синтаз, процесів ліпопероксидації та активності СОД. Можливо, механізм дії віт С ґрунтується на комплексі факторів, серед яких пряма модуляція активності іNOS, вплив на стабільність компонентів ензиму або процеси транскрипції mRNA.

ВИСНОВКИ. 1. Введення віт С на фоні ультроценогенного коліту призводило до зниження активності іNOS, вмісту нітрит-аніона, продуктів ТБК, активності СОД, тоді як активність еNOS мала тенденцію до зростання. Концентрація L-аргініну в плазмі крові підвищувалась порівняно з показниками при дії коліту.

2. Дія віт С на тлі блокування іNOS, порівняно із самостійним впливом віт С, не викликала виражених змін активності NO-синтаз у СОТК, а також концентрації L-аргініну в плазмі крові, що свідчить про домінування ефекту впливу віт С.

3. Дія віт С за умов блокування ЦОГ-2 при коліті, порівняно із самостійним впливом віт

С, призводила до зменшення активності еNOS, тоді як активність іNOS, вміст нітрит-аніона, продуктів ТБК, активність СОД і каталази у СОТК та концентрація L-аргініну в плазмі крові суттєво не змінювались.

4. Поєднана дія віт С та L-аргініну, порівняно із самостійним впливом віт С за умов виразкового коліту, призводила до зменшення активності еNOS, активність іNOS, вміст продуктів ТБК та активність СОД і каталази не змінювались.

5. Механізм дії віт С на активність іNOS та ЦОГ-2, можливо, пов'язаний із впливом на процеси експресії цих ензимів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алейникова Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова. – М. : Высшая школа, 1988. – 239 с.
2. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С.16–19.
3. Скляр О. Я. Роль NO-синтазной системы та процесів ліпопероксидації в цитопротекторних механізмах за умов ультроценогенного коліту / О. Я. Скляр, Н. Б. Панасюк, О. Р. Джура // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2009. – № 1. – С. 38–45.
4. Сумбаев В. В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В. В. Сумбаев, И. М. Ясинская // Совр. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.
5. Тимурбулатов М. А. Метод повышения свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / М. А. Тимурбулатов, Е. И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209–211.
6. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андеял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
7. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats / Y. Kamiya, Y. Ohta, Y. Imai [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324–1330.
8. Acute experimental colitis decreases colonic circular smooth muscle contractility in rats / B. S. Myers, J. S. Martin, D. T. Dempsey [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1997. – **273**. – P. 928–936.
9. Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals / I. M. Drake, M. J. Davies, N. P. Mapstone [et al.] // Carcinogenesis. – 1996. – **17**, № 3. – P. 559–562.
10. Beyer R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: Interaction with vitamin E

and coenzyme Q / R. E. Beyer // J. Bioenerg. Biomembranes. – 1994. – **26**. – P. 349–358.

11. Brigelius-Flohe R. Ascorbic acid, cell proliferation, and cell differentiation in culture / R. Brigelius-Flohe, L. Flohe // Subcell Biochem. – 1996. – **25**. – P. 83–107.

12. Comparison of nitric oxide-releasing NSAID and vitamin C with classic NSAID in healing of chronic gastric ulcers; involvement of reactive oxygen species / T. Brzozowski, S. Kwiecien, P. Konturek [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2001. – **7**. – P. 592–599.

13. Deutsch J. C. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide / J. C. Deutsch // Anal. Biochem. – 1998. – **255**, № 1. – P. 1–7.

14. Effect of ascorbic acid on neutrophil functions and hypoxanthine/xanthine oxidase-generated, oxygen-derived radicals / A. Dwenger, M. Funk, B. Lueken [et al.] // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1992. – **30**. – P. 187–191.

15. Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric mucosal damage before and after Helicobacter pylori eradication therapy / P. C. Konturek, J. Kania, U. Gessner, [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – **15**, № 2. – P. 169–177.

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

17. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants / L. Kruidenier, J. Kuiper, C.B. Lamers [et al.] // J. Pahtol. – 2003. – **201**, № 1. – P. 28–36.

18. Jonas E. In vitro effect of ascorbic acid on neutrophil-dendotherial cell interaction / E. Jonas, F. Dwenger, A. Hager // J. Biolumin. Chemilumin. – 1993. – **8**, № 1. – P. 15–20.

19. Lanasa A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract / A. Lanasa // Arthritis Research & Therapy. – 2008. – **10**, Suppl 2. – P. 1–6.

20. L-Arginine availability regulates inducible nitric oxide synthase-dependent host defense against

- Helicobacter pylori infect / R. Chaturvedi, M. Asim, N. D. Lewis [et al.] // Immun. – 2007. – **75**, № 9. – P. 4305–4315.
21. Mc Cafferty D. M. Peroxynitrite and inflammatory bowel disease / D. M. Mc Cafferty // Gut. – 2000. – **46**. – P. 436–439.
22. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors / V. Mollace, C. Muscoli, E. Masini [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2005. – **57**. – P. 217–252.
23. Ohta Y. L-arginine protects against stress-induced gastric mucosal lesions by preserving gastric mucus / Y. Ohta, K. Nishida // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2002. – **29**, № 1–2. – P. 32–38.
24. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies / T. Kucharzik, C. Maaser, A. Luger [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2006. – **12**. – P. 1068–1083.
25. Rumi G. Dual role of endogenous nitric oxide in development of dextran sodium sulfate-induced colitis in rats / G. Rumi, R. Tsubouchi, H. Nishio // J. Physiol. Pharmacol. – 2004. – **55**, № 4. – P. 823–836.
26. Sakagami H. Modulating factors of radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate / H. Sakagami, K. Satoh // Anticancer Res. – 1997. – **17**. – P. 3513–3520.
27. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C / I. Altuntas, N. Delibas, M. Demirci [et al.] // Arch. Toxicol. – 2002. – **76**, № 8. – P. 470–473.
28. The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C / Gokalp O., Gulle K., Sulak O. [et al.] // Toxicol. Ind. Health. – 2003. – **19**, № 2–6. – P. 63–67.
29. Wallace J. L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury / J. L. Wallace, L. Ma // Exp. Biol. Med. Vol. – 2001. – **226**, № 11. – P. 1003–1015.
30. Winkler B. S. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective / B. S. Winkler, S. M. Orselli, T. S. Rex // Free Radic. Biol. Med. – 1994. – **17**. – P. 333–349.

Н.Р. Шамро¹, Н.Б. Панасюк, А.Я. Скляр
 РОВЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ГУМАНИТАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ¹
 ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА С НА АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗ И ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В УСЛОВИЯХ БЛОКИРОВАНИЯ ЦОГ-2, iNOS ИЛИ ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УЛЬЦЕРОГЕННОМ КОЛИТЕ У КРЫС

Резюме

В экспериментах на крысах на модели язвенного колита, вызванного введением 4 % уксусной кислоты, изучено влияние витамина С на активность NO-синтаз и процессы липопероксидации в условиях блокирования ЦОГ-2, iNOS или введения L-аргинина. Установлено, что действие витамина С вызывало снижение активности iNOS, содержания нитрит-аниона, продуктов ТБК, активности супероксиддисмутазы (СОД), в то время как активность eNOS имела тенденцию к возрастанию, при этом концентрация L-аргинина в плазме крови повышалась. Действие витамина С при блокировании iNOS, по сравнению с самостоятельным влиянием витамина С, не вызывало выраженных изменений активности NO-синтаз в СОТК. Действие витамина С в условиях блокирования ЦОГ-2 при колите приводило к уменьшению активности eNOS, тогда как активность iNOS, содержание нитрит-аниона, продуктов ТБК, активность СОД и каталазы в СОТК и концентрация L-аргинина в плазме крови существенно не изменялись. Совместное действие витамина С и L-аргинина, по сравнению с самостоятельным влиянием витамина С в условиях язвенного колита, вызывало снижение активности eNOS, активность iNOS, содержание продуктов ТБК и активность СОД и каталазы не изменялись. Таким образом, цитопротекторное действие витамина С при язвенном колите обусловлено не только его антиоксидантными свойствами, но и влиянием на активность iNOS и ЦОГ-2.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аминоксидин, витамин С, L-аргинин, нитрит-анион, NO-синтазы, продукты ТБК, СОТК, язвенный колит, ЦОГ-2.

EFFECT OF VITAMIN C ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTASES AND PROCESSES OF LIPOPEROXIDATION UNDER CONDITIONS OF COX-2 AND iNOS BLOCKAGE OR INJECTION OF L-ARGININE IN EXPERIMENTAL ULCEROGENIC COLITIS IN RATS

Summary

In the experiments on rats with modeled ulcerogenic colitis induced by injection of 4 % acetic acid, action of vitamin C caused reduction of iNOS activity, decrease in the content of nitrite anion and TBA products, and reduction of SOD activity whereas activity of eNOS tended to enhance, at that, concentration of L-arginine in the plasma of blood increased. Action of vitamin C at the background of iNOS blockage, as compared to the independent effect of vitamin C, failed to cause any considerable changes in the activity of NO-synthases in the MMLI. Action of vitamin C under conditions of COX-2 blockage in colitis resulted in reduction of eNOS activity while the activity of iNOS, content of nitrite anion and TBA products, activity of SOD and catalase in the MMLI as well as concentration of L-arginine in the plasma of blood did not show significant changes. Combined action of vitamin C with L-arginine, in contrast to the independent effect of vitamin C, under conditions of ulcerogenic colitis resulted in reduction of eNOS activity, but activity of iNOS, content of TBA products, activity of SOD and catalase remained unaltered. Thus, cytoprotective action of vitamin C in ulcerogenic colitis is due not only to its antioxidant properties but also to the effect of vitamin C on the activity of iNOS and COX-2.

KEY WORDS: aminoguanidine, COX-2, L-arginine, MMLI, nitrite-anion, NO-synthases, TBA products, ulcerogenic colitis, vitamin C.

Отримано 17.12.10

Адреса для листування: Н.Р. Шамро, Рівненський державний гуманітарний університет, вул. С. Бандери, 12, Рівне, 33028, Україна.

С.О. Качула¹, С.А. Бондар¹, О.О. Качула²
 ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА¹
 ВІЙСЬКОВО-МЕДИЧНИЙ КЛІНІЧНИЙ ЦЕНТР ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГОНУ², ВІННИЦЯ

ВПЛИВ ГІПЕРКЕТОНЕМІЇ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КОН'ЮГАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ ТА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ БРОМБЕНЗОЛУ

Вивчено вплив гіперкетонемії на активність деяких ферментів кон'югації ксенобіотиків та гепатотоксичність бромбензолу. Гіперкетонемія, яка виникає після введення ацетону або голодування, знижує активність УДФ-глюкуронілтрансферази, фенолсульфотрансферази та глутатіон-S-трансферази в печінці щурів. Фенобарбітал підвищує активність зазначених ферментів. Ацетон, голодування та фенобарбітал збільшують гепатотоксичність бромбензолу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіперкетонемія, ксенобіотики, кон'югація, біотрансформація, ацетон, фенобарбітал, УДФ-глюкуронілтрансфераза, фенолсульфотрансфераза, глутатіон-S-трансфераза, бромбензол.

ВСТУП. Синдром гіперкетонемії є одним з поширених порушень обміну речовин, що негативно впливає на організм, може спричинити пригнічення процесів кон'югації в печінці, зокрема з глутатіоном [6, 9]. Гіперкетонемія виникає при голодуванні, цукровому діабеті, підвищеному вмісті жирів у дієті та інших станах [8]. Дані літератури свідчать про можливість порушення процесів кон'югації з глюкуроною кислотою та сульфатом у тварин, що голодують. Зокрема, було показано, що 48-годинне голодування мишей знижує кон'югацію пара-нітрофенолу ізольованими гепатоцитами майже на 80 % [5]. Можна припустити, що за умов гіперкетонемії змінюється токсичність лікарських речовин, однак загалом це питання вивчено недостатньо.

Метою дослідження було вивчення впливу гіперкетонемії на ферменти кон'югації ксенобіотиків та гепатотоксичну дію речовини, метаболіти якої підлягають процесам кон'югації. На ізольованих гепатоцитах щурів порівнювали вплив гіперкетонемії, індукованої введенням ацетону або голодуванням, на вираження гепатотоксичної дії бромбензолу, з ефектом класичного індуктора – фенобарбіталу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди провели на 56 білих нелінійних щурах-самцях масою 145–205 г. Ацетон вводили в шлунок тварин у дозі 1000 мг/кг 1 раз на добу протягом 3-х днів. Для введення використовували 32 %

© С.О. Качула, С.А. Бондар, О.О. Качула, 2011.

розчин (за об'ємом) ацетону, приготовлений на 0,9 % розчині натрію хлориду, і цей розчин вводили в об'ємі 2 мл/кг. Модель голодування відтворювали шляхом позбавлення тварин їжі протягом 2-х діб, зберігаючи вільний доступ до води. Фенобарбітал вводили внутрішньочеревно в дозі 70 мг/кг 1 раз на день протягом 5 діб. Тварин брали в дослід через 2 доби після останнього введення фенобарбіталу та ацетону. Досліди виконували згідно з правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин, затвердженими комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

У печінці визначали активність УДФ-глюкуронілтрансферази (УДФ-ГТ, КФ 2.4.1.17), фенолсульфотрансферази (ФСТ, КФ 2.8.2.1) та глутатіон-S-трансферази (субстрат етакринова кислота) (ГТФ, КФ 2.5.1.18), як описано раніше [2]. Гепатоцити одержували колагеназним методом Сеглена [4]. Життєздатність клітин оцінювали за їх профарбовуванням трипановим синім, виходом лактатдегідрогенази в позаклітинну рідину при інкубації гепатоцитів з 0,6 мМ бромбензолом протягом 120 хв. Кількість клітин, що поглинули трипановий синій, підраховували в камері Горяєва. Активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) оцінювали за зниженням поглинання NADH [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На першому етапі роботи було оцінено вплив ацетону, голодування та фенобарбіталу на активність

ферментів кон'югації ксенобіотиків. Встановлено, що введення ацетону, фенобарбіталу та голодування викликають суттєві зміни активності ферментів, що беруть участь в кон'югації ксенобіотиків (табл. 1). Внаслідок перорального введення щурам ацетону в дозі 1000 мг/кг пригнічувалась активність ферментів кон'югації. Спостерігалась тенденція до зменшення активності УДФ-ГТ, вірогідно знижувалась активність ФСТ та ГТФ (субстрат етакринова кислота) – на 28 і 38 % відповідно. Подібний до ацетону вплив на активність ферментів мало позбавлення тварин їжі. На 3-й день голодування активність УДФ-ГТ, ФСТ та ГТФ (субстрат етакринова кислота) в печінці щурів була нижчою на 21, 23 і 41 % відповідно.

Фенобарбітал підвищував зазначену активність ферментів на 58, 28 та 47 % відповідно. Таким чином, дія ацетону та голодування на ферментні системи кон'югації значно відрізняється від дії фенобарбіталу.

На другому етапі дослідження ми вивчали токсичну дію бромбензолу на ізольовані гепатоцити, отримані від щурів, яким вводили ацетон, фенобарбітал або які голодували. За контроль слугували проби, в яких гепатоцити

інкубували без бромбензолу. Виявлено (табл. 2), що через 2 год інкубації навіть інтактні гепатоцити втрачають життєздатність. Однак найбільше зниження життєздатності гепатоцитів мало місце при їх інкубації з гепатотоксином. Порівняно з інтактними щурами кількість гепатоцитів, що профарбувались трипановим синім в процесі інкубації з бромбензолом, у тварин, які голодували, виявилась більшою на 26 %. За цих умов активність позаклітинної лактатдегідрогенази була вищою на 24 %.

Попереднє введення щурам ацетону ще більше, ніж голодування, підсилювало токсичну дію бромбензолу. На відміну від тварин контрольної групи кількість гепатоцитів, що профарбувались трипановим синім в процесі інкубації з бромбензолом, у щурів, які отримували ацетон, була більшою на 69 %, а активність лактатдегідрогенази, яка вийшла з гепатоцитів у позаклітинне середовище, – вищою на 35 %. Близьким за здатністю підсилювати токсичну дію ксенобіотиків був фенобарбітал. Введення його щурам приводило до збільшення частки профарбованих гепатоцитів на 58 % при інкубації клітин з бромбензолом. Індукція тварин фенобарбіталом

Таблиця 1 – Вплив ацетону, голодування, фенобарбіталу на активність УДФ-глюкуронілтрансферази, фенолсульфотрансферази та глутатіон-S-трансферази етакринової кислоти в мікросомній фракції печінки щурів ($M \pm m$, $n=9-10$)

Активність ферментів, нмоль/хв на 1 мг білка	Контроль	Ацетон	Голодування	Фенобарбітал
УДФ-глюкуронілтрансфераза	2,94±0,23	2,59±0,21	2,33±0,15*	5,02±0,30*
Фенолсульфотрансфераза	0,36±0,02	0,26±0,02*	0,27±0,02*	0,46±0,03*
Глутатіон-S-трансфераза (етакринова кислота)	26,6±1,78	20,9±1,69*	15,9±1,13*	39,1±2,73*

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – різниця з контролем вірогідна ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив ацетону, голодування та фенобарбіталу на токсичність бромбензолу щодо ізольованих гепатоцитів ($M \pm m$, $n=5$)

Умови досліджу	Контроль	Ацетон	Голодування	Фенобарбітал
Кількість клітин, профарбованих трипановим синім, %				
До інкубації	9,0±0,9	12,0±1,9	9,6±1,3	11,6±1,7
Через 120 хв від початку інкубації				
Інтактні клітини	19,6±1,5	31,6±2,4	26,0±2,8	29,8±1,7
Бромбензол, 0,6 мМ	38,7±2,7 100 %	65,4±4,3* 169 %	48,9±3,6* 126 %	61,0±3,9* 158 %
Вихід лактатдегідрогенази в інкубаційне середовище, %				
До інкубації	100	100	100	100
Через 120 хв від початку інкубації				
Інтактні клітини	138±3,2	150±7,9	140±6,4	147±5,2
Бромбензол	202±9,4 100 %	272±15* 135 %	250±12* 124 %	243±11* 120 %

посилювала також вихід з гепатоцитів лактат-дегідрогенази на 20 %.

Таким чином, токсичні ефекти бромбензолу тісно асоційовані з процесами кон'югації його токсичних інтермедіатів. Наявність тісного зв'язку між токсичним ефектом бромбензолу та активністю ферментів кон'югації вказує на те, що в цілісному організмі кінцева токсичність ксенобіотика буде, очевидно, визначатись співвідношенням між швидкістю утворення токсичних метаболітів і здатністю організму ефективно їх елімінувати. Ацетон, як і голодування, знижує активність ферментів кон'югації, чим і можна пояснити підвищення токсичності бромбензолу. Фенобарбітал, хоч і збільшує активність ферментів кон'югації, але він є сильним індуктором ферментів I фази біотрансформації ксенобіотиків, зокрема ізофор-

ми 2В цитохрому P450 [1], яка, за даними літератури [7], причетна до утворення реакційно-здатних метаболітів бромбензолу. Тому зрозуміло, що і на тлі введення фенобарбіталу зростає токсичність бромбензолу. В клінічній практиці треба враховувати ймовірні зміни гепатотоксичної дії ксенобіотиків під впливом гіперкетонемії.

ВИСНОВКИ. 1. Введення ацетону, як і голодування, знижує активність УДФ-глюкуронілтрансферази, фенолсульфотрансферази та глутатіон-S-трансферази в печінці. Фенобарбітал посилює зазначену активність ферментів кон'югації.

2. Ацетон, голодування та фенобарбітал підвищують гепатотоксичність бромбензолу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Влияние гиперкетонемии на маркерные активности изоформ цитохрома P-450 и гепатотоксичность тетрахлорметана, парацетамола и гидразина / А. А. Пентюк, А. П. Андреев, Г. И. Блажиевская [и др.] // Ліки. – 1999. – № 2. – С. 72–75.

2. Изучение взаимосвязи гепатотоксического действия бромбензола и маркерных активностей цитохрома, цитохрома P-450 и ферментов конъюгации / С. А. Качула, А. А. Пентюк, Е. В. Тертышная [и др.] // Современ. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 40–44.

3. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высшая школа, 1980. – 374 с.

4. Стимуляция синтеза ДНК в гепатоцитах фракциями сыворотки крови гепатэктомированных крыс / Л. А. Осипова, Ю. Д. Иващенко, Н. И. Немлий [и др.] // Биополимеры и клетка. – 1986. – № 3. – С. 141–146.

5. Accumulation of phenols and catechols in isolated mouse hepatocytes in starv ation or after pretreatment

with acetone / G. Banhegyi, T. Garzo, F. Antoni [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 1988. – **37**, № 21. – P. 4157–4162.

6. Chronic acetonemia alters liver oxidative balance and lipid content in rats. A model of nash / B. B. Almeida, M. G. Mathias, G. V. Portari, A. A. Jordao // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. – 2010. – **118**, № 1. – P. 61–63.

7. Harauchi T. Effect of P-450 inducers on glutathione (GSH) depletion by bromobenzene in primary cultures of dog hepatocytes / T. Harauchi M. Hirata // Biol. Pharm. Bull. – 1994. – **17**, № 5. – P. 658–661.

8. Lipid peroxidation and antioxidant system in rats acutely treated with acetone / M. G. Mathias, B. B. Almeida, J. E. Bueno [et al.] // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. – 2010. – **118**, № 6. – P. 368–370.

9. Sadovnichy V. Effect of prostaglandin F2 alpha on free radical generation, glutathione content and microsomal oxidase activities in rat liver microsomes induced either by ethanol or acetone / V. Sadovnichy, D. Muller, V. Buko // Pol. J. Pharmacol. – 1997. – **49**, № 6. – P. 431–437.

С.А. Качула¹, С.А. Бондарь¹, О.А. Качула²

**ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА¹
ВОЕННО-МЕДИЦИНСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГИОНА², ВИННИЦА**

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРКЕТОНЕМИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КОНЬЮГАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ БРОМБЕНЗОЛА

Резюме

Изучено влияние гиперкетонемии на активность некоторых ферментов конъюгации ксенобіотиков и гепатотоксичность бромбензола. Гиперкетонемия, возникающая после введения ацетона или голодания,

снижает активность УДФ-глюкуронилтрансферазы, фенолсульфотрансферазы и глутатион-S-трансферазы в печени крыс. Фенобарбитал повышает активность указанных ферментов. Ацетон, голодание и фенобарбитал увеличивают гепатотоксичность бромбензола.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиперкетонемия, ксенобиотики, конъюгация, биотрансформация, ацетон, фенобарбитал, УДФ-глюкуронилтрансфераза, фенолсульфотрансфераза, глутатион-S-трансфераза, бромбензол.

S.O. Kachula¹, S.A. Bondar¹, O.O. Kachula²
M.I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY¹
MILITARY-MEDICAL CLINICAL CENTER OF CENTRAL REGION², VINNYTSIA

EFFECT OF HYPERKETONEMIA ON THE ACTIVITY OF ENZYMES CONJUGATION OF XENOBIOTICS AND BROMBENZENE HEPATOTOXICITY

Summary

Influence of hyperketonemia on activity of some enzymes and conjugation of xenobiotics and brombenzene hepatotoxicity was studied. Hyperketonemia that occurs after the introduction of acetone or starvation, reduces the activity of the UDP-glucuronosyltransferases, phenolsulfotransferases and glutathione-S-transferase in rats' liver. Phenobarbital increases the activity of these enzymes. Acetone, starvation and phenobarbital increase brombenzene hepatotoxicity.

KEY WORDS: hyperketonemia, xenobiotics, conjugation, acetone, phenobarbital, UDP-glucuronosyltransferase, phenolsulfotransferase, glutathione-S-transferase, brombenzene.

Отримано 03.12.10

Адреса для листування: С.О. Качула, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

**ВИЗНАЧЕННЯ L-АРГІНІН: ГЛІЦИН АМІДИНОТРАНСФЕРАЗИ
ПРИ ДІАБЕТИЧНОМУ УРАЖЕННІ НИРОК**

У статті наведено результати вивчення активності канальцевого ферменту L-аргінін: гліцин амідинотрансферази (АГАТ) у крові та сечі 62 хворих з діабетичним ураженням нирок. Відмічено, що для пацієнтів з діабетичним ураженням нирок характерне зростання в крові та сечі активності АГАТ. Виявлено чітку залежність рівнів активності АГАТ від функціонального стану паренхіми нирок, зокрема нефроцитів канальцевого відділу нефрону, що дає змогу вважати АГАТ маркером прогресування діабетичного процесу в нирках та використовувати для оцінки ступеня втягнення нирок у патологічний процес.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: L-аргінін: гліцин амідинотрансфераза, діабет, нирки.

ВСТУП. Останнім часом переконливо доведена важлива роль порушень структури та функцій клітинних мембран при діабетичному ураженні нирок (ДУН), що вимагає пошуку чутливих та інформативних ферментних маркерів ранньої лабораторної діагностики мембрано-деструктивних уражень клітин нирок за цієї патології. Найчастіше для цього визначають активність лізосомальних ферментів N-ацетилбета-D-глюкозамінідази та бета-галактозидази, що локалізовані переважно у проксимальних канальцях та підвищення активності яких вказує на наявність запального процесу в нирках [2, 8]. Визначення в крові або сечі більш міцно пов'язаних з біомембранами ферментів, наприклад мітохондріально локалізованої L-аргінін: гліцин амідинотрансферази (КФ 2.1.4.1 АГАТ), може свідчити про глибші пошкодження клітинних мембран нефрону, найчастіше незворотного характеру. Відомо, що у фізіологічних умовах АГАТ каталізує реакції перенесення амідинової групи з L-аргініну на гліцин з утворенням продуктів реакцій L-орнітину та гуанідиноцтової кислоти. АГАТ не має субстратної специфічності. Фермент також прискорює реакцію перенесення амідинової групи з L-канаваніну на L-орнітин з перетворенням їх в L-аргінін та L-канавалін. Згідно з даними літератури, активність АГАТ виявлено виключно у нирках та підшлунковій залозі, до того ж із тканиною підшлункової залози фермент структурно більш міцно пов'язаний та з'являється у кров'яному руслі тільки за умови розвитку некротичного процесу в залозі. У клітині АГАТ в основному міститься в мітохондріальній

© Л.В. Король, 2011.

фракції, причому фермент розміщений на внутрішній мембрані мітохондрій, а основним місцем локалізації його в нефроні вважають проксимальні канальці [5, 7]. При ДУН під впливом патологічної дії гіперглікемії та в комбінації з багатьма іншими чинниками (метаболічними, імунологічними, інфекційними) порушується перш за все функціональний стан нирок, зокрема проявляються тубулоінтерстиціальні пошкодження паренхіми [6, 9]. З огляду на вищесказане, актуальним є пошук нових підходів до діагностики тубулоінтерстиціальних порушень нирок при ДУН за допомогою оцінки змін активності АГАТ, що локалізована в епітелії проксимальних канальців нефрону.

Метою роботи було вивчення змін активності АГАТ для діагностики ступеня пошкодження нефрону при ДУН.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено порівняльне вивчення активності АГАТ у крові та сечі 62 пацієнтів віком від 23 до 68 років з ДУН: 32 пацієнтів зі збереженою функцією нирок (1-ша група) та 30 – з порушеною екскреторною функцією нирок (2-га група); у 21 хворого цукровий діабет (ЦД) I типу, в 41 – II типу. Контрольна група складалась із 30 практично здорових осіб того ж віку і статі.

Активність АГАТ у крові та сечі визначали методом ван Пілсума в модифікації Мардашева і Кареліна з використанням L-канаваніну сульфату та L-орнітину гідрохлориду як субстратів. Вміст аргініну, що утворився під час реакції, визначали колориметричним методом з використанням кольорової реакції Сакагучі в нашій модифікації за калібрувальним графі-

ком. Активність ферменту виражали у ммольах L-аргініну, що утворився за 1 год інкубації при 37 °С в 1 л [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У всіх зразках крові та сечі обстежених пацієнтів обох груп виявлено активність АГАТ (табл.). При зіставленні показників ферментурії та ферментемії відмічено, що за ДУН активність АГАТ у крові значно вища, ніж показники в сечі. Разом із тим, встановлено, що показники активності ферменту залежать від активності процесу в нирках та їх функції (порушена чи збережена). Так, при порушенні екскреторної функції нирок у пацієнтів з ДУН (2-га група) в крові активність АГАТ зростала на 35 % порівняно з показниками при збереженій функції нирок (1-ша група, $p < 0,05$), а в сечі статистично достовірної різниці між показниками в обох групах пацієнтів не виявлено. Тобто прогресування

ДУН супроводжувалося збільшенням кількісних величин активності мітохондріального ферменту в крові, що вказує на серйозніші пошкодження клітин проксимальних каналців внаслідок їх діабетичного пошкодження. Встановлений факт, на наш погляд, свідчить про суттєво виражене тубулоінтерстиціальне ураження нирок, зокрема каналцевого відділу нефрону – основного місця локалізації АГАТ. Беручи до уваги те, що АГАТ є умовно-органоспецифічним ферментом для нирок та підшлункової залози, та враховуючи той факт, що з тканиною підшлункової залози фермент структурно більш міцно пов'язаний і з'являється у кров'яному руслі тільки за умови розвитку некротичного процесу в залозі, то логічно припустити, що активність цього ферменту в крові та сечі хворих без підозри на панкреонекроз буде виключно ниркового походження [5, 7].

Таблиця – Активність АГАТ у крові та сечі пацієнтів при ДУН

Група	Активність АГАТ, ммоль аргініну/л за 1 год інкубації	
	сироватка крові	сеча
1-ша, n=32	0,087±0,009*	0,056±0,01*
2-га, n=30	0,126±0,01*,**	0,067±0,01*
Контрольна	0,004±0,003	0,002±0,002

Примітка. * – статистично достовірна різниця порівняно з нормою; ** – статистично достовірна різниця порівняно з показниками між групами.

Проаналізувавши показники активності АГАТ у крові та сечі пацієнтів з ДУН, ми встановили, що зміни величин активності АГАТ у крові та сечі хворих з ДУН певною мірою залежали від типу ЦД (рис.). Так, виявлено, що у пацієнтів з ДУН та ЦД II типу при збереженій функції нирок активність АГАТ у сечі майже вдвічі ($p < 0,02$) перевищувала аналогічний показник у пацієнтів з ЦД I типу; при порушенні функції нирок у пацієнтів з ДУН показники активності АГАТ в сечі достовірно не відрізнялись між групами хворих з різним типом ЦД. У крові пацієнтів з ДУН статистично достовірних змін показників активності АГАТ залежно від типу ЦД не виявлено, проте спостерігалась певна тенденція до вищих показників при ЦД II типу.

Отже, пошкодження ниркової тканини під впливом імунних, запальних чи гормональних патологічних процесів викликає активацію мембранодеструктивних процесів у нирках і, як наслідок, підвищення реноспецифічної ферментурії та ферментемії. Відомо, що головну роль у розвитку та прогресуванні ДУН відіграє недостатньо корегована гіперглікемія, що запускає низку метаболічних порушень

[1, 3]. Існують дані про те, що гіпертрофія і гіперфункція клубочків нирок можуть бути викликані підвищеним осмолярним навантаженням на тубулярні клітини при гіперглікемії за механізмом тубулогломерулярного зворотного зв'язку, а також про те, що гіперфільтрація є неспецифічним компенсаторним механізмом у відповідь на розвиток інтерстиціального фіброзу. Все це дозволяє вважати, що при ЦД внаслідок дії гіперглікемії розвиваються також тубулоінтерстиціальні пошкодження нирок [6, 9]. У зв'язку з тим, що реакція каналцевого відділу нефрону на ішемію є найбільш ранньою та найбільш чутливою, вона супроводжується ініціацією підвищення проникності клітинних та субклітинних мембран і виходом у позаклітинний простір, тобто сечу, значної кількості ензимних білків [4, 6]. Виявленню при ДУН у сечі хворих активності АГАТ також сприяє своєрідна локалізація численних паличкоподібних мітохондрій поміж плазматичних клітинних мембран саме у звивистих проксимальних каналцях [5, 7]. Визначення активності АГАТ – ферменту з умовно-реноспецифічними властивостями вказує на наявність поши-

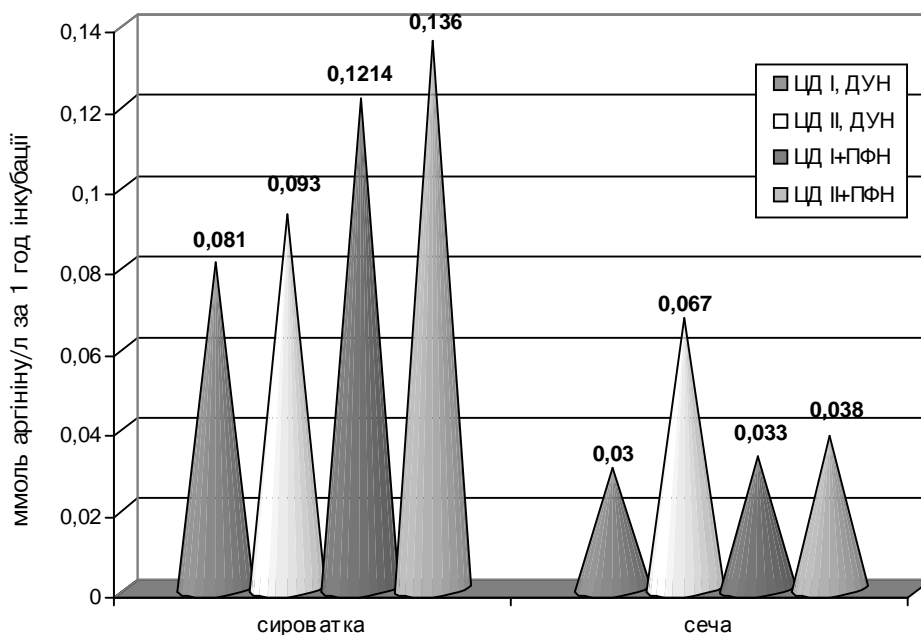


Рис. Динаміка змін активності АГАТ у крові та сечі пацієнтів з ДУН залежно від типу ЦД.

реної деструкції нефротелію канальцевого відділу нефрону при прогресуванні ДУН у хворих на ЦД. У цілому отримані дані свідчать про можливість використання цього ферментного маркера для контролю за функціональним станом при ДУН, зокрема за станом мітохондріальних мембран клітин тубулярного відділу нефрону при прогнозуванні прогресування ДУН.

ВИСНОВКИ. При ДУН у крові та сечі пацієнтів із хронічною хворобою нирок спостерігається підвищення активності АГАТ, що свідчить про

активізацію мембранодеструктивних процесів та залучення в патологічний процес тубулярного апарату нирок. Крім того, виявлено, що зміни активності АГАТ у крові та сечі залежать від функціонального стану нирок (порушена чи збережена екскреторна функція нирок). Визначення в крові та сечі активності АГАТ є надійним ферментним маркером структурно-функціональних змін клітинних мембран тубулярного апарату нефрону і може використовуватися для оцінки функціонального стану нирок при захворюваннях різного генезу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дедов И. И. Диабетическая нефропатия / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Универсум Паблишинг, 2000. – 240 с.
2. Діагностичне значення реноспецифічної ферментурії при прогресуванні паренхіматозних захворювань нирок / М. Б. Величко, Л. В. Король, Г. Г. Нікуліна, Л. Я. Мигаль // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2004. – № 1. – С. 18–20.
3. Ефимов А. Диабетическая нефропатия / А. Ефимов, Н. Скробонская, Н. Зуева // Ліки України. – 2004. – № 12. – С. 34–38.
4. Красовская Е. А. Канальцевые дисфункции при диабетической нефропатии / Е. А. Красовская // Эксп. і клін. медицина. – 2005. – № 1. – С. 64–68.
5. Мардашев С. Р. Определение трансамидиназы в сыворотке крови и моче при поражениях почек и поджелудочной железы / С. Р. Мардашев, А.А. Карелин // В кн. : Методы исследования активности некоторых ферментов в клинике. – М., 1967. – С. 67–76.

6. Факторы риска прогрессирования диабетической нефропатии у больных с длительным течением сахарного диабета по данным ретроспективного анализа / Шестакова М. В., Кошель Л. В., Вагдин В. А., Дедов И. И. // Тер. архив. – 2006. – № 6. – С. 34–39.
7. Humm A. Crystal structure and mechanism of human L-arginine:glycine amidinotransferase: a mitochondrial enzyme involved in creatine biosynthesis / A. Humm, E. Fritsche, S. Steinbacher // EMBO J. – 1997. – **16** (12). – P. 3373–3385. doi:10.1093/emboj/16.12.3373.PMID 9218780
8. Kiyatake I. Urinary Excretion of Guanidinoacetic Acid in Rats with Diabetic Nephropathy / I. Kiyatake, T. Nakamura, H. Koide // Renal Failure. – 2006. – **28**, № 2. – P. 177–180.
9. Ziyadeh F Significance of tubulointerstitial changes in diabetic renal disease / F. Ziyadeh // Kidney Int. – 1996. – **49** (Suppl. 54). – P. 10–13.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-АРГИНИН: ГЛИЦИН АМИДИНОТРАНСФЕРАЗЫ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК

Резюме

В статье представлены результаты изучения активности канальцевого фермента L-аргинин: глицин амидинотрансферазы (АГАТ) в крови и моче 62 больных с диабетическим поражением почек. Отмечено, что для пациентов с диабетическим поражением почек характерно возрастание в крови и моче активности АГАТ. Обнаружена четкая зависимость уровней активности АГАТ от функционального состояния паренхимы почек, в частности нефроцитов канальцевого отдела нефрона, что позволяет считать АГАТ маркером прогрессирования диабетического процесса в почках и использовать для оценки степени вовлечения почек в патологический процесс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **L-аргинин: глицин амидинотрансфераза, диабет, почки.**

L.V. Korol
INSTITUTE OF NEPHROLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

THE DETERMINATION OF L-ARGININE: GLICINE AMIDINETRANSFERASE OF DIABETIC INJURY OF KIDNEYS

Summary

The article presents the results of studying the activity of tubular enzymes L-arginine: glicine amidinetransferase (AGAT) in blood and urine in 62 patients with diabetic injury of kidneys. It was noted, that for patients with diabetic injury of kidneys, an increase of AGAT activity, usually absent in urine of healthy persons, was also characteristic. The precise dependence of levels of AGAT activity on functional state of renal parenchymas was found, in particular on nephrocytes of tubular nephron, that allows to regard the given parameters as markers of progressing of diabetic process in kidneys and to use them for estimation of a degree of renal involving in pathological process.

KEY WORDS: **L-arginine: glicine amidinetransferase, diabetes, kidneys.**

Отримано 17.12.10

Адреса для листування: Л.В. Коваль, Інститут нефрології АМН України, вул. Дегтярівська, 17 В, Київ, 04050, Україна.

ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТУ З НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ХРІНУ ЗВИЧАЙНОГО ЗА УМОВ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ

За умов парацетамолового гепатиту показана лікувальна дія екстракту з надземної частини хрину звичайного, яка за своїм вираженням подібна до дії відомого гепатопротектора силімарину. Встановлено, що введення в організм щурів, уражених парацетамолом, густого екстракту з хрину призводить до пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків, що, у свою чергу, викликає зниження активності амінотрансфераз, каталази, лужної фосфатази та вмісту відновленого глутатіону. Все це свідчить про антиоксидантні та гепатопротекторні властивості досліджуваної лікарської форми.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: парацетамол, гепатит, надземна частина хрину, густий екстракт, гепатопротекторна активність, антиоксидантна дія.

ВСТУП. Значна поширеність хімічних уражень печінки, тяжкість їх перебігу диктують необхідність глибокого вивчення механізмів токсичної дії ксенобіотиків та розробки ефективних методів лікування і профілактики токсичних гепатитів. Печінка доволі часто є об'єктом хімічної агресії, оскільки більшість токсикантів має гепатотропну спрямованість своєї токсичної дії чи метаболізується в ній [6, 9]. Найчастіше хімічні uszkodження печінки спричиняють лікарські засоби, а серед них вирізняється парацетамол, який застосовується мільйонами людей [7, 10].

Гепатозахисна дія притаманна великій кількості речовин, однак у лікарській практиці використовують тільки деякі з них [4, 8]. Серед численних протекторів найбільш ефективними є ті, які втручаються в процеси метаболічної активації гепатотоксинів, модулюють ферментні системи, що беруть участь в біотрансформації ксенобіотиків, та антиоксидантні ферментні системи. Саме цим вимогам відповідають природні та синтетичні антиоксиданти.

Інтерес до лікарських рослин зростає з кожним роком. Важливим завданням сучасної науки є пошук нових ефективних препаратів рослинного походження. Все частіше сучасна медицина звертається до фітопрепаратів, які використовують як напівфункціональні засоби для лікування та профілактики

© Е.М. Вашкеба, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький, 2011.

різних захворювань. Відомо, що завдання всіх фітокомплексів, які містять біологічно активні речовини (поліфеноли, сапоніни, вітаміни та ін.), – проявляти адаптогенний вплив на живий організм, мобілізуючи його гомеостатичні механізми. З огляду на це, нашу увагу привернув хрін звичайний (*Armoracia rusticana* L), який здавна використовується народною медициною, але в офіційній медицині не знайшов ще свого застосування.

Метою дослідження було вивчити антиоксидантні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з надземної частини хрину звичайного в організмі щурів за умов парацетамолового гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували білих безпородних щурів масою 170–180 г. Тварин поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (одноразово, шлях введення – інтрагастрально); 3-тя – щури, яким за 2 год до ураження та щоденно протягом двох днів після ураження парацетамолом вводили 10 % густий екстракт з надземної частини хрину звичайного в дозі 150 мг/кг маси тіла; 4-та – тварини, яким після ураження вводили силімарин в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Через два дні від початку ураження тварин піддавали евтаназії з використанням тіо-

пенталу натрію. Досліджували сироватку крові та гомогенат печінки. У вищевказаних об'єктах вивчали активність процесів перекисного окиснення ліпідів за вмістом ТБК-реагуючих продуктів [1], окиснювальної модифікації білків (ОМБ) [2], стан антиоксидантної системи за активністю каталази [5] та вмістом відновленого глутатіону (ВГ) [11], функціональний стан печінки оцінювали за активністю лужної фосфатази (ЛФ) [3].

Результати досліджень піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента. Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами встановлено, що після введення в організм щурів парацетамолу в дозі 1250 мг/кг маси тіла активувались процеси вільнорадикального окиснення, зокрема відмічали посилення процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків (табл. 1).

Таблиця 1 – **Вміст ТБК-реагуючих продуктів, 2,4-динітрофенілгідрозонів та активність амінотрансфераз у сироватці крові й печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення густого екстракту з надземної частини хрину звичайного та силімарину ($M \pm m$; $n=6$)**

Показник	Група тварин			
	інтактні	уражені	ліковані екстрактом	ліковані силімарином
Сироватка крові				
ТБК-АП, мкмоль/л	2,60±0,05	6,20±0,07*	3,75±0,06**	3,70±0,05**
2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка	0,20±0,03	0,30±0,02*	0,25±0,02	0,25±0,03
2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	0,24±0,01	0,29±0,02	0,25±0,03	0,26±0,02
АлАТ, мкмоль/л·год	0,25±0,02	0,42±0,03*	0,32±0,02**	0,31±0,02**
АсАТ, мкмоль/л·год	0,36±0,03	0,48±0,03	0,40±0,02	0,42±0,03
Печінка				
ТБК-АП, мкмоль/кг	0,75±0,03	1,90±0,04*	1,50±0,03**	1,60±0,03**
2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка	0,46±0,02	0,60±0,03*	0,52±0,03	0,48±0,04
2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	0,60±0,025	0,67±0,015	0,65±0,04	0,65±0,03
АлАТ, мкмоль/л·год	0,70±0,04	0,95±0,03*	0,78±0,05**	0,80±0,04**
АсАТ, мкмоль/л·год	0,82±0,03	1,02±0,04*	0,92±0,04	0,92±0,03

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – вірогідні зміни між інтактними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p < 0,05$).

З таблиці 1 видно, що після ураження щурів парацетамолом збільшувався вміст ТБК-АП в сироватці крові у 2,4 раза, у печінці – у 2,5 раза ($p < 0,05$). Наші дані узгоджуються з результатами досліджень К. А. Посохової та співавт. [7], які свідчать про те, що внаслідок оксидативного стресу, який виникає при введенні в організм парацетамолу, посилюються процеси ліпопероксидації. На це вказує підвищений вміст ТБК-реагуючих продуктів після ураження. Використаний нами екстракт з листя хрину викликав достовірне зниження даного показника в обидвох досліджуваних тканинах, хоча рівня норми ще не досяг. Очевидно, це пов'язано з недовготривалим введенням коригувального чинника і невеликим терміном дослідження розвитку медикаментозного гепатиту. Аналогічна тенденція до зниження вмісту ТБК-АП як у сироватці крові, так і в печінці тварин після парацетамолової інтоксикації спостерігалась при введенні в організм відомого гепатопротектора та антиоксиданта силімарину.

Результати досліджень цих показників практично були на одному рівні при використанні обидвох коригувальних чинників.

Останнім часом у літературі з'явилися повідомлення про те, що процесам переокиснення піддаються не тільки ліпіди, а й білкові компоненти мембран. Це призводить до змін активності ферментів, порушення синтезу нуклеїнових кислот та накопичення токсичних продуктів метаболізму. Нами досліджено вміст альдегідо- та кетопохідних білків, які утворилися внаслідок токсичної дії парацетамолу. Дослідження показників ОМБ показало, що в сироватці крові та печінці щурів після ураження їх парацетамолом збільшувався вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів (2,4-ДНФГ) нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм). Як видно з таблиці 1, вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові підвищився на 50 %, а в печінці – на 30 % ($p < 0,05$). При вивченні вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру відмічено достовірне зростання

їх вмісту на 21 % в сироватці крові й на 12 % в печінці через два дні після отруєння. Застосування екстракту з хрину звичайного та силімарину призвело до зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру в сироватці крові уражених парацетамолом тварин, хоча зміни не були вірогідними.

У печінці спостерігалось зменшення вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків під впливом досліджуваних середників, і дані показники незначно відрізнялися від рівня норми.

Значна кількість продуктів вільнорадикального окиснення, що нагромаджується за умов парацетамолового гепатиту, чинить токсичний вплив на стан плазматичних мембран гепатоцитів. Це підтверджується підвищенням у сироватці крові активності амінотрансфераз. Зокрема, відмічено зростання активності АлАТ в 1,7 раза, активності АсАТ в 1,3 раза відносно інтактних тварин. У печінці активність АлАТ перевищувала в 1,3 раза таку в інтактних тварин, АсАТ – у 1,2 раза. Введення в уражений організм густого екстракту з хрину звичайного призвело до зниження у сироватці крові активності АлАТ на 40 %, АсАТ – на 22 %. Позитивно вплинув на ці показники силімарин, при використанні якого активність амінотрансфе-

раз у сироватці крові зменшилась на 44 та 17 % відповідно.

У печінці піддослідних тварин спостерігалась аналогічна тенденція до зниження активності даних ферментів при застосуванні екстракту з хрину звичайного та силімарину.

Ураження тварин парацетамолом призвело до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення та посилення токсичного впливу продуктів його метаболізму на печінку. Нами досліджено активність лужної фосфатази в сироватці крові та печінці щурів усіх дослідних груп (табл. 2).

Після введення в організм парацетамолу відмічали підвищення активності лужної фосфатази в сироватці крові уражених тварин на 51 %, тоді як у печінці ми спостерігали зниження активності даного ензиму на 12 %. Це підтверджує гепатотропність цього препарату та факт розвитку медикаментозного гепатиту після потрапляння парацетамолу в організм.

В уражених тварин внаслідок інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення відбувалось пригнічення активності антиоксидантної системи, про що свідчило зниження активності каталази (в 1,4 раза) та вмісту відновленого глутатіону (в 1,3 раза) в сироватці крові.

Таблиця 2 – Активність каталази, лужної фосфатази та вміст відновленого глутатіону в сироватці крові й печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення густого екстракту з надземної частини хрину звичайного та силімарину ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Група тварин			
	інтактні	уражені	ліковані екстрактом	ліковані силімарином
Сироватка крові				
Каталаза, мкат/л	7,80±0,30	5,40±0,19*	6,82±0,13**	6,55±0,17**
ВГ, ммоль/л	4,75±0,15	3,55±0,12*	4,40±0,13**	4,35±0,14**
ЛФ, ммоль/л	3,86±0,11	5,82±0,13*	4,60±0,12**	4,45±0,11**
Печінка				
Каталаза, мкат/кг	10,30±0,15	7,35±0,13*	9,15±0,17**	9,00±0,12**
ВГ, ммоль/кг	4,15±0,11	3,05±0,12*	3,82±0,11**	3,72±0,14**
ЛФ, ммоль/кг	4,75±0,13	4,20±0,11*	4,55±0,12**	4,60±0,10**

Аналогічна тенденція до зниження вказаних показників спостерігалась і в печінці тварин після отруєння парацетамолом. Це зниження як для каталази, так і для відновленого глутатіону становило близько 30 %.

Для корекції цих порушень ми використали густий екстракт з хрину звичайного та препарат, який відомий як гепатопротектор та антиоксидант – силімарин. При застосуванні обидвох вказаних середників активність лужної фосфатази в сироватці крові знизилась, а в печінці дещо підвищилась, що є підтверд-

женням гепатопротекторної активності використаних нами лікарських форм. Густий екстракт з надземної частини хрину звичайного за активністю виявився не менш ефективним, ніж силімарин.

Позитивно вплинув досліджуваний нами екстракт на показники антиоксидантної системи. При його введенні в уражений організм спостерігали підвищення активності каталази та вмісту відновленого глутатіону (на 18 % в обидвох випадках) в сироватці крові щурів. У печінці ці показники теж наближались до

рівня норми при застосуванні екстракту з хрину звичайного. При порівнюванні впливу силімарину на показники антиоксидантної системи можна сказати, що досліджуваний екстракт був дещо ефективнішим стосовно відомого уже гепатопротектора.

Таким чином, проведені дослідження дозволили виявити позитивний вплив густого екстракту з надземної частини хрину звичайного на окиснювальні процеси в організмі тварин за умов ураження їх парацетамолом, а також на показники антиоксидантної систе-

ми та проникність плазматичних мембран гепатоцитів.

ВИСНОВОК. Отримані результати підтвердили гепатопротекторні та антиоксидантні властивості густого екстракту з надземної частини хрину звичайного, що робить його надзвичайно перспективним у плані створення нових лікарських засобів з метою подальшого використання у клініці як антиоксиданта за різних патологічних станів, що супроводжуються активацією в організмі окиснювальних процесів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Арчаков А. И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А. И. Арчаков, И. М. Михосоев // Биохимия. – 1998. – **54**, № 2. – С. 179–186.
3. Біологічна хімія. Лабораторний практикум / за заг. ред. проф. Я. І. Гонського. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 287 с.
4. Гундерманн К. Й. Новейшие данные о механизмах действия и клинической эффективности эссенциальных фосфолипидов / К. Й. Гундерманн // Клини. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. – 2002. – **2**. – С. 3–8.
5. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Моисеев С. В. Лекарственная гепатотоксичность / С. В. Моисеев // Клини. фармакол. и тер. – 2005. – № 14 (1). – С. 10–14.
7. Посохова К. А. Вплив тіотриазоліну й ацетилцистеїну на стан печінки при її ураженні парацетамолом / К. А. Посохова, А. С. Вольська, І. А. Демчук // Запороз. мед. журн. – 2010. – **12**, № 5. – С. 44–48.
8. Скрипник І. М. Гепатопротекторні засоби в сучасній гепатології / І. М. Скрипник // Consilium Medicum Ukraina. – 2007. – № 1 (5). – С. 11–15.
9. Ушкалова Е. А. Лекарственные поражения печени / Е. А. Ушкалова // Врач. – 2007. – № 3. – С. 22–26.
10. Шифман Е. М. Парацетамол: терапевтическое применение и проблема острых отравлений / Е. М. Шифман, А. Л. Ершов // Общая реаниматология. – 2007. – № 1 (III). – С. 33–39.
11. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.

Э.М. Вашкеба¹, Л.С. Фира², П.Г. Лихацкий²
УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ¹

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТА С НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ХРЕНА ОБЫКНОВЕННОГО В УСЛОВИЯХ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТА

Резюме

В условиях парацетамолового гепатита показано лечебное действие экстракта с надземной части хрена обыкновенного, которое по своему выражению подобно действию известного гепатопротектора силимарина. Установлено, что введение в организм крыс, пораженных парацетамолом, густого экстракта с хрена приводит к угнетению процессов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, что, в свою очередь, вызывает снижение активности аминотрансфераз, щелочной фосфатазы и содержания

ния восстановленного глутатиона. Все это свидетельствует об антиоксидантных и гепатопротекторных свойствах исследуемой лекарственной формы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парацетамол, гепатит, надземная часть хрена, густой экстракт, гепатопротекторная активность, антиоксидантное действие.

Ye.M. Vashkeba¹, L.S. Fira², P.H. Lykhatskyi²
UZHHOROD NATIONAL UNIVERSITY¹
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY²

THE USING OF EXTRACT FROM THE AERIAL PART OF HORSERADISH USUAL UNDER CONDITIONS OF PARACETAMOL HEPATITIS

Summary

Under conditions of paracetamol hepatitis there was demonstrated a therapeutic effect of the extract of an aerial part of horseradish usual, which by its expression has a similar effect to the known hepatoprotectors of silymarin. It was Found, that injection in the body of rats affected by paracetamol, a thick extract from horseradish leads to the inhibition of processes of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins, that in turn causes decrease of the activity of aminotransferases, catalase, alkaline phosphatase and the content of reduced glutathione. All above mentioned suggests about the antioxidant and hepatoprotective properties of an investigated medical form.

KEY WORDS: paracetamol, hepatitis, an aerial part of horseradish, thick extract, hepatoprotective activity, antioxidant action.

Отримано 09.12.10

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

РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТАМИ АКТИВНОСТІ
ДЕЯКИХ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

Досліджено роль тіаміну та його метаболітів у регуляції ферментів протеолітичної системи (пепсину, трипсину та катепсину L). Встановлено, що метаболіт тіаміну – тіохром здатен підвищувати активність пепсину, трипсину. Тіамін і тіохром підвищують активність частково очищеного препарату катепсину L, що, можливо, пов'язано з тіолдисульфідною взаємодією між молекулами тіаміну та активним центром досліджуваного ферменту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тіамін, тіохром, тіамінпірофосфат, протеолітичні ферменти, некоферментні функції.

ВСТУП. Тіамін є одним з найбільш досліджених вітамінів. Встановлено його коферментну форму. Відомі ферменти, в яких він є коферментом. Добре досліджено його анаболізм до ТМФ, ТПФ, ТТФ [2, 16, 19, 24]. Значно менше досліджень, присвячених катаболізму тіаміну в організмі [8, 11]. Така ситуація пов'язана з тим, що значна кількість дослідників вважає єдиною біологічно активною формою цього вітаміну його кофермент – тіамінпірофосфат.

Проте в літературі накопичилась певна кількість досліджень, які свідчать про те, що деякі катаболіти тіаміну виконують свої специфічні функції в організмі, які ніяким чином не пов'язані з коферментною дією [10–12].

У ході попередніх наших досліджень встановлено, що один з кінцевих катаболітів тіаміну – тіохром виконує специфічні регуляторні функції [9, 11, 12]. Тому метою даної роботи було з'ясувати роль тіаміну та його метаболітів у регуляції ферментів протеолітичної системи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на 50 білих щурах лінії Вістар. Використовували дорослих, статевозрілих тварин (3–4 місяці) масою 180–200 г. За добу до експерименту припиняли їх годувати, але продовжували поїти водою [6]. Усі маніпуляції зі щурами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварин виводили з експерименту електричним струмом.

У дослідженні використовували тканину нирок.

© С.А. Петров, О.В. Устянська, 2011.

Очищені ферменти отримано за допомогою стандартної методики [5, 13], яка була модифікована в нашій лабораторії [7].

З тканини нирок щурів методами екстракції, діалізу, фракціонування $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, хроматографії на сефадексі G–50 отримано препарати частково очищеного катепсину L.

Для дослідження регуляції тіаміном та його похідними активності частково очищеного катепсину L було взято 1 М розчин тіаміну та еквімолярні розчини бенфотіаміну, тіохрому і тіамінпірофосфату. Визначення активності катепсину L проводили за методом Чорної [18] в модифікації Вовчук, Чернадчук [3]. Основа методу полягає у визначенні кількості продуктів гідролізу білкового субстрату – азоказеїну, які не осідають при додаванні 10 % трихлороцтової кислоти. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 366 нм на спектрофотометрі СФ–26.

Питому активність виражали в мкМ тирозину на 1 мг білка.

Визначення активності пепсину та трипсину проводили за методом Anson [20], який оснований на зниженні екстинції розчину гемоглобіну після його руйнування відповідним ензимом.

Білок визначали за методом Lowry [22].

Для розрахунку отриманих результатів застосовували методи статистичного аналізу з використанням параметричних критеріїв оцінки розбіжності між вибірками [14].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для з'ясування можливих механізмів участі метаболітів тіаміну в регуляції активності протеолітичних ферментів було досліджено вплив тіаміну і

його метаболітів на активність очищених препаратів пепсину і трипсину. Ці дані наведено в таблиці.

Як видно з наведених даних, тіамін у концентраціях від 5,6 до 100,8 мг% не змінював активність пепсину і трипсину, додавання ТПФ у концентраціях від 33,6 до 100,8 мг% знижувало активність обох досліджених ферментів. Тіохром підвищував активність пепсину в концентраціях від 11,2 до 33,6 мг%, можливо, за рахунок приєднання гідрофобних ділянок

молекули пепсину. На активність трипсину цей метаболіт тіаміну не впливав.

Аналізуючи дані, одержані з попередніх робіт у нашій лабораторії, в сукупності з результатами експериментів *in vivo* [8, 11], можна вважати, що тіохром підвищує протеолітичну активність у шлунку за рахунок активації пепсину. Підвищення протеолітичної активності в цьому органі при надходженні тіаміну і ТПФ, очевидно, пов'язане з перетворенням даних сполук на тіохром.

Таблиця – Вплив тіаміну та його метаболітів на активність пепсину і трипсину (мг пептидів/г білка; год)

Протеїнази	Концентрація метаболітів тіаміну, мг%	Тіамін	ТПФ	Тіохром	Контроль
Пепсин	5,6	2,00±0,21	2,17±0,05	2,44±0,24	2,21±0,12
	11,2	2,21±0,11	2,31±0,07	2,92±0,14	
	16,8	2,16±0,19	2,13±0,08	2,98±0,18	
	33,6	2,12±0,08	1,70±0,10	2,92±0,18	
	67,2	2,10±0,12	1,42±0,06		
	100,8	2,02±0,14	1,50±0,10		
Трипсин	5,6	1,84±0,04	1,77±0,05	2,12±0,09	1,89±0,08
	11,2	1,89±0,03	1,86±0,04	2,03±0,18	
	16,8	1,76±0,03	1,99±0,08	2,18±0,12	
	33,6	1,59±0,10	1,32±0,06		
	67,2	1,70±0,15	1,42±0,07		
	100,8	1,71±0,16	1,22±0,07		

У наших дослідженнях метаболізму тіаміну в організмі білих щурів було показано, що тіамін в цей період значною мірою залишається у вільному стані, але 30 % його окиснюється в тіохром [11].

Отримавши дані про різноспрямовану дію метаболітів тіаміну на протеїназну активність пепсину і трипсину, ми зацікавилися можливістю регуляції цим вітаміном інших протеолітичних ферментів. Таким ферментом було вибрано катепсин L.

Вибір цього катепсину пов'язаний з тим, що в системі катепсинів він є одним з найактивніших ферментів, що роблять вирішальний внесок в ініціацію протеолізу [1, 4, 15, 18, 21, 23]. Також даний катепсин є тіоловою протеїназою, активність якої залежить від наявності сульфгідрильних груп. Катепсин L цілком може реагувати з тіаміном та його похідними, оскільки відомо, що один із способів протеалізації тіаміну полягає в розкритті його тіазолового кільця з утворенням тіамінтіолу і надалі змішаних тіаміндисульфідів [17].

Було досліджено регуляцію тіаміном та його похідними активності даного катепсину. Для дослідження ми взяли еквімолярні роз-

чини тіаміну, бенфотіаміну, тіохрому і тіамінпірофосфату.

Як видно з даних, наведених на рисунку 1, тіамін і тіохром проявляли активуючу дію на катепсин L; ТПФ не мав достовірно значущого активуючого ефекту, що пов'язано з особливостями структури цих речовин і, можливо, з тіолдисульфідною взаємодією між молекулами тіаміну та активним центром катепсину L.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про те, що до некоферментних функцій тіаміну слід додати ще одну – некоферментну активацію протеолітичних ферментів, зокрема пепсину, трипсину та катепсину L.

ВИСНОВКИ. 1. Катаболіт тіаміну – тіохром підвищує активність протеолітичних ферментів (пепсину та трипсину), можливо, за рахунок приєднання гідрофобних ділянок молекул цих ферментів.

2. Тіамін і тіохром підвищують активність частково очищеного катепсину L, що, можливо, пов'язано з тіолдисульфідною взаємодією між молекулами тіаміну та активним центром досліджуваного ферменту.

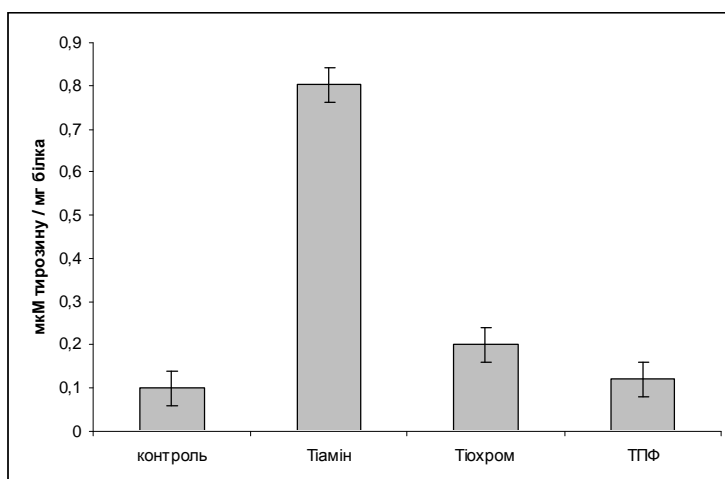


Рис. 1. Вплив тіаміну та його похідних на активність частково очищеного препарату катепсину L (мкМ тирозину/мг білка за хвилину), n=50.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Веремеєнко К. Н. Активність цистеїнових протеїназ і їх інгібіторів в ракових опухлях гортани / К. Н. Веремеєнко, А. І. Кизим, Т. В. Семешкієва // Укр. біохім. журн. – 2005. – **77**, № 2. – С. 159–161.
- Взаємодія тіамінкінази мозку щурів із тіаміном і його похідними / С. Ю. Пилипчук, Ю. М. Пархоменко, З. С. Протасова [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 2. – С. 51–56.
- Вовчук І. Л. Активність тканинних катепсин-L-подібних протеїназ у жінок онкопатології тіла матки / І. Л. Вовчук, С. С. Чернадчук // Укр. біохім. журн. – 2004. – № 2. – С. 56–60.
- Жанаєва С. Я. Прогностическа значимість цистеїнових протеаз лизосом в определении ефективності противоопухолевої терапії / С. Я. Жанаєва, А. І. Дьяков, Т. А. Алексеєнко // Биомедицинская химия. – 2009. – **55**. – С. 89–97.
- Жлоба А. А. Очищення, ідентифікація і властивості цистеїнових катепсинів тканин тварин // Укр. біохім. журн. – 1986. – **58**, № 4. – С. 100–111.
- Западнюк І. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария – К. : Вища школа, 1974. – 304 с.
- Пат. № 46633 Україна, МПК (2009), С12N 9/50, С12N 9/64. Спосіб визначення активності матричної металопротеїнази-2 / Вовчук І. Л. ; заявник та патентодержатель Вовчук І. Л. – № u 2009 08087 ; заявл. 31.07.09 ; опубл. 25.12.09, Бюл. № 24.
- Петров С. А. Вивчення метаболізму тіаміну в органах і тканинах мишей in vivo та in vitro / С. А. Петров // Фізіол. журн. – 1992. – **38**, № 1. – С. 69–80.
- Петров С. А. Ингибирование алкогольдегидрогеназы тиохромом / С. А. Петров // Укр. біохім. журн. – 1992. – **64**, № 6. – С. 91–94.
- Петров С. А. Некоферментные эффекты тиаміна і его метаболітів // Біомедицина хімія. – 2006. – **52**. – С. 335–345.
- Петров С. А. Регуляція тиаміном і его метаболітами процесів формування і обміну амінокислот в організмі : автореф. дисс. на соискание учен. степени д-ра биол. наук : спец. 03.00.04 “Биохимия” / Петров Сергей Анатольевич ; Институт радиобиологии Академии наук Беларуси. – Минск, 1992. – 32, [1] с., включая обл. : с. 12.
- Петров С. А. Роль катаболітів тіаміну в регуляції обміну аміно- і кетокислот / С. А. Петров // IX Український біохімічний з'їзд : тези доп. – Х., 2006. – С. 163.
- Практическое руководство по энзимологии / под ред. Г. А. Кочетова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. школа, 1980. – 272 с.
- Рокицький П. Ф. Біохімічна статистика / П. Ф. Рокицький. – Мінськ : Вища школа, 1973. – 320 с.
- Руденська Г. Н. Цистеїнові протеїнази мікроорганізмів і вірусів / Г. Н. Руденська, Д. В. Пупов // Біохімія. – 2008. – **73**. – С. 3–17.
- Сидорова А. А. Характеристика тиаминтрифосфатазы плазматической мембраны нервных клеток / А. А. Сидорова, С. П. Степаненко, Ю. М. Пархоменко // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 3. – С. 57–61.
- Степура А. І. Роль тиольної форми тиаміна в обміні оксида азота / А. І. Степура, Т. П. Пилецкая, И. И. Степура // Биохимия. – 2005. – **70**. – С. 416–429.

18. Чёрная В. И. Катепсина L из опухоли мозга человека. Очистка и содержание / В. И. Чёрная // Укр. біохім. журн. – 1998. – **70** (5). – С. 97–103.
19. Янчий О. Р. Внутриклеточная локализация тиаминсвязывающих белков печени и почек крыс / О. Р. Янчий, Ю. М. Пархоменко, Г. В. Донченко // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 6. – С. 111–114.
20. Anson M. L. The estimation of pepsin with hemoglobin / M. L. Anson, A. E. Misky // L. Gen. Physiol. – 1932. – **16**, № 1. – P. 59–67.
21. Buhling F. Lysosomal cysteine proteases in the lung: role in protein processing and immunoregulation / F. Buhling, N. Waldburg // Eur. Respir. J. – 2004. – **23**, № 4. – P. 620–628.
22. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosenbrough, A. Z. Fan [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265–275.
23. Stoka V. Lysosomal cysteine proteases: structural features and their role in apoptosis / V. Stoka, B. Turk, V. Turk // IUBMB Life. – 2005. – **57**, № 4–5. – P. 347–353.
24. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / I. E. Gulyai, A. F. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – **60**. – P. 1477–1480.

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

РЕГУЛЯЦИЯ ТИАМИНОМ И ЕГО МЕТАБОЛИТАМИ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Резюме

Исследовано роль тиамин и его метаболитов в регуляции ферментов протеолитической системы (пепсина, трипсина и катепсина L). Установлено, что метаболит тиамин – тиохром способен повышать активность пепсина, трипсина. Тиамин и тиохром повышают активность частично очищенного препарата катепсина L, что, возможно, связано с тиолдисульфидным взаимодействием между молекулами тиамин и активным центром исследуемого фермента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тиамин, тиохром, тиаминпирофосфат, протеолитические ферменты, некоферментные функции.

S.A. Petrov, O.V. Ustianska
I.I. MECHNYKOV ODESSA NATIONAL UNIVERSITY

REGULATION BY THIAMINE AND ITS METABOLITES ACTIVITIES OF SOME PROTEOLYTIC ENZYMES

Summary

In the article the role of thiamine and its metabolites in adjusting of enzymes of the proteolytic system (pepsin, trypsin and cathepsin L) has been investigated. It has been determined that metabolite of thiamine – a thiochrome is capable to raise the activity of proteolytic enzymes of pepsin and trypsin. The thiamine and its catabolite thiochrome promotes activity of the partly cleared cathepsin L, that possibly is related to thioldisulfide interactions between the molecules of thiamine and active center of the investigated enzyme.

Отримано 24.12.10

Адреса для листування: С.А. Петров, Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, пров. Шампанський, 2, Одеса, 65058, Україна.

**ПОВТОРНЕ ОКСИДАНТНЕ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ПАНКРЕОНЕКРОЗІ У ЩУРІВ**

Стаття присвячена вивченню оксидантного ураження печінки при експериментальному гострому гепатиті та панкреонекрозі у щурів. Встановлено, що на тлі змодельованих патологічних процесів через 48 год після ініціації захворювань спостерігаються повторне погіршення функціонального стану печінки, зростання активності перекисного окиснення ліпідів та ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний панкреонекроз, експериментальний гепатит, оксидантне ураження печінки.

ВСТУП. Захворювання печінки та підшлункової залози займають одне з провідних місць за частотою виникнення та летальністю серед населення [3, 12]. Незважаючи на достатню глибину класичних досліджень механізмів уражень цих органів, в їх патогенезі залишається багато невивчених аспектів, зокрема щодо зв'язків між кисневим обміном, активністю перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту (АОЗ) і функціональним станом на різних стадіях захворювання та етапах його лікування.

Розвиток токсичного гепатиту супроводжується активацією як дегенерації, так і регенерації печінки, й співвідношення цих процесів має вирішальний вплив на результат лікування захворювання. Швидкість регенерації залежить від того, наскільки ефективний енергетичний метаболізм гепатоцитів. Останній залежить від обміну кисню як у печінці, так і в організмі в цілому. Питання щодо локального та загального кисневого балансу при токсичних гепатитах досліджено недостатньо, отримані результати мають суперечливий характер [13]. Нез'ясованими залишаються аспекти хронофізіології та хронофармакології токсичних гепатитів [9].

Досить схожим до токсичного гепатиту є ураження печінки, яке виникає при панкреонекрозі [3]. Проблеми патогенезу та лікування останнього не вирішено, про що свідчить надзвичайно високий рівень летальності серед пацієнтів з панкреонекрозом, який сягає

в середньому 70 %. Стан кисневого обміну та взаємозв'язки між ПОЛ, АОЗ, функціональним станом печінки при цій патології потребують подальшого дослідження.

Метою роботи було з'ясувати особливості оксидантного ураження печінки в динаміці експериментального гепатиту та панкреонекрозу в щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У 54 нелінійних білих щурів-самців масою 160–180 г викликали експериментальний токсичний гепатит шляхом внутрішньошлункового одноразового введення 50 % олійного розчину CCl_4 у дозі 0,2 мл на 100 г маси чистої речовини [4]. У такій же кількості тварин викликали панкреонекроз за методикою М. Ф. Мосенцева (2000) [1]. Остання передбачає обробку підшлункової залози хлоретилом після виконання лапаротомії під кетаміновим наркозом. У цьому випадку гострий панкреатит переходить у панкреонекроз приблизно через 20 год після ураження хлоретилом. Контрольну групу склали 10 інтактних тварин. Після ініціації захворювань щури вільно рухались, їм давали пити. Щурів з гепатитом годували, а тварини з панкреонекрозом мали доступ тільки до води (для забезпечення функціонального спокою підшлункової залози). Піддослідних тварин поділили на чотири групи, їх обстежували через 12, 24, 36 і 48 год після моделювання досліджуваних патологічних процесів. Під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг на кілограм маси) визначали сатурацію крові в стегновій та портальній венах [10]. За допомогою метаболічного візка досліджували споживання кисню тваринами.

© Ю.І. Сушко, Р.М. Ляхович, О.В. Олійник, А.А. Гудима, 2011.

Після цього забирали кров і тканину печінки для біохімічних досліджень. У гомогенатах печінки визначали концентрацію ТБК-активних продуктів ПОЛ [6] та вміст SH-груп [2], у сироватці крові встановлювали вміст дієнових і триєнових кон'югатів (ДК і ТК) [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [11], каталази (КТ) [7], а також активність аспартат- та аланінамінотрансфераз (АЛАТ та АСАТ) за методиками для біохімічного аналізатора Humalyzer-2000. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакета програм STATISTIKA. Експеримент відповідав вимогам біоетики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, наведені в таблиці й на рисунках 1 і 2, динаміка змін досліджуваних показників через 12, 24, 36 та 48 год після моделювання токсичного гепатиту та панкреонекрозу була дуже подібною. Різниця полягала в тому, що на тлі моделювання токсичного гепатиту максимальне погіршення більшості досліджуваних показників спостерігали через 12–24 год після ініціації патології, на фоні панкреонекрозу – через 24–36 год.

При порівнянні показників насичення гемоглобіну киснем у всіх тварин з обома видами патології видно, що в портальній вені вони нижчі, ніж у стегновій. Це можна пояснити пришвидшенням метаболізму в органах шлунково-кишкового тракту за умов патології травної системи порівняно з таким у м'язах стегна, які під час експерименту перебували в стані спокою.

Через 12 год після ініціації гепатиту спостерігали зменшення споживання кисню та зростання насичення гемоглобіну киснем у крові стегнової вени в 1,35 раза ($p < 0,001$), що свідчить про пригнічення основного обміну через 12 год після ініціації гострого токсичного ураження печінки.

На фоні обох патологічних моделей відбувалось достовірне зростання ПОЛ. Максимальні значення ТБК-активних продуктів ПОЛ спостерігали через 24 год після ініціації обох видів патології. При гепатиті зростання становило 513,5 % ($p < 0,001$), при панкреонекрозі – 237,1 % ($p < 0,001$).

Максимальний рівень ДК за умов гепатиту зростав у 2,92 раза через 24 год ($p < 0,001$), панкреонекрозу – в 3,55 раза через 12 год ($p < 0,001$).

Таблиця – Показники функціонального стану печінки, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту в щурів з панкреонекрозом і токсичним гепатитом ($M \pm m$)

Показник	Патологія	Здорові тварини	Час від початку моделювання захворювання			
			12 год	24 год	36 год	48 год
Sv, стегнова вена, %	гепатит	55,0 \pm 3,5	74,5 \pm 2,5*	64,3 \pm 4,2	62,3 \pm 3,5	63,7 \pm 3,8
	панкреонекроз		55,6 \pm 4,3	59,0 \pm 3,5	61,0 \pm 3,0	61,3 \pm 2,4
Sv, ворітна вена, %	гепатит	49,3 \pm 3,8	47,3 \pm 3,5	41,3 \pm 3,6	42,2 \pm 3,5	33,0 \pm 2,0*
	панкреонекроз		45,0 \pm 2,4	44,5 \pm 2,5	44,7 \pm 2,0	24,7 \pm 1,5*
Споживання кисню, мл·кг ⁻¹ ·хв ⁻¹	гепатит	5,00 \pm 0,62	4,25 \pm 0,32	5,42 \pm 0,35	5,41 \pm 0,30	5,79 \pm 0,25
	панкреонекроз		4,60 \pm 0,25	4,50 \pm 0,15	5,05 \pm 0,25	5,86 \pm 0,25
АЛАТ, од·л ⁻¹	гепатит	84,6 \pm 5,0	236,2 \pm 7,4*	684,6 \pm 24,8*	488,9 \pm 16,8*	544,6 \pm 15,6*
	панкреонекроз		245,2 \pm 9,9*	300,1 \pm 10,2*	257,4 \pm 12,4*	291,5 \pm 12,3*
АСАТ, од·л ⁻¹	гепатит	148,2 \pm 6,2	320,6 \pm 10,8*	526,6 \pm 12,8*	394,6 \pm 14,6	462,8 \pm 11,4*
	панкреонекроз		300,1 \pm 16,1*	342,1 \pm 10,1*	290,3 \pm 9,8*	321,1 \pm 12,6*
SH-групи, мкмоль·г ⁻¹	гепатит	0,49 \pm 0,02	0,98 \pm 0,03*	5,15 \pm 0,02*	1,15 \pm 0,02*	0,62 \pm 0,03
	панкреонекроз		0,57 \pm 0,02	1,14 \pm 0,02*	1,05 \pm 0,03*	0,66 \pm 0,04

Примітка. * – результати достовірні ($p < 0,001$) стосовно здорових тварин.

У відповідь на зростання ПОЛ відбувалась активація обох ланок АОЗ. Через 24 год після ініціації токсичного гепатиту активність КТ максимально підвищувалась у 9,0 разів ($p < 0,001$), СОД – у 26,7 раза ($p < 0,001$); при панкреонекрозі – відповідно у 4,9 раза через 36 год ($p < 0,001$) та у 49,2 раза через 24 год ($p < 0,001$). Кількість SH-груп збільшувалась до найвищих значень через 24 год на тлі обох захворювань, а потім поступово зменшувалась до величин, що достовірно не відрізнялись від контрольних через 48 год після початку досліджу.

Таким чином, отримані дані свідчать про розвиток гіпоксичних процесів у портальній системі на фоні обох видів патології, зростання ПОЛ та компенсаторної відповіді організму на ці процеси у вигляді активації АОЗ.

Відомо, що гіпоксія має провідне значення у механізмах розвитку захворювань печінки. При цьому одним із несприятливих її проявів є активація ПОЛ, яка призводить до пошкодження гепатоцитів на мембранному рівні [9, 12]. Інтенсивність ПОЛ залежить від багатьох факторів і пов'язана з активністю пато-

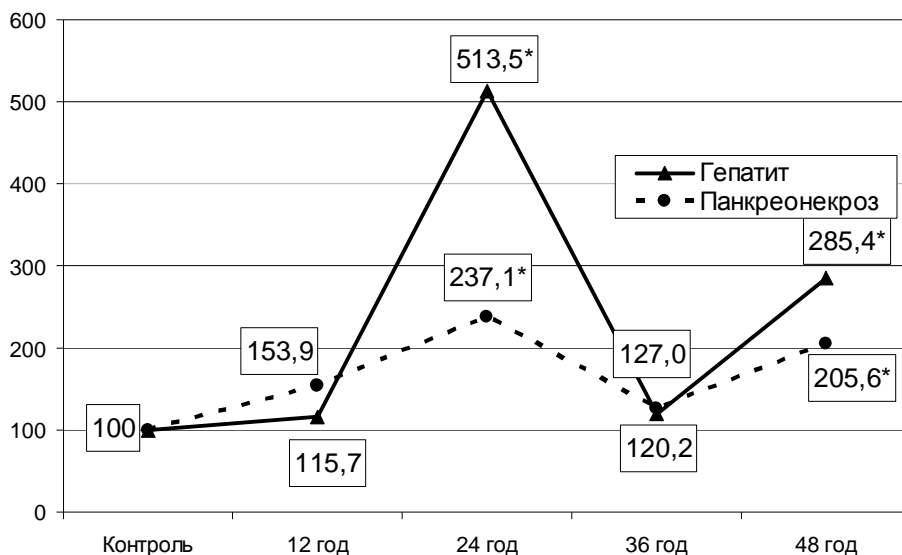


Рис. 1. Динаміка вмісту в сироватці крові ТБК-активних продуктів ПОЛ на тлі гострого гепатиту та панкреонекрозу (у відсотках до контрольної групи). * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

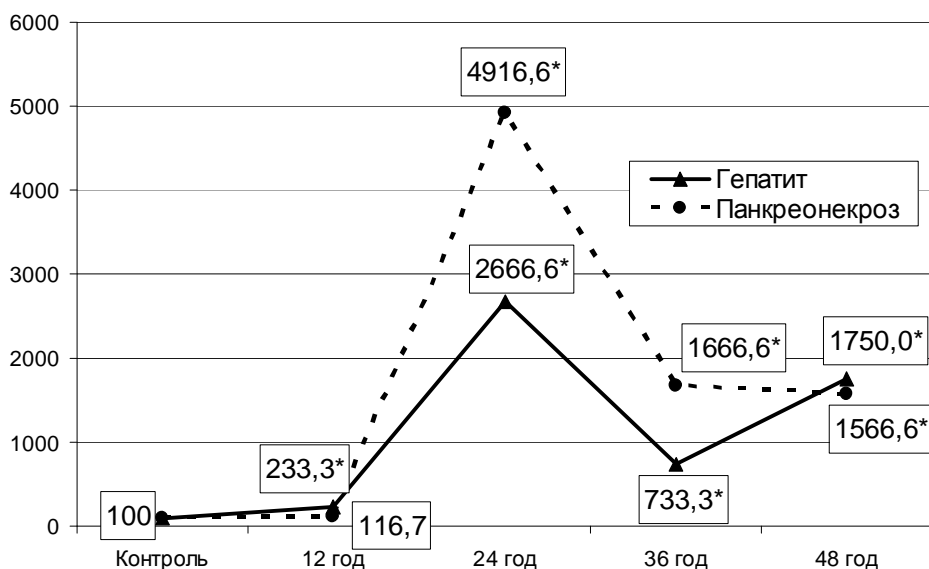


Рис. 2. Динаміка активності СОД у гомогенаті печінки на тлі гострого гепатиту та панкреонекрозу (у відсотках до контрольної групи). * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

логічного процесу. Після утворення вільних радикалів у мембранах ендоплазматичного ретикулума їх надлишкова кількість ініціює аномальну активацію ПОЛ у біомембранах субклітинних структур гепатоцитів, що призводить до зміни фізико-хімічного стану ліпідного матриксу, зменшення гідрофобності ліпідного шару мембран, порушення білково-ліпідних і ліпідно-ліпідних взаємозв'язків, пригнічення активності ферментів, порушення проникності мембран для іонів, аж до загибелі гепатоцитів. Разом із тим, активація антиоксидантної системи викликає регресію процесів запалення в печінці, стабілізацію загального стану, нор-

малізацію або поліпшення функціонального стану гепатоцитів [14].

Отримані нами дані дають можливість аналізувати досі не досліджені аспекти патогенезу гепатиту та панкреонекрозу. Одержані результати показали, що найгірші значення більшості показників, які характеризували кисневий обмін (сатурація, споживання кисню), ПОЛ (ДК, МДА, ТК), АОЗ (КТ, СОД, SH-групи), функціональний стан печінки (АлАТ, АсАТ), спостерігались через 24 год після виникнення захворювання. Через 36 год більшість показників змінювалась у бік норми, а через 48 год знову погіршувалась. Звертає на себе

увагу достовірне в 1,5 та 1,9 раза (гепатит і панкреонекроз відповідно) ($p < 0,001$) зменшення сатурації крові у ворітній вені через 48 год після ініціації захворювань. На думку одного з авторитетних дослідників кисневого обміну П. Марино, цей факт може свідчити про зростання енергетичних процесів в органі, звідки відтікає кров, у даному випадку – в кишках [8]. Відомо, що при багатьох патологічних станах відбувається централізація кровообігу. За умов розвитку патології печінки можна думати про збільшення печінкового кровотоку у відповідь на зростання функціонального навантаження на цей орган. Після деякої нормалізації функцій печінки через 36 год після ініціації захворювань ми спостерігали зростання енергетичного обміну в кишках і погіршення функцій печінки. Відомо, що на фоні панкреонекрозу та печінкової недостатності при погіршенні кровопостачання кишок у них відбуваються активізація патологічної флори, збільшення кількості продуктів її життєдіяльності та зростання системної інтоксикації. Останні зменшуються на фоні активації дезінтоксикаційної функції печінки. Достовірне зниження насичення гемоглобіну киснем у крові ворітної вени означає погіршення доставки кисню до печінки, оскільки більша частина

крові до цього органа потрапляє саме по системі ворітної вени. Це потребує додаткового навантаження на печінку, що супроводжується погіршенням показників, які характеризують її функціональний стан. Подібні процеси, тільки більш виражені, відбуваються в органах при їх реперфузійному пошкодженні. На думку авторів, значне зменшення сатурації портальної крові через 36 год від початку захворювання потребує корекції, яку, ймовірно, найпростіше було б проводити за допомогою методики ентеральної оксигенації. Проте таке припущення вимагає виконання додаткових досліджень.

ВИСНОВОК. У щурів на тлі змодельованих токсичного гепатиту та панкреонекрозу через 48 год після ініціації захворювань спостерігаються повторне погіршення функціонального стану печінки, зростання активності перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту.

У перспективі планується дослідження коригувального впливу ентеральної оксигенації як патогенетично обґрунтованого чинника боротьби з гіпоксичним ураженням печінки за умов гострого токсичного гепатиту та панкреонекрозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Величенко В. Острый панкреатит в эксперименте / В. Величенко. – Мн. : Беларусь, 1971. – 112 с.
2. Веревкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и S-S-связей с белками при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты / И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 223–228.
3. Гостищев В. К. Панкреонекроз и его осложнения, основные принципы хирургической тактики / В. К. Гостищев, В. А. Глушко // Хирургия. – 2003. – № 3. – С. 50–54.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 210–222.
5. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников – М. : Минск, 1982. – 311 с.
6. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
7. Королук М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Марино П. Интенсивная терапия / П. Марино; пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 1999. – 634 с.
9. Скакун Н. П. Влияние антиоксидантов на перекисное окисление липидов и состояние печени / Н. П. Скакун, Э. И. Блихар // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 5. – С. 112–114.
10. Утверидзе Г. А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения / Г. А. Утверидзе. – Тбилиси, 1988. – 30 с.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Сеней // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок ; пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 2005. – 864 с.
13. Marino P. The ICU Book / P. Marino / 2nd ed. – Philadelphia Lippincott. – 1997. – 928 p.
14. Superoxide anion production by the mitochondrial respiratory chain of hepatocytes of rats with experimental toxic hepatitis / A. Shiryayeva, A. Arkadyeva, L. Emelyanova [et al.] // J. Bioenerg. Biomembr. – 2009. – 41. – P. 379–385.

ПОВТОРНОЕ ОКСИДАНТНОЕ ПОРАЖЕНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ И ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ В КРЫС

Резюме

Статья посвящена изучению оксидантного поражения печени при экспериментальном остром гепатите и панкреонекрозе в крыс. Установлено, что на фоне смоделированных патологических процессов через 48 часов после инициации заболеваний наблюдаются повторное ухудшение функционального состояния печени, возрастание активности перекисного окисления липидов и ферментативного звена антиоксидантной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный панкреонекроз, экспериментальный гепатит, оксидантное поражение печени.

Yu.I. Sushko, R.M. Liahovych, O.V. Oliynyk, A.A. Hudyma
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

REPEATED OXIDANT LIVER DAMAGE AT EXPERIMENTAL HEPATITIS AND PANCREONECROSIS IN RATS

Summary

This paper is devoted to the study of oxidative liver damage at experimental acute hepatitis and pancreonecrosis in rats. It was stated that on the background of the simulated pathological processes in 48 hours after initiation of the diseases, we can observe redeterioration of liver dysfunction, an increase of the activity of lipid peroxidation and antioxidant enzyme level.

KEY WORDS: experimental pancreonecrosis, experimental hepatitis, oxidative liver damage.

Отримано 21.12.10

Адреса для листування: Ю.І. Сушко, вул. Шевченка, 370, кв. 9, Львів, 79069, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ ОКРЕМИХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ СТАРИХ ЩУРІВ НА ДВОБІЧНУ КАРОТИДНУ ІШЕМІЮ-РЕПЕРФУЗІЮ ЗА ПАРАМЕТРАМИ ПРОТЕО- ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Досліджено вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на показники протео- та фібринолітичної активності в структурах нової кори та полях гіпокампа дорослих і старих щурів. Установлено, що ішемія-реперфузія посилює всі або окремі показники протео- та фібринолітичної активності майже у всіх досліджених структурах мозку дорослих щурів і знижує їх у мозку старих тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мозок, каротидна ішемія-реперфузія, протеоліз, фібриноліз, старіння.

ВСТУП. Оксидативний стрес, який лежить в основі пошкодження мозкової тканини за умов ішемії-реперфузії, може ініціювати багато інших патогенетичних механізмів, здатних поглибити негативні наслідки порушення церебральної гемодинаміки [4, 9]. Одним із них є модифікація тканинної протео- та фібринолітичної активності, в результаті якої може змінюватися гомеостаз на клітинному рівні (транскрипція, трансляція та посттрансляційний процесинг), тканинному (секреція та інактивація нейропептидів), а також на рівні цілісного організму [9, 15]. До сьогодні неможливо дати однозначну оцінку ефектам активації протеолітичних систем нервової тканини в контексті співвідношення механізмів її пошкодження та виживання. З одного боку, надмірна активація деяких протеолітичних ферментів, зокрема калпаїну, який бере участь у пускових механізмах ексайтотоксичності, посилює небезпеку ішемічного пошкодження мозку, активує регулятори апоптозу [13, 15, 18]. Активація металопротеїназ призводить до підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єру, виходу в кров і ліквор значної кількості нейроспецифічних білків та формування автоімунної реакції, спрямованої на посилення нейродеструктивних процесів у мозку [1, 2, 5, 6]. З іншого боку, активація протеаз необхідна для елімінації пошкоджених білків, зокрема в зоні ішемічного ядра [10], для метаболічного утворення стреслімітуючих нейропептидів – ендорфінів, α -передсердного натрійуретичного пептиду енкефалінів тощо, здатних обмежувати пошкоджувальні впливи

[16, 17], а також для підтримання балансу про- та антикоагуляційних механізмів [3].

Відомо, що старіння мозку супроводжується змінами прооксидантно-антиоксидантного статусу, кальцієвого гомеостазу, зростанням оксидативної модифікації білків, у тому числі ферментів [11, 12, 14], що зумовлює доцільність вивчення реакції протео- та фібринолітичних систем на ішемію-реперфузію головного мозку в старих тварин.

Метою роботи було провести порівняльний аналіз реакції протео- та фібринолітичної активності тканини нової кори і гіпокампа на двобічну каротидну ішемію-реперфузію в дорослих та старих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на дорослих (5 міс.) і старих (22 міс.) білих лабораторних щурах-самцях. У частини тварин кожної вікової групи моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом 20-хвилинного двобічного кліпсування загальних сонних артерій та односторонньої реперфузії [7]. Контролем слугували псевдооперовані тварини. Усі втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

У гомогенатах кори лобової (КЛЧ) та потиличної часток (КПЧ), полів гіпокампа СА1, СА2, СА3 щурів обох вікових груп контрольних та дослідних серій після завершення часу спостереження визначали показники тканинної протео- (лізис низько-, високомолекулярних білків і колагену) та фібринолітичної активності (сумарний, ферментативний і неферментатив-

ний фібриноліз) [8] із використанням реактивів Simko Ltd, Україна.

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Після двобічної каротидної ішемії-реперфузії в КЛЧ і КПЧ п'ятимісячних щурів зріс лізис високомолекулярних білків та колагену (табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного протеолізу в корі лобової та потиличної часток дорослих і старих щурів-самців ($M \pm m$, $n=11$)

Група спостереження	Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за 1 год)	Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за 1 год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за 1 год)
Кора лобової частки			
Контроль 5 міс.	102±2,93	91,5±2,74	5,51±0,141
Ішемія 5 міс.	98,3±1,94	110±3,18 $p_1 < 0,001$	6,16±0,163 $p_1 < 0,01$
Контроль 22 міс.	80,2±3,39 $p_2 < 0,005$	72,8±3,49 $p_2 < 0,005$	4,21±0,232 $p_2 < 0,01$
Ішемія 22 міс.	102±4,91 $p_3 < 0,005$	76,1±3,38	3,09±0,249 $p_3 < 0,01$
Кора потиличної частки			
Контроль 5 міс.	113±2,09	77,9±2,23	4,67±0,137
Ішемія 5 міс.	116±3,89	105±3,10 $p_1 < 0,001$	5,59±0,193 $p_1 < 0,001$
Контроль 22 міс.	91,5±3,77 $p_2 < 0,002$	86,2±5,71	3,02±0,291 $p_2 < 0,001$
Ішемія 22 міс.	80,7±3,17 $p_3 < 0,01$	68,4±3,95 $p_3 < 0,01$	4,10±0,213 $p_3 < 0,05$

Примітка. У всіх таблицях даної статті – достовірність змін порівняно з показниками контрольних п'ятимісячних щурів (p_1); контрольних 22-місячних щурів (p_2); достовірність міжвікових відмінностей (p_3).

Порівняльний аналіз активності процесів протеолізу в контрольних щурів зазначених вікових груп показав, що в старих щурів у КЛЧ лізис низько-, високомолекулярних білків та колагену, а в КПЧ лізис низькомолекулярних білків і колагену нижчий, ніж у дорослих.

Ішемія-реперфузія мозку в КЛЧ старих щурів призвела до зростання лізису азоальбуміну та зниження лізису азоколу. В КПЧ лізис низько- та високомолекулярних білків зменшився, а лізис колагену збільшився.

У полі гіпокампа СА1 дорослих щурів ішемія-реперфузія знизилася лізис низькомолекулярних білків, у полях СА2 і СА3 – посилила лізис колагену та високомолекулярних білків (табл. 2). При порівнюванні конститутивної протеолітичної активності виявлено, що в полі СА1 старих щурів нижчий, ніж у дорослих, лізис низькомолекулярних білків, у полі СА2 – лізис низько- та високомолекулярних, у полі СА3 – лізис колагену. В останньому полі старих тварин також вища активність лізису високомолекулярних білків. Після ішемії-реперфузії в полях гіпокампа СА1 та СА2 старих щурів зменшився лізис низькомолекулярних білків і колагену, в полі СА3 – лише колагену.

Аналіз фібринолітичної активності показав, що в КЛЧ та КПЧ і полі гіпокампа СА3 дорос-

лих щурів ішемія-реперфузія мозку підвищувала активність усіх складових фібринолізу, в полі гіпокампа СА1 – сумарного та ферментативного, у полі СА2 – сумарного та неферментативного (табл. 3, 4).

У досліджених структурах мозку старих щурів, за винятком поля гіпокампа СА3, виявлено зниження конститутивної активності всіх або окремих параметрів фібринолізу. Так, у КЛЧ та полях гіпокампа СА1 і СА2 22-місячних щурів менша сумарна та ферментативна фібринолітична активність, у КПЧ – сумарна, неферментативна та ферментативна.

На протипагу дорослим тваринам, у відповідь на ішемію-реперфузію в КЛЧ та КПЧ і полі гіпокампа СА1 старих щурів відбулося зниження сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності, у полі СА2 – сумарної та ферментативної, у полі СА3 – ферментативної.

ВИСНОВКИ. 1. За більшістю визначених показників майже у всіх досліджених структурах мозку конститутивна протео- та фібринолітична активність нижча в старих щурів.

2. У дорослих щурів двобічна каротидна ішемія-реперфузія посилює лізис високомо-

Таблиця 2 – Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного протеолізу в полях гіпокампа дорослих і старих щурів-самців (M±m, n=10)

Група спостереження	Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за 1 год)	Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за 1 год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за 1 год)
Поле гіпокампа CA1			
Контроль 5 міс.	123±2,89	92,2±2,46	5,89±0,175
Ішемія 5 міс.	102±4,60 p ₁ <0,005	98,9±3,38	6,41±0,300
Контроль 22 міс.	100±6,52 p ₂ <0,01	101±6,95	6,58±0,425
Ішемія 22 міс.	84,2±4,51 p ₃ <0,05	97,2±5,98	5,01±0,381 p ₃ <0,01
Поле гіпокампа CA2			
Контроль 5 міс.	112±2,96	89,2±2,12	5,29±0,112
Ішемія 5 міс.	116±3,29	110±3,26 p ₁ <0,001	7,37±0,289 p ₁ <0,001
Контроль 22 міс.	98,2±3,92 p ₂ <0,025	71,3±3,09 p ₂ <0,005	6,17±0,403
Ішемія 22 міс.	73,2±2,92 p ₃ <0,005	78,6±3,49	4,37±0,373 p ₃ <0,01
Поле гіпокампа CA3			
Контроль 5 міс.	128±4,01	96,4±2,01	5,10±0,132
Ішемія 5 міс.	119±5,06	117±3,31 p ₁ <0,005	7,01±0,117 p ₁ <0,001
Контроль 22 міс.	110±5,08	119±5,48 p ₂ <0,025	4,22±0,242 p ₂ <0,01
Ішемія 22 міс.	107±4,09	105±5,02	3,04±0,341 p ₃ <0,01

Таблиця 3 – Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного фібринолізу в корі лобової та потиличної часток дорослих і старих щурів-самців (M±m, n=10)

Група спостереження	Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)
Кора лобової частки			
Контроль 5 міс.	35,7±1,01	20,6±0,492	15,2±0,628
Ішемія 5 міс.	50,1±1,06 p ₁ <0,001	27,2±1,37 p ₁ <0,001	22,9±0,792 p ₁ <0,001
Контроль 22 міс.	27,1±2,01 p ₂ <0,005	19,1±1,72	8,01±0,389 p ₂ <0,001
Ішемія 22 міс.	20,1±1,39 p ₃ <0,025	14,7±0,481 p ₃ <0,05	5,41±0,492 p ₃ <0,005
Кора потиличної частки			
Контроль 5 міс.	50,1±0,508	24,2±0,982	25,9±0,461
Ішемія 5 міс.	58,1±0,785 p ₁ <0,001	29,7±0,588 p ₁ <0,001	28,4±0,606 p ₁ <0,005
Контроль 22 міс.	32,5±2,68 p ₂ <0,001	18,1±0,560 p ₂ <0,001	14,4±0,702 p ₂ <0,001
Ішемія 22 міс.	21,2±2,79 p ₃ <0,005	14,1±0,721 p ₃ <0,005	7,2±0,501 p ₃ <0,001

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 4 – Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного фібринолізу в полях гіпокампа дорослих і старих щурів-самців ($M \pm m$, $n=11$)

Група спостереження	Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)
Поле СА1			
Контроль 5 міс.	55,7±3,08	27,3±1,95	28,4±1,39
Ішемія 5 міс.	64,2±2,52 $p_1 < 0,05$	29,1±1,98	35,1±1,41 $p_1 < 0,01$
Контроль 22 міс.	47,7±1,91 $p_2 < 0,025$	23,8±0,682	23,9±0,538 $p_2 < 0,01$
Ішемія 22 міс.	38,6±0,878 $p_3 < 0,005$	21,1±0,569 $p_3 < 0,05$	17,5±0,462 $p_3 < 0,005$
Поле СА2			
Контроль 5 міс.	60,7±3,02	25,2±2,18	35,5±1,01
Ішемія 5 міс.	71,2±2,32 $p_1 < 0,01$	35,5±2,38 $p_1 < 0,01$	35,7±1,39
Контроль 22 міс.	51,0±1,29 $p_2 < 0,01$	21,6±0,861	29,4±0,872 $p_2 < 0,005$
Ішемія 22 міс.	45,1±1,32 $p_3 < 0,01$	23,5±0,952	21,6±0,911 $p_3 < 0,001$
Поле СА3			
Контроль 5 міс.	51,2±1,28	22,6±0,504	28,6±0,712
Ішемія 5 міс.	61,8±1,47 $p_1 < 0,001$	27,0±1,32 $p_1 < 0,01$	34,8±1,42 $p_1 < 0,01$
Контроль 22 міс.	56,1±2,72	26,6±2,19	29,5±1,01
Ішемія 22 міс.	55,7±2,09	31,0±1,97	24,7±1,52 $p_3 < 0,05$

лекулярних білків та колагену в усіх досліджених структурах, за винятком поля гіпокампа СА1, а також посилює всі або окремі складові фібринолітичної активності.

3. У старих щурів ішемія-реперфузія знижує лізис всіх або окремих параметрів протеолітичної активності в досліджених структурах мозку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аутоиммунные механизмы при ишемии / Н. Константинова, В. И. Скворцова, И. Еремин [и др.] // Аллергол. и иммунол. – 2005. – **6**, № 2. – С. 147–149.

2. Иммунохимическая верификация постинсультной хронизации нейродегенеративного процесса у крыс с окклюзией средней мозговой артерии / С. В. Петров, С. В. Лебедев, О. Ц. Турина, В. П. Чехонин // Нейрохимия. – 2005. – № 2. – С. 38–44.

3. Монастирський В. А. Коагулопатичні аспекти патогенезу загально-патологічних процесів / В. А. Монастирський // Журн. АМН України. – 2002. – **8**, № 2. – С. 238–258.

4. Оксидантный стресс и кислородный статус при ишемическом инсульте / В. И. Скворцова, Я. Р. Нарциссов, М. К. Бодыхов [и др.] // Журн. неврол. и психиатр. – 2007. – **107**, № 1. – С. 30–36.

5. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях центральной нервной системы у новорожденных / В. П. Чехонин, С. В. Лебедев, Д. В. Блинов [и др.] // Вопр. гин. акуш. и перинатол. – 2004. – **3**, № 2. – С. 50–61.

6. Прогностическое значение маркеров воспаления и аутоантител к нейроспецифическим антигенам у больных с острым ишемическим инсультом / Н. Ю. Рулева, П. Р. Камчатнов, Т. К. Люкова [и др.] // Аллергол. и иммунол. – 2004. – **5**, № 1. – С. 211.

7. Скибо Г. Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г. Н. Скибо // Патология. – 2004. – **1**, № 1. – С. 22–30.

8. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В. М. Магальяс, А. О. Міхеев, Ю. Є. Роговий та ін.]. – Чернівці, 2001. – 42 с.
9. Тимофійчук І. Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемні зміни фібрино- та протеолітичної активності в структурах проміжного мозку щурів / І. Р. Тимофійчук // Бук. мед. вісник. – 2004. – **8**, № 3–4. – С. 280–284.
10. Элиминация нейроспецифических белков из ЦНС (патогенетические и методические аспекты) / В. П. Чехонин, С. В. Лебедев, О. И. Гурина [и др.] // Вестн. РАМН. – 2006. – № 6. – С. 3–12.
11. Age-associated changes in central nervous system glycerolipid composition and metabolism / N. M. Giusto, G. A. Salvador, P. I. Castagnet [et al.] // Neurochem. Res. – 2002. – **27**, № 11. – P. 1513–1523.
12. Age-related changes in levels of tyrosine kinase B receptor and fibroblast growth factor receptor 2 in the rat inferior colliculus: Implications for neural senescence / T. Sato, T. S. Wilson, L. F. Hughes [et al.] // Neurosci. – 2001. – № 3. – P. 695–702.
13. Calpain-Mediated N-Cadherin Proteolytic Processing in Brain Injury / Y. N. Jang, Y. S. Jung, S. H. Lee [et al.] // J. Neurosci. – 2009. – **29**, № 18. – P. 5974–5984.
14. Effects of zinc supplementation on antioxidant enzyme activities in healthy old subjects / E. Mariani, F. Mangialasche, F. T. Feliziani [et al.] // Exp. Gerontol. – 2008. – **43**, № 5. – P. 445–451.
15. Neurotoxicity induced cleavage of p35 to p25 by calpain / M. S. Lee, Y. T. Kwon, M. Li [et al.] // Nature. – 2000. – **405**, № 8526. – P. 360–364.
16. P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis / M. Yamakuchia, C. D. Lottermanb, C. Baob [et al.] // PNAS. – 2010. – **107**, № 14. – P. 6334–6339.
17. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and functions / K. Tahaka // Proc. Jpn. Acad. Ser. Phys. Biol. Sci. – 2009. – **85**, № 1. – P. 12–36.
18. Zhao B.Q. Neurovascular proteases in brain injury, hemorrhage and remodeling after stroke / B. Q. Zhao, E. Teijima, E. H. Lo // Stroke. – 2007. – **38**, № 2. – P. 748–752.

Т.И. Бойчук

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА СТАРЫХ КРЫС НА ДВУСТОРОННЮЮ КАРОТИДНУЮ ИШЕМИЮ-РЕПЕРФУЗИЮ ПО ПАРАМЕТРАМ ПРОТЕО- И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Резюме

Исследовано влияние двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на показатели протео- и фибринолитической активности в структурах новой коры и полях гиппокампа взрослых и старых крыс. Установлено, что ишемия-реперфузия усиливает все или некоторые показатели протео- и фибринолитической активности почти во всех исследованных структурах мозга взрослых крыс и снижает их в мозге старых животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мозг, каротидная ишемия-реперфузия, тканевой протеолиз, фибринолиз, старение.

T.I. Boychuk

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

PECULIARITIES OF SOME BRAIN STRUCTURE REACTION OF OLD RATS ON BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION BY THE PARAMETERS OF FIBRINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY

Summary

The effect of bilateral carotid ischemia-reperfusion on the proteo- and fibrinolytic activity parameters in the neocortex structures and hippocampal zones of adult and old male rats has been investigated. It has been revealed that ischemia-reperfusion increases all or some parameters of proteo- and fibrinolytic activity almost in all studied brain structures of adult rats and decreases them in old rats.

KEY WORDS: brain, carotid ischemia-reperfusion, fibrinolysis, proteolysis, ageing.

Отримано 01.12.10

Адреса для листування: Т.І. Бойчук, Буковинський державний медичний університет, площа Театральна, 2, Чернівці, 58000, Україна.

**КОРИГУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ КСЕНОДЕРМОПЛАСТИКИ НА ПОКАЗНИКИ
ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ТЯЖКІЙ ТРАВМІ**

Основним фактором розвитку поліорганної недостатності, що визначає розвиток тяжкої травми, є ендогенна інтоксикація. Метою даного дослідження було з'ясувати патогенетичну роль ксенодермопластики в корекції ендотоксикозу при комбінованій травмі, ускладненій опіковою та скальпованою ранами. Після моделювання механічної травми, опіку на тлі політравми відмічали істотне збільшення молекул середньої маси (МСМ) та активності трансаміназ з максимумом на 7 добу спостереження. Ступінь зростання досліджуваних показників на тлі опіку суттєво переважав аналогічні після механічної травми. Нами встановлено, що використання ксенодермопластики з метою тимчасового заміщення травмованої шкіри позитивно впливає на загальний стан організму, сприяє зниженню концентрації МСМ та нормалізації активності АлАТ, АсАТ порівняно із застосуванням стерильної пов'язки, зрошеної антисептиком.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комбінована травма, опік, механічний дефект шкіри, ксенодермопластика, молекули середньої маси, аспаратамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза.

ВСТУП. Враховуючи те, що особливістю сучасного перебігу травми є постійна тенденція до зростання числа і тяжкості пошкоджень, однією з центральних проблем в сучасній медицині є проблема їх лікування. Множинні травми викликають в організмі комплекс змін, які охоплюють всі життєво важливі системи. Їх тяжкість, частота ускладнень і перебіг в основному залежать від площі та глибини ураження. Суттєву роль відіграє і характер ранового процесу. На тлі термічного опіку шкіри, завдяки потужному інтероцептивному впливу, викиду медіаторів запалення, ендотоксемії, відмічають системний патогенний вплив на організм [1, 2, 6, 9, 18]. Саме ендотоксикоз є однією з центральних ланок патогенезу тяжкої травми. Однією із систем організму, яка зазнає значних змін при політравмі, є система детоксикації. Порушення функціонування цієї системи призводить до розвитку синдрому ендогенної інтоксикації (ЕІ), який супроводжує захворювання та ускладнення, пов'язані з підвищеним розпадом тканин, посиленням процесів катаболізму, недостатністю функції печінки, нирок і серця. Ряд дослідників вважає, [7, 8, 15, 19], що при політравмі в основі ендотоксикозу та поліорганної недостатності лежать єдині, універсальні механізми. Сучасні уявлення про молекулярні механізми розвитку ЕІ базуються на визнанні провідної ролі

мембранодеструктивних процесів [12]. Як відомо, однією з причин смерті в термінальній стадії є поліорганна недостатність, синдром послідовної прогресуючої відмови органів і систем в результаті травми [21]. При такому всебічному вивченні патогенезу ендотоксикозу на сьогодні немає даних щодо ефективності в цих умовах ксенодермопластики.

Метою дослідження було з'ясувати патогенетичну роль ксенодермопластики в корекції механічного та термічного пошкоджень шкірних покривів на тлі тяжкої травми, враховуючи особливості перебігу ЕІ в цих умовах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використано 126 нелінійних білих щурів масою 180–200 г. У 1-й дослідній групі в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали тяжку травму, яка передбачала перелом стегнової кістки, кровотечу зі стегнової вени і введення автокрові у паранефральну клітковину з розрахунку 1 мл на 100 г маси тварини [13].

У 2-й дослідній групі додатково на депільованій поверхні спини викроювали шкірний клапоть площею близько 10 % поверхні шкіри. На рану накладали стерильну пов'язку. З третьої доби рана вели відкритим способом. У 3-й серії дослідів прототипом опіку шкіри 9–10 % площі поверхні тіла III А ступеня було використано методику [20] у нашій модифікації, відповідно до якої в умовах ефірного знеболюван-

© С.Р. Підручна, Н.А. Васишин, О.О. Кулянда, І.С. Кулянда, 2011.

ня до депільованої поверхні спини приклали мідну пластинку площею 28 см², попередньо занурену в киплячу воду не менше ніж на 10 хв. У 4-й дослідній групі після ідентичного травмування опікову і скальповану рани покривали ксенодермотрансплантатом виробництва ПМП "Комбустіолог" (м. Тернопіль, Україна) і стерильною пов'язкою. Тварини перебували ізольовано одна від одної. Контрольну групу склали інтактні щури, яких утримували в стандартних умовах віварію. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 1, 3 та 7 доби експерименту, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Для дослідження використовували сироватку крові. У сироватці крові визначали активність аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) [4]. Ступінь вираження токсичного синдрому оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) [10] та ендogenousним індексом інтоксикації [16].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані нами результати досліджень свідчать про значні зміни перебігу ЕІ у тварин з механічним та термічним пошкодженнями шкірних покривів на тлі тяжкої травми. У тварин, в яких моделювали лише політравму (1-ша дослідна група), і щурів, в яких додатково на депільованій поверхні спини викроювали шкірний клапоть (2-га дослідна група) та моделювали опік III А ступеня (3-тя дослідна група), вміст МСМ достовірно збільшувався протягом усього експерименту і максимальних показників досягав у тварин 3-ї дослідної групи на 1 добу експерименту, а в щурів 2-ї дослідної групи – на 7 добу (табл.). Така ж тенденція спостерігалася і стосовно іншого показника ендogenousної інтоксикації – еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ). Максимальні значення останнього мали місце у тварин з опіком на тлі політравми на 7 добу. В 1-й дослідній групі ЕІІ був найвищим на 3 добу експерименту. Це свідчить про потенціювання токсичної дії додаткового термічного агента, що може супроводжуватися як посиленням в організмі катаболічних процесів, так і пригніченням функціональної активності системи детоксикації. Збільшення ЕІІ вказує на посилення порушень цілісності мембран еритроцитів. Проте в ці періоди почав відмічатися позитивний коригувальний вплив ксенодермопластики. Так, знижувався вміст МСМ в усіх дослідних групах, причому найбільш виражений коригувальний вплив донорської шкіри спостерігався на 7 добу експерименту.

Загальноприйнятими маркерами порушення цілісності клітинних мембран є органелоспецифічні ферменти, які з'являються в крові. Серед них інформативними є АлАТ та АсАТ, КФК та ін. Як відомо, вміст цитозольних форм у плазмі крові та позаклітинному просторі тканин перебуває на відносно низькому рівні. Але пошкодження плазматичних мембран або підвищення клітинної проникності призводить до виходу ферментів із цитозолу, і вміст їх вказує на ступінь пошкодження мембран, що проявляється в тому числі на вираженні синдрому ендogenousної інтоксикації. З метою дослідження функціонального стану мембран при політравмі ми визначали активність у плазмі крові щурів АсАТ та АлАТ. В нашому експерименті активність АлАТ у плазмі крові протягом всіх днів зазнавала однотипних змін, спрямованих у сторону зростання. Найвищі показники АлАТ мали місце на 7 день експерименту: $(0,57 \pm 0,03)$, $(0,54 \pm 0,08)$ та $(0,58 \pm 0,07)$ мкмоль/л·год відповідно в 1-й, 2-й і 3-й серіях дослідів. Враховуючи те, що АлАТ є органоспецифічним ферментом печінки, зростання його активності в плазмі, яке спостерігалось протягом всіх днів експерименту, слід розцінювати як наслідок викиду токсинів при тяжкій травмі, що супроводжувалось пошкодженням плазматичних мембран. Надмірне надходження цитозольних ферментів у позаклітинний простір і кров створює можливості для надмірної активації катаболізму білків плазми і підвищення пулу ендogenousних речовин, зокрема МСМ. Істотне зниження активності АлАТ зафіксоване нами після накладання ксенодермотрансплантата. Звертає на себе увагу той факт, що у всіх трьох дослідних групах активність досліджуваного цитозольного маркера достовірно знижувалася протягом усього експерименту, і на 7 добу цей показник майже наближався до рівня інтактних тварин.

Виразних змін у нашому досліді зазнав ще один цитозольний фермент печінки – АсАТ. Як видно з таблиці, активність АсАТ, аналогічно АлАТ, у тварин при всіх моделях досліді була вищою в інтактних, особливо на 7 добу. Дані результати пов'язані з розвитком ендogenousної інтоксикації, зумовленої імунними порушеннями, які мають місце в цей термін після травмування. В опечених щурів вміст усіх досліджуваних показників був найвищим на 7 добу експерименту. Очевидно, формування цих змін пов'язане із загальними закономірностями й етапністю перебігу опікової травми, що відповідає даним [3], в яких відмічали найбільші структурні порушення в експериментальних тварин з опіком 10 % площі поверхні шкіри III А

Таблиця – Динаміка вмісту МСМ, Еп й активності АсАТ, АлАТ в сироватці крові щурів з політравмою на тлі механічного ураження та опіку (M±m)

Модель досліджу	Показник	Група тварин						
		інтактні, n=6	травмовані			ліковані		
			1 доба n=18	3 доба n=18	7 доба n=18	1 доба n=18	3 доба n=18	7 доба n=18
Політравма 1-ша дослідна група	МСМ ₁ , ум. од.	0,217±0,004	0,286±0,002*	0,298±0,002*	0,274±0,005*	0,274±0,003	0,258±0,004*	0,235±0,005
	МСМ ₂ , ум. од.	0,027±0,003	0,063±0,003*	0,082±0,007*	0,073±0,004	0,049±0,005*	0,055±0,008*	0,034±0,004*
	Еп, %	67,0±0,7	69,5±1,4	71,8±2,6	70,8±2,1	69,3±1,7	69,5±1,9	68,7±1,7
	АлАТ, мкмоль/л-год	0,24±0,02	0,33±0,02*	0,40±0,07*	0,57±0,03*	0,31±0,04	0,30±0,05*	0,31±0,06*
	АсАТ, мкмоль/л-год	0,28±0,03	0,38±0,08	0,45±0,04*	0,53±0,05*	0,35±0,09	0,32±0,06*	0,30±0,04*
Політравма+ скальпована рана 2-га дослідна група	МСМ ₁ , ум. од.	0,217±0,004	0,299±0,004*	0,349±0,005*	0,366±0,007*	0,290±0,005	0,285±0,008*	0,294±0,009*
	МСМ ₂ , ум. од.	0,027±0,003	0,065±0,005*	0,080±0,005*	0,092±0,006*	0,057±0,008	0,055±0,007*	0,068±0,004*
	Еп, %	67,0±0,7	75,8±2,7	78,5±1,8*	80,2±2,1*	74,5±2,4	72,9±1,9	73,6±1,8*
	АлАТ, мкмоль/л-год	0,24±0,02	0,29±0,05	0,39±0,04*	0,54±0,08*	0,27±0,09*	0,31±0,06*	0,28±0,03*
	АсАТ, мкмоль/л-год	0,28±0,03	0,46±0,03*	0,58±0,08*	0,64±0,07*	0,38±0,04	0,39±0,07*	0,42±0,05*
Політравма+ опік 3-тя дослідна група	МСМ ₁ , ум. од.	0,217±0,004	0,333±0,005*	0,303±0,002*	0,295±0,005*	0,296±0,007	0,245±0,009*	0,224±0,004*
	МСМ ₂ , ум. од.	0,027±0,003	0,096±0,005*	0,085±0,004*	0,075±0,004*	0,078±0,008	0,045±0,004*	0,036±0,005*
	Еп, %	67,0±0,7	76,3±1,2	80,7±1,9*	83,9±2,4*	73,5±1,5	71,5±1,8	71,8±1,6*
	АлАТ, мкмоль/л-год	0,24±0,02	0,33±0,02*	0,51±0,02*	0,58±0,05*	0,31±0,05	0,34±0,08*	0,33±0,07*
	АсАТ, мкмоль/л-год	0,28±0,03	0,65±0,02*	0,74±0,03*	0,80±0,04*	0,58±0,04	0,52±0,05*	0,46±0,07*

Примітка. * – різниця достовірна між травмованими та інтактними тваринами в усіх моделях досліджу (p<0,05).

ступеня саме на 7 добу спостереження. В умовах комбінованої травми загальною закономірністю було досягнення максимальних відхилень вже на 1 добу спостереження. Одержані дані, очевидно, зумовлені нашаруванням патогенетичних механізмів механічної травми й опіку і є проявом синдрому взаємного обтяження [11, 14, 17]. Разом із тим, звертає на себе увагу той факт, що ксенодермопластика супроводжується суттєвим поліпшенням стану травмованих щурів, що особливо помітно на 7 добу експерименту і є проявом системного впливу на їх організм. Цей феномен можна пояснити на основі даних щодо впливу ксенодермотрансплантата на ранову поверхню. Він забезпечує виражений протибольовий ефект, зменшення втрати води й електролітів, протидіє інфікуванню рани. На 3-4 добу після ксенопластики відмічають ознаки тимчасово-

го приживлення ксенодермотрансплантата до рани: при морфологічному дослідженні має місце проростання гемокапілярів грануляційної тканини в дерму ксенодермотрансплантата. Крім того, за даними [1, 9], ксеношкіра володіє широким спектром мікроелементів (калію, заліза, титану, цинку, кальцію) та амінокислот, найбільша частка яких припадає на пролін, глутамін, гліцин та аргінін. Можна припустити, що саме завдяки проростанню судин у ксенодермотрансплантат з використанням додаткового пластичного матеріалу, біологічно активних речовин він і чинить системний вплив на організм тяжкотравмованих тварин.

ВИСНОВКИ. 1. Після моделювання механічної травми, опіку та їх поєднання розвивається синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчить зростання маркерів Еп – середніх

молекул (CM_1 , CM_2) та ЕП. Ступінь вираження синдрому ендогенної інтоксикації залежить від виду патогенного чинника.

2. Після механічної та термічної травм відмічають збільшення протягом усього експерименту досліджуваних показників з максимумом на 4 і 7 доби.

3. На тлі комбінованої травми зростання активності ферментів плазми крові АлАТ, АсАТ, очевидно, є наслідком деструкції мембран у відповідь на екстремальний чинник.

4. Використання ксенодермопластики з метою тимчасового заміщення травмованої

шкіри позитивно впливає на загальний стан організму, сприяє зниженню концентрації МСМ та активності цитозольних ферментів порівняно із застосуванням стерильної пов'язки, зрошеної антисептиком.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ полягають у вивченні ефективності ксеношкіри в умовах тяжкої травми з одночасними механічним та термічним пошкодженнями шкіри, яка володіє додатковими позитивними властивостями порівняно зі стерильною пов'язкою, зрошеною антисептиком.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – С. 196.

2. Болгов Д. М. Патогенетические основы формирования синдрома длительного раздавливания / Д. М. Болгов, Л. В. Савченкова, В. Д. Лукьянчук // Укр. журнал экстремальной медицины им. Г. О. Можаяева. – 2001. – 2, № 1. – С. 89–97.

3. Гунас И. В. Ультраструктурные изменения в печени крыс после ожога кожи / И. В. Гунас // Вісник морфології. – 1998. – 4, № 2. – С. 174–175.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 258 с.

5. Журавлев С. М. Травматизм и ортопедическая заболеваемость – приоритетная медицинская и демографическая проблема. Актовая речь / С. М. Журавлев. – М. : ЦИТО, 1997. – 48 с.

6. Картавенко В. И. Применение шкалы АРАСНЕ-II для оценки тяжести пострадавших / В. И. Картавенко, А. К. Шабанов // Материалы научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня рождения проф. Ю. Н. Цибина, "Интегральная оценка и прогнозирование в экстренной медицине". – СПб., 2001. – С. 18–25.

7. Классификация и хирургическое лечение черепно-мозговой травмы, сочетанной с травмой конечностей : методические рекомендации / [В. В. Лебедев, В. В. Крылов, В. П. Охотский и др.]. – М., 1998. – 19 с.

8. Кравченко О. І. Політравма мирного часу: характер, тактичні і діагностичні помилки при наданні допомоги потерпілим / О. І. Кравченко, С. Р. Петров // Одес. мед. журн. – 2004. – № 4. – С. 42–43.

9. Кривенко С. Н. Динамика метаболических процессов у пострадавших с множественными переломами костей конечностей в остром периоде травматической болезни / С. Н. Кривенко, Н. Н. Шипаченко // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2003. – № 1. – С. 16–19.

10. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму : методичні рекомендації / [М. А. Анд-

рейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко та ін.]. – К., 1998. – С. 10–13.

11. Неотложная хирургическая помощь на этапах медицинской эвакуации / Э. Я. Фисталь, Г. Е. Самойленко, В. В. Самойленко, Н. Н. Фисталь // Укр. журнал экстремальной медицины им. Г. О. Можаяева. – 2004. – 5, № 1. – С. 31–34.

12. Основы патогенеза и подходы к фармако-терапии синдрома длительного раздавливания : методические рекомендации / В. Д. Лукьянчук, Е. М. Мищенко, А. А. Коробков, Д. М. Болгов. – Луганск, 2001. – 26 с.

13. Патент на корисну модель 30028 Україна МПК 2006 G 09B 23/00. Спосіб моделювання політравми / Т. Я. Секела, А. А. Гудима (Україна); Тернопільський медуніверситет. – № U 2007 10471 ; заявл. 21.09.2007 ; опубл. 11.2.08, Бюл. № 3. – 4 с.

14. Показники імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності організму хворих з важкими термічними опіками / Л. Ф. Климчик, М. А. Нікітенко, О. Є. Кузів [та ін.] // Шпит. хірургія. – 1999. – № 4. – С. 37–42.

15. Синдром гиперметаболизма – универсальное звено патогенеза критических состояний / И. Н. Лейдерман, В. А. Руднов, А. В. Клейн, Э. К. Николаева // Вестник интенсивной терапии. – 1997. – № 3. – С. 17–23.

16. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.

17. Среднемолекулярные пептиды крови как эндогенные регуляторы перекисного окисления липидов в норме и при термических ожогах / Б. М. Вальдмол, И. В. Волчегорский, А. С. Пужевский [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1991. – 37, № 1. – С. 23–26.

18. Эндотоксикоз при тяжелой сочетанной травме / И. А. Ерохин, С. В. Гаврилин, Н. С. Немченко [и др.] // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 2001. – 160, № 5. – С. 120–124.

19. Barton R. Nutrition Support in critical illness / R. Barton // NCP. – 1994. – № 9. – P. 127–139.

20. Regas F. C. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model / F. C. Regas, H. P. Ehrlich

Ehrlich H.P. // J. Trauma. – 1992. – 32, № 5. – P. 557–563.

21. Renz B. M. Unnecessary laparotomies for trauma: a prospective study of morbidity / B. M. Renz, D. V. Feleciano // J. Trauma. – 1995. – № 38. – P. 271–278.

С.Р. Пидручна, Н.А. Василюшин, Е.О. Кулянда, И.С. Кулянда
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КОРРИГИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ КСЕНОДЕРМОПЛАСТИКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЕ

Резюме

Главным фактором развития полиорганной недостаточности, определяющим развитие тяжелой травмы, является эндогенная интоксикация. Целью данного исследования было выяснить патогенетическую роль ксенодермопластики в коррекции эндотоксикоза при комбинированной травме, осложненной ожоговой и скальпированной ранами. После моделирования механической травмы, ожога на фоне политравмы отмечали существенное увеличение молекул средней массы (МСМ) и активности трансаминаз с максимумом на 7 сутки наблюдения. Степень возрастания исследуемых показателей на фоне ожога существенно преобладала аналогичные после механической травмы. Нами установлено, что использование ксенодермопластики с целью временного замещения травмированной кожи положительно влияет на общее состояние организма, способствует снижению концентрации МСМ и нормализации активности АлАТ, АсАТ по сравнению с применением стерильной повязки, орошенной антисептиком.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **комбинированная травма, ожег, механический дефект кожи, ксенодермопластика, молекулы средней массы, аспартаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза.**

S.R. Pidruchna, N.A.Vasylyshyn, O.O. Kulianda, I.S. Kulianda
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CORRECT EFFECT OF XENODERMOPLASTIC ON INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CASE OF SEVERE TRAUMA

Summary

The main factor of the development of multiple organ failure, which is the development of severe trauma is endogenous intoxication. The aim of our experiment was to study the pathogenic role of xenodermoplastic in the correction of humoral immunity at severe trauma complicated by scalp and burn wounds. After the modelling of mechanical traumas, burns with severe trauma was observed considerable increasing of the molecules of average mass and the activity of transaminases with a maximum on the seventh day of our experiment. The level of increasing of these indicators in the animals which had burns was considerably higher than this level after mechanical trauma. We found that application of xenoderoplastic to temporarily replace injured skin positively affect on the general state, helps to reduce concentration of the molecules of average mass and normalisation of activity aspartataminotransferase, alaninaminotransferase compared with sterile antiseptic bandages usage.

KEY WORDS: **severe trauma, burn, mechanical defect skin, xenodermoplastic, molecules of average mass, aspartataminotransferase, alaninaminotransferase.**

Отримано 03.12.10

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

І.А. Кленіна¹, М.В. Горіла², Т.М. Полішко², Н.І. Штеменко²
 ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ¹, ДНІПРОПЕТРОВСЬК
 ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. ГОНЧАРА²

ВПЛИВ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ ТА ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА НА БІЛКИ ПЛАЗМИ КРОВІ

Вперше вивчено вплив кластерних сполук ренію і протирадикальної системи Re-Pt на білки плазми крові в досліджах in vitro та in vivo. Сполуки ренію взаємодіють з альбуміном залежно від природи і способу орієнтації лігандів навколо почверного зв'язку. Показано, що введення кластерних сполук ренію щурів-пухлиноносцям супроводжується відновленням білковосинтетичної активності печінки, включаючи синтез альбуміну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кластерні сполуки ренію, альбумін, карцинома Герена.

ВСТУП. Взаємодія антиканцерогенних препаратів на основі металоорганічних сполук з білками привертає увагу багатьох дослідників [8, 9, 13], оскільки саме вона відіграє вирішальну роль не тільки у процесах транспорту, але й у реалізації їх токсичних ефектів. Навіть більше – реакції металоорганічних сполук з білками можуть бути залучені до визначальних механізмів антиканцерогенної дії цих сполук. Останнє ствердження є особливо справедливим для вивчених нещодавно неплатинових металосполук, таких, як сполуки рутенію і золота, для яких запропоновано та підтверджено ДНК-незалежні механізми антиканцерогенної дії, що включають реакцію із сигнальними протеїнами.

У наших попередніх дослідженнях [3] показано, що кластерні сполуки ренію проявляють антирадикальну, антигемолітичну активність у моделях in vivo й in vitro та є біохімічними модуляторами цисплатину (cisPt), тобто підсилюють його дію з одночасним зниженням токсичності. Розроблено нову протирадикальну систему реній-платина Re-Pt, яка приводить не тільки до суттєвого пригнічення росту пухлини, але й до нормалізації системи червоної крові [16, 17]. Показано здатність сполук ренію до біохімічної модуляції дії cisPt [6].

Подальше дослідження механізмів дії кластерних сполук ренію вимагає вивчення їх впливу на білкові молекули. Отже, метою роботи було з'ясувати, чи відбувається взаємодія цих сполук з білками плазми крові in vitro та in vivo.

© І.А. Кленіна, М.В. Горіла, Т.М. Полішко, Н.І. Штеменко, 2011.

Раніше нами було показано, що введення кластерних сполук ренію та системи Re-Pt приводило до корекції рівня діагностичних ферментів і окисно-відновного стану печінки щурів-пухлиноносців порівняно з інтактними тваринами і такими, що отримували лише cisPt [4, 7, 13]. Проте питання про відновлення при цьому білковосинтетичної функції печінки залишається відкритим. Отже, у цій роботі представлені також дані щодо кількісних та якісних змін білків плазми крові щурів-пухлиноносців при введенні кластерних сполук ренію і системи Re-Pt.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували чотири структурних типи кластерних сполук ренію:

- 1) цис-дикарбоксилат диренію:
 $\text{cis-}[\text{Re}_2(\text{Ala}_2\text{Cl}_4)]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
 $\text{cis-}[\text{Re}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
 $\text{cis-Re}_2(\text{AdCOO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$ (Re 2);
- 2) трансдикарбоксилат диренію:
 $\text{trans-}[\text{Re}_2(\text{Ala}_2\text{Cl}_4)]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- 3) тетракарбоксилат диренію:
 $\text{Re}_2(\text{iso-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4 \cdot \text{Cl}_2$ (Re 1);
- 4) тетрафосфат диренію:
 $[\text{Re}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4(\text{H}_2\text{PO}_4)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Re 3).

Дані сполуки були синтезовані в Українському державному хіміко-технологічному університеті (УДХТУ) [10, 15].

Для турбідиметричного методу дослідження використовували альбумін фірми "Reanal". За допомогою методу імуноелектрофорезу визначали зміни електрофоретичної рухливості альбуміну за присутності кластерних сполук ренію у концентраціях 10^6 та 10^{10} . Проводили електрофоретичне розподілення

білків сироватки крові щурів у ПААГ за загальноприйнятою методикою [11]. Загальний білок (ЗБ) у сироватці крові визначали біуретовим методом [5].

Експерименти *in vivo* проводили на щурах лінії Вістар масою 100–150 г. Суспензію клітин карциноми Герена Т8 (30 % у фізіологічному розчині) перещеплювали здоровим щурам від пухлиноносців, отриманих в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. *cisPt* вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9-ту добу після трансплантації пухлини внутрішньочеревно; ліпосомні форми сполук ренію вводили внутрішньочеревно за схемою антиоксидантної терапії у дозі 7 мкМ/кг, починаючи з 3 доби після трансплантації пухлини, як це описано в [16, 17], з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби. Молярне співвідношення введених препаратів кластерних сполук ренію та *cisPt* становило 4:1 (система Re-Pt) [16, 17]. Наноліпосоми, які були навантажені системою Re-Pt 4:1, вводили за схемою антиоксидантної терапії з розрахунку 7 мкМ/кг сполуки ренію внутрішньочеревно, починаючи з 3 доби після трансплантації ракових клітин з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби. Ліпосомні та наноліпосомні форми, навантажені системою Re-Pt 4:1, готували в УДХТУ [1]. Тварин декапітували на 21 добу після трансплантації пухлини згідно з вимогами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Для статистичного аналізу даних використовували дескриптивну статистику; порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (t-критерію Стьюдента) за нормального розподілу даних ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто–Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Манна–Уїтні). Для порівняння розподілу часток двох або більше перемінних застосовували χ^2 -тест. Усі розрахунки виконували у програмі SPSS 9.0 for Windows. Вірогідними вважали результати, якщо $p < 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При високих концентраціях кластерних сполук ренію (10^6) відбувається денатурація молекули альбуміну, що можна зафіксувати за допомогою методу турбідиметрії (табл. 1).

Ми вважаємо, що денатурація альбуміну відбувається як внаслідок впливу продуктів

Таблиця 1 – Час утворення преципітату альбуміну при обробці кластерними сполуками ренію різної концентрації

Сполука ренію	Час, хв	
	10^{-6} М	10^{-10} М
<i>cis</i> -[Re ₂ (Ala ₂ Cl ₄)Cl ₂ ·2H ₂ O	20	25
<i>trans</i> -[Re ₂ (Ala ₂ Cl ₄)Cl ₂ ·2H ₂ O	2–5	2–5
<i>cis</i> -[Re ₂ (CH ₃ COO) ₂ Cl ₂]Cl ₂ ·2H ₂ O	5–6	10
<i>cis</i> -Re ₂ (AdCOO) ₂ Cl ₄ ·2CH ₃ CN	40	–
Re ₂ (<i>iso</i> -C ₃ H ₇ COO) ₄ ·Cl ₂	40	65
[Re ₂ (CH ₃ COO) ₄ (H ₂ PO ₄) ₂]·2H ₂ O	35	–

гідролізу сполук ренію з деструкцією почверного зв'язку й утворенням більш низькомолекулярних продуктів [1], чинників порушення просторової структури білка, так і в результаті безпосередньої взаємодії сполуки з білком.

У межах одногодинного експерименту можна вважати, що швидкість гідролізу сполук однакова. Отже, перші три сполуки активно змінюють конформацію альбуміну, а представники структурного типу –тетракарбоксилатів, тетрафосфатів та діадаматат при високих концентраціях менш інтенсивно взаємодіють з білком і призводять до денатурації білка, найімовірніше за рахунок утворення гідролітичних продуктів, про що свідчить відсутність утворення преципітату при зниженні їх концентрації.

Перші дві сполуки відносять до просторових *cis*- і *trans*-ізомерів відносно почверного зв'язку. Активність *trans*-ізомеру пояснюється значним *trans*-впливом карбоксилатних груп, що призводять до активації як почверного зв'язку, так і хлоридних лігандів [16]. Відомо, що сполуки рутенію *trans*-конформації також ефективніше приєднуються до альбуміну, ніж *cis*-ізомери [12]. Отже, завдяки вищій хімічній активності *trans*-ізомер взаємодіє інтенсивніше, ніж інші ізомери. Інший характер взаємодії тетракарбоксилатів і *cis*-адаматату можна пояснити їх більшою гідрофобністю.

При вивченні взаємодії альбуміну з кластерними сполуками ренію імуноелектрофоретичним методом (ракетний електрофорез) виявлено, що під впливом усіх досліджуваних сполук ренію відбувається зниження рухливості імунопреципітату (табл. 2).

Дані підтверджують висновки, отримані на підставі даних методу турбідиметрії: усі сполуки ренію взаємодіють з альбуміном; найбільш активною сполукою, що пригнічує взаємодію антиген-антитіло, є *trans*-ізомер, а сполуки тетракарбоксилатного типу і *cis*-адаматат помірно впливають на цю взаємодію. Подальшу нашу роботу було зосереджено саме на даних спо-

Таблиця 2 – Зміни рухливості імунопреципітату альбуміну (η Rf у відсотках відносно контролю – 100 %) за присутності кластерних сполук ренію

Сполука ренію	η Rf, %		
	10^{-6} M	10^{-8} M	10^{-10} M
cis-[Re ₂ (Ala ₂ Cl ₄)]Cl ₂ ·2H ₂ O	95,72±2,15	99,40±1,89*	98,11±1,69*
trans-[Re ₂ (Ala ₂ Cl ₄)]Cl ₂ ·2H ₂ O	80,28±2,28	39,29±2,59**	27,82±1,93
cis-[Re ₂ (CH ₃ COO) ₂ Cl ₂]Cl ₂ ·2H ₂ O	72,25±2,83*	69,27±6,68*	68,67±7,08*
cis-Re ₂ (AdCOO) ₂ Cl ₄ ·2CH ₃ CN	111,0±5,54	110,24±6,69*	102,04±2,38*
Re ₂ (iso-C ₃ H ₇ COO) ₄ ·Cl ₂	96,64±3,86*	95,38±3,75*	93,34±2,65*
[Re ₂ (CH ₃ COO) ₄ (H ₂ PO ₄) ₂]·2H ₂ O	70,09±3,08*	53,17±1,23*	60,73 ±2,20*

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ вірогідність змін між показниками груп порівняно з контролем – 100 %.

луках, оскільки занадто активні речовини призводять до неспецифічних реакцій з руйнуванням вищих рівнів організації біомолекул.

Дослідження електрофоретичного спектра білків плазми крові при обробці сироватки кластерними сполуками ренію тетракарбоксилатного типу та цис-адамантату не дозволили виявити зміни у рухомості окремих фракцій, крім альбуміну (результати не наводяться). При високих концентраціях сполук ренію (10^{-6} M) вдалося зафіксувати підвищення інтенсивності поглинання зафарбованої зони фракції альбуміну (на 10–15 %). Оскільки розподілення білків у ПААГ відбувається згідно з молекулярною масою білкової молекули, а взаємодія сполуки ренію не призводить до значних змін маси білків, цю взаємодію слід вважати такою, що не залучає велику кількість амінокислотних залишків до зв'язування, або взаємодія взагалі відсутня. Підвищення поглинання у зоні альбуміну може свідчити про взаємодію даного білка зі сполуками ренію, але для визначення характеру цієї взаємодії потрібні додаткові, більш інформативні методи.

Аналіз даних показав, що розвиток пухлинного процесу в щурів призводив до гіпопротеїнемії (рис. 1).

Вміст ЗБ у плазмі крові щурів з карциномою Герена був зменшеним у 3,4 раза ($p < 0,001$) відносно інтактних тварин. Це, можливо, є причиною пригнічення протеосинтетичної функції печінки та підвищеного розпаду білка в організмі за умов канцерогенезу.

Введення cisPt щурам-пухлиноносцям призводило до збільшення вмісту ЗБ в 1,7 раза в сироватці крові (рис. 2).

Під впливом комплексних сполук ренію відбувалося значне підвищення вмісту ЗБ порівняно з групою щурів з карциномою Герена. Так, при введенні комплексу Re 3 вміст ЗБ збільшувався в 2,8 раза ($p < 0,001$), а введення комплексу Re 2 призводило до його зростання в 2,6 раза ($p < 0,01$) відповідно.

Використання системи Re-Pt з комплексами Re 2 та Re 3 призводило до підвищення вмісту ЗБ у плазмі крові відносно щурів-пухлиноносців більш ніж у 3 рази ($p < 0,01$, $p < 0,001$ відповідно), що практично досягало норми

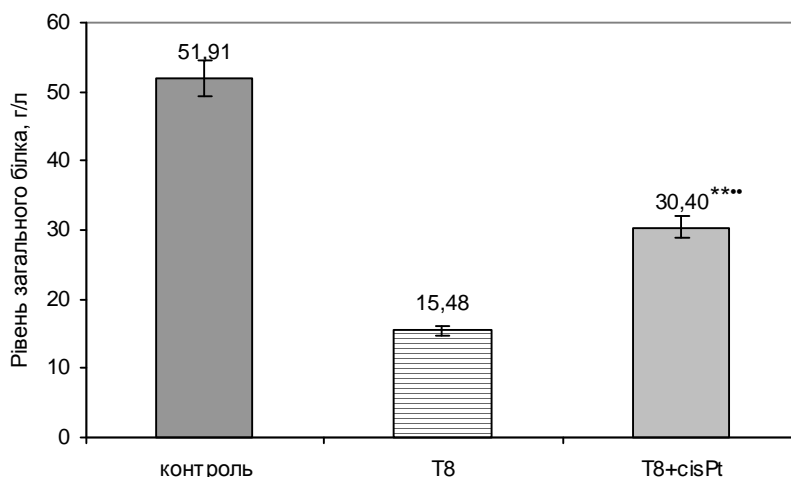


Рис. 1. Вміст загального білка в щурів-пухлиноносців відносно інтактних тварин і після введення cisPt.

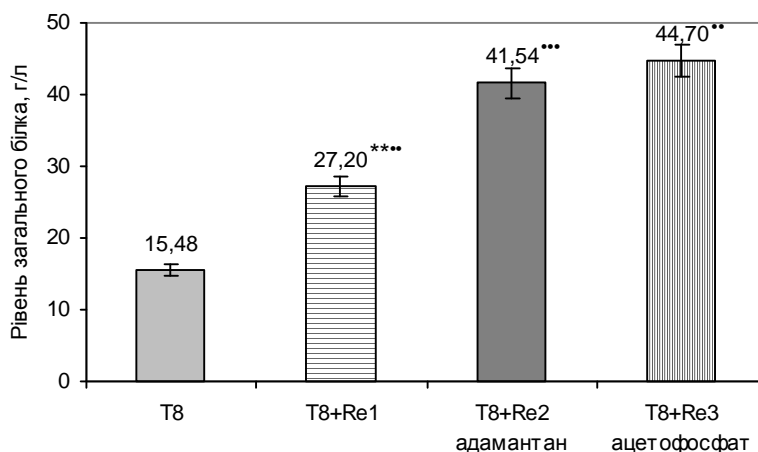


Рис. 2. Вміст загального білка в сироватці крові щурів з карциною Герена при введенні кластерних сполук ренію.

вмісту білка в плазмі крові інтактних тварин (рис. 3).

Результати електрофоретичного розподілення білків плазми крові щурів-пухлиноносіїв після введення кластерних сполук ренію та системи Re-Pt в експериментах *in vivo* наведено в таблиці 3.

Розвиток пухлини супроводжується різким зменшенням вмісту альбумінів. Якщо концентрація інших білків плазми знижується приблизно вдвічі, то концентрація альбуміну – більше ніж у 7 разів. Гальмування росту пухлини *cisPt* вибірково відновлює білковий спектр крові: концентрація всіх білків практично досягає норми, проте рівень альбуміну залишається втричі меншим, ніж у контролі.

Застосування кластерних сполук ренію окремим (експеримент 3–5), системи Re-Pt, яку вводили як розчин *cisPt* та звичайні ліпосоми,

навантажені сполуками ренію (експеримент 7–9), та, особливо, змішаних наноліпосом (експеримент 10–12) свідчить про коригувальну властивість сполук ренію відносно білковосинтетичної системи організму порівняно з групою пухлиноносіїв T8. Хоча в експериментах, які розглядаються, рівень білка не досягає нормальних величин, особливо рівень альбуміну, проте можна відмітити значне поліпшення білкової картини крові.

Слід відзначити, що в усіх експериментах, де використовували сполуку Re 3, спостерігали найвищий вміст альбуміну, близький до нормального стану. Отже, коригувальні властивості сполук ренію відносно білковосинтетичної системи організму залежать від природи лігандів, що перебувають навколо почверного зв'язку, та максимально проявляються у сполуки четвертого структурного класу – тетрафосфату диренію.

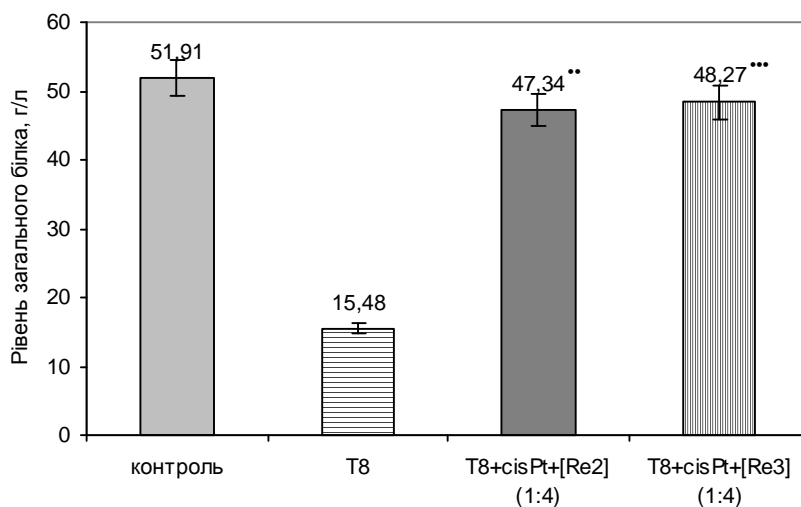


Рис. 3. Вміст загального білка в плазмі крові щурів з карциною Герена при використанні систем Re 2-Pt та Re 3-Pt.

Таблиця 3 – Вміст білкових фракцій плазми крові досліджуваних тварин, г/л, після введення кластерних сполук ренію та системи Re-Pt

Група	Білкова фракція				
	M±n				
	альбумін	α ₁ -глобуліни	α ₂ -глобуліни	β-глобуліни	γ-глобуліни
Контроль	29,74±0,57	2,24±0,17	3,70±0,19	6,03±0,23	9,73±0,41
T8	3,80±0,63***	1,79±0,36	1,90±0,23**•	3,02±0,35***•	5,05±0,60**•
T8+cisPt	10,29±2,0***	3,16±1,11	3,54±0,69	4,82±0,77	9,19±1,32
T8+Re 1	9,72±1,48***	3,0±0,77	2,77±0,35*	4,77±0,86	6,84±1,08*
T8+Re 2	14,28±1,61***	2,96±0,74	5,16±1,15	6,17±0,75	5,49±0,55**•
T8+Re 3	16,38±3,34*	3,74±0,74	5,02±0,97	5,54±1,16	11,3±2,20
T8+cisPt+[Re 1] 1 (1:4)	14,26±1,47***	4,41±0,80*	4,09±0,70	6,06±0,89	7,47±0,83*
T8+cisPt+[Re 2] 1 (1:4)	16,04±2,57**	4,33±0,83*	4,20±0,68	6,02±0,89	7,83±0,87
T8+cisPt+[Re 3] 1 (1:4)	24,27±2,20*••	4,37±0,61*	5,45±0,74*	9,43±0,77**•	8,08±0,79
T8+[Re 1+cisPt 1:4]nl	9,49±1,90***	2,21±0,62	2,57±0,55	5,04±0,74	6,67±0,73*
T8+[Re 2+cisPt 1:4]nl	14,07±1,39***	2,83±0,49	4,89±0,90	5,80±0,49	5,14±0,67**•
T8+[Re 3+cisPt 1:4]nl	26,74±3,01••	2,45±0,34	3,74±0,19	6,01±0,22	9,52±0,40

Примітки:

- * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 вірогідність змін між показниками груп порівняно з контролем.
- – p<0,05; •• – p<0,01 вірогідність змін між показниками груп порівняно з групою щурів з cisPt.

ВИСНОВКИ. Вперше вивчено взаємодію кластерних сполук ренію з альбуміном. Показано, що сполуки ренію взаємодіють із білком залежно від природи та орієнтації лігандів у просторі. При цьому найбільш активними є сполуки транс-конфігурації, а найменш активними – сполуки тетракарбоксилатного типу та з гідрофобними адамантановими лігандами.

Встановлено, що при низьких концентраціях вищеназвані сполуки ренію зв'язуються з альбуміном. Вперше вивчено вплив сполук ренію і системи реній-платина на концентрацію білків плазми крові у моделі канцерогенезу. Показано коригувальні властивості сполук ренію, що особливо притаманні сполуці тетракарбоксилат-фосфатного типу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Егорова Д. Є. Взаємодія біядерних кластерів ренію (III) з фосфоліпідами та вищими карбоновими кислотами за формування мікрокапсул : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. хім. наук / Д. Є. Егорова. – Дніпропетровськ, 2010. – 18 с.
- Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика : учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – СПб. : ООО "Издательство ФОЛИАНТ", 2006. – 432 с.
- Зеленюк М. А. Біологічна активність ліпосомних форм комплексних сполук ренію (III) з органічними лігандами : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / М. А. Зеленюк. – Харків, 2005. – 18 с.
- Івчук В. В. Функціональна активність гепатоцитів щурів при канцерогенезі / В. В. Івчук, Н. І. Штеменко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2008. – 2, вип. 16. – С. 60–64.
- Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В. С. Камышников. – 2-е изд. – Мн. : Беларусь, 2009. – Т. 1. – 495 с.
- Скорик О. Д. Интенсивность оксидативного стресса и состав свободных аминокислот крови при торможении роста карциномы Герена соединениями рения : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. – К., 2009. – 20 с.
- Стан печінки щурів при розвитку карциноми Герена та гальмування її росту сполуками ренію / В. В. Івчук, Т. М. Полішко, О. О. Сорочан [та ін.]. // Мед. хімія. – 2009. – 11, № 3. – С. 60–64.
- Bruijninx P. New trends for metal complexes with anticancer activity / P. Bruijninx, P. J. Sadler // Current Opinion in Chemical Biology. – 2008. – № 12. – P. 197–206.
- Dyson P. J. Metal-based antitumor drugs in the post genomic era / P. J. Dyson, Gianni Sava // The Royal Society of Chemistry. – 2006. – P. 1929–1933.
- Golichenko A. A. Cluster Rhenium (III) Complexes with Adamantanecarboxylic Acids: Synthesis and Properties / A. A. Golichenko, A. V. Shtemenko // Rus. J. of Coord. Chem. – 2006. – № 32. – P. 242–249.
- Laemmli U. K. // Nature. – 1970. – 227. – P. 680–685.

12. Lilianna Trynda-Lemiesz. Interaction of cis- and trans-RuCl₂(DMSO)₄ with human serum albumin / Lilianna Trynda-Lemiesz, Henrik Kozlowski, Nikolas Katsaros // Metal Based Drugs. – 2000. – 7, № 6. – P. 293–299.

13. Possible hepatostabilizing properties of the cluster rhenium compounds in tumor-bearing rats / V. Ivchuk, K. Paramonova, O. Bersenina [et al.] // Metal ions in Biology and Medicine. – 2008. – 10. – P. 470–473.

14. Schatzschneider U. New principles in medicinal organometallic chemistry / U. Schatzschneider, N. Metzler-Nolte // Angew. Chem. Int. Ed. – 2006. – 45. – P. 1504–1507.

15. Shtemenko A. V. Formation of binuclear halogenecarboxylates of rhenium with quadruple metal-to-metal bonds / A. V. Shtemenko, A. S. Kotel'nikova // Izvestiya Academy of Sciences of USSR, Chemistry (Rus). – 1980. – № 11. – P. 2630–2631.

16. Shtemenko N. Dihlorotetra μ -Isobutyratodirhenium (III): Enhancement of Cisplatin Action and RBC-stabilizing Properties / N. Shtemenko, P. Collery, A. Shtemenko // Anticancer Research. – 2007. – № 27. – P. 2487–2492.

17. Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin / A. V. Shtemenko, P. Collery, N. I. Shtemenko [et al.] // Dalton Trans. – 2009. – № 26. – P. 5132–5136.

И.А. Кленина¹, М.В. Горелая², Т.Н. Полишко², Н.И. Штеменко²
ИНСТИТУТ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ¹, ДНЕПРОПЕТРОВСЬК
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ О. ГОНЧАР²

ВЛИЯНИЕ КЛАСТЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЕНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ СИСТЕМЫ РЕНИЙ-ПЛАТИНА НА БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Резюме

Впервые изучено влияние кластерных соединений рения и противоопухолевой системы на белки плазмы крови в опытах *in vitro*, *in vivo*. Соединения рения взаимодействуют с альбумином зависимо от природы и способа ориентации лигандов вокруг четвертичной связи. Показано, что введение кластерных соединений рения крысам-опухоленосителям сопровождается восстановлением белковосинтетической активности печени, включая синтез альбумина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кластерные соединения рения, альбумин, карцинома Герена.

I.A. Klenina, M.V. Horila, T.M. Polishko, N.I. Shtemenko
INSTITUTE OF GASTROENTEROLOGY OF AMS OF UKRAINE¹, DNIPROPETROVSK
OLES HONCHAR DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF CLUSTER RHENIUM COMPOUNDS AND RHENIUM-PLATINUM ANTITUMOR SYSTEM ON BLOOD PLASMA PROTEINS

Summary

For the first time the influence of cluster rhenium compounds and antitumor system on blood plasma proteins was investigated in the experiments *in vivo* and *in vitro*. Rhenium compounds interact with albumin depending on the nature of ligands and their orientation relative to quadruple bond. It is shown that the introduction of cluster rhenium compounds into rats-tumor carriers is attended by the reduction of protein synthetic activity of liver.

KEY WORDS: cluster rhenium compounds, albumin, Guerink carcinoma.

Отримано 17.12.10

Адреса для листування: І.А. Кленіна, Інститут гастроентерології АМН України, пр. Правди, 96, Дніпропетровськ, 49074, Україна.

Г.С. Григор'єва¹, Н.Ф. Канахович¹,
С.О. Шаповалов², М.М. Долгая², Н.Є. Узленкова³
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ¹, КИЇВ
ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА НААН УКРАЇНИ², ХАРКІВ
ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РАДІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ³, ХАРКІВ

КОРЕКЦІЯ ШТУЧНОЇ БЕНЗОЛЬНОЇ ГІПОПЛАСТИЧНОЇ АНЕМІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КОМПЛЕКСНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТНИХ КОМПОЗИЦІЙ

Дана стаття присвячена питанням етіології та патогенезу в терапії гіпопластичної анемії. Наведено результати порівняльного дослідження впливу мікроелементної композиції "Есмін" та імуностимулювального препарату "Краплі Береша" на організм мишей, штучно анемізованих бензолом. Встановлено, що введення есміну тваринам з гіпопластичною бензольною анемією не тільки швидко відновлює кількість і морфологічний склад клітин крові й кісткового мозку, але і проявляє певний гемостимулювальний ефект.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпопластична анемія, есенційні мікроелементи, гемопоез, кістковий мозок, гемостимулювальний ефект.

ВСТУП. Гіпопластична анемія – захворювання кровотворної системи, що належить до категорії мієлодисплазій та проявляється різким пригніченням або припиненням росту і дозрівання усіх трьох клітинних ліній в кістковому мозку, або так званому панмієлофтизі. Захворювання у людей зустрічається у будь-якому віці, частіше після 50 років (65 % випадків). У середині ХХ сторіччя захворювання системи крові стали причиною смерті 1,54 % хворих, у т.ч. внаслідок гіпопластичних анемії – 0,13 %. Летальність при цій анемії досягає 60 % і більше, її частота складає 5–10 випадків на 100 тис. населення на рік [1].

Гіпопластична анемія може розвинути за дії ряду мієлотоксичних факторів: іонізуючого випромінювання, хімічних речовин – бензолу, солей золота, миш'яку; лікарських засобів – хлорамфеніколу (левоміцетин), фенілбутазону (бутадіон), хлорпромазину (аміназин), мепробамату, дилантину, антиметаболітів (6-меркаптопурин, метотрексат), алкуючих цитостатиків (циклофосфан, хлорбутин) тощо. Мієлотоксичний ефект від впливу одних факторів (іонізуюче випромінювання, антиметаболіти) виникає завжди при досить великій дозі, інших – проявляється індивідуально. Причина індивідуальної чутливості, зокрема до деяких лікарських засобів, не завжди зрозуміла, але може

бути пов'язана з генетичними дефектами некроцитарних клітин. Це стосується, наприклад, хлорамфеніколу і фенілбутазону, які викликають супресію еритропоезу залежно від дози [8]. Спадковий характер індивідуальної чутливості еритропоетичних клітин до даних лікарських речовин підтверджується розвитком аплазії кісткового мозку в різних членів однієї родини й однояйцевих близнят. В інших випадках імовірний зв'язок індукованого лікарськими речовинами пригнічення кровотворення з імунними механізмами появи антитіл до еритроцитарних попередників [3]. Описані випадки виникнення гіпопластичної анемії після гострого вірусного гепатиту (можливо, внаслідок здатності вірусу гепатиту змінювати каріотип клітин, що було простежено на культурі лейкоцитів). Існує і спадкова форма гіпопластичної анемії – анемія Фанконі. Механізм зупинення проліферації поліпотентних стовбурових клітин залишається невідомим. Передбачається первинне порушення функції стромального мікрооточення, що забезпечує стовбурові клітини ростовими факторами. Проте більш ймовірно є активація факторів позаклітинної імунної супресії, спрямованих на поліпотентні стовбурові клітини. На користь останнього механізму свідчать сприятливі результати, отримані при застосуванні антиімуносупресивних препаратів у значній кількості хворих. На можливість генетичної схильності до розвитку апластичної

© Г.С. Григор'єва, Н.Ф. Канахович, С.О. Шаповалов, М.М. Долгая, Н.Є. Узленкова, 2011.

анемії вказує висока частота виявлених при АА антигенів 11 класу системи DR-2 і DPw3. Однак суть цих клітинних дефектів залишається незрозумілою, так само, як і їх первинність. Можливо, при різних формах гіпопластичної анемії патогенетичні механізми неоднакові [2].

Клінічна картина депресії кровотворення складається з анемічного, геморагічного синдрому, а також синдрому інфекційних ускладнень. Перші прояви зазвичай зумовлені анемією і тромбоцитопенією та включають стомлюваність, що наростає, загальну слабкість, запаморочення, шум у вухах, погану переносимість задушливих приміщень, кровоточивість ясен, геморагічні висипання, носові, маткові й шлунково-кишкові кровотечі [4]. До того як стали застосовувати імунодепресанти й алотрансплантації кісткового мозку, понад 25 % хворих на тяжку гіпопластичну анемію вмирили протягом 4 місяців після встановлення діагнозу, а кожен другий хворий помирав упродовж 1 року. Дослідження щодо вивчення впливу препаратів, які б могли нівелювати розвиток патологій різного генезу при гіпопластичній анемії, доцільно проводити на моделі штучної бензолної гіпопластичної анемії.

Бензол – ароматичний вуглеводень, який за своєю токсичною дією належить до отрут, що пригнічують переважно процеси кровотворення та призводять до гіпопластичних станів кісткового мозку [7].

Патогенез порушень кровотворення при інтоксикації бензолом слід розглядати з позицій безпосереднього токсичного впливу бензолу на стовбурові клітини кісткового мозку, процеси мітозу та хромосомний апарат кровотворних клітин. Дія бензолу на кровотворення, можливо, пов'язана з утворенням з нього фенолів, хінонів та інших отрут, які пригнічують ділення клітин. У кістковому мозку уражаються всі три типи: лейко-, тромбо- та еритропоетичний. Особливо страждають клітини мієлоїдного ряду. Порушення, що виникають у ЦНС за дії бензолу, у свою чергу, можуть рефлекторно впливати на регуляцію кровотворення [10, 11].

Сьогодні суттєво переглядається ставлення до застосування препаратів феруму при гіпопластичних анеміях [5, 6]. З огляду на вищенаведене, актуальними були дослідження за умов уведення поліядерної комплексної композиції есенційних мікроелементів на тлі гіпопластичної анемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті були використані статевозрілі білі миші масою 24–28 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні. Їх поділили на 4 групи: 1-ша – група тварин негативного контролю, яким

щоденно підшкірно раз на добу протягом 10 днів вводили бензол у дозі 1,0 мл/кг; 2-га – дослідна група тварин, яким після останнього введення бензолу щоденно внутрішньошлунково вводили композицію “Есмін” у вигляді записи в крохмальному клейстері в дозі 25 мг/кг маси тіла (умовно-терапевтична доза, встановлена для статевозрілих мишей) протягом двох тижнів; 3-тя – друга дослідна група тварин, які одержували препарат порівняння “Краплі Береша” (що має близький мікроелементний склад) за тією ж схемою, що і есмін, – щоденно внутрішньошлунково в дозі, еквімолярній дозі есміну, що вводиться, по залізу (0,2 мл/кг); 4-та (контроль) – інтактні тварини, які щоденно внутрішньошлунково отримували крохмальний клейстер в однакових об'єм-дозах.

Усі групи були поділені на дві підгрупи, кожна залежно від терміну досліджень – на 15 та 25 доби від початку введення бензолу або на 5 та 15 доби після першого введення есміну і крапель Береша. Контрольних тварин поділили на три підгрупи, в яких дослідження проводили ще на 10 добу експерименту перед початком введення препаратів. У відповідні терміни мишей декапітували, брали кров, кістковий мозок із стегнової кістки, робили мазки та визначали їх морфологічний склад стандартними методами [9]. Кількість лейкоцитів, еритроцитів підраховували в камері Горяєва, вміст гемоглобіну визначали гемометром за Салі, рівень ШОЕ – в апараті Панченко. Кількість тромбоцитів, морфологічний склад клітин лейкограми і мієлограми підраховували на пофарбованих за Гімза-Романовським мазках крові й кісткового мозку.

Результати досліджень оброблено загальноприйнятими статистичними методами. Достовірність відмінностей між групами спостережень оцінювали за критерієм Стюдента і непараметричним критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні. Відмінності між групами спостережень вважали статистично значимими при $p < 0,05$, $p < 0,01$ або $p < 0,005$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Про стан гемопоезу в експерименті судили за такими показниками кісткового мозку, як лейкоеритроїдне співвідношення, індекси дозрівання гранулоцитів і еритробластів.

Одержані дані, наведені в таблиці 1, свідчать про те, що у тварин на 10 добу введення бензолу достовірно знижувались рівень гемоглобіну – із (145 ± 8) до (100 ± 7) г/л, кількість еритроцитів – з $(7 \pm 0,3)$ до $(6 \pm 0,25)$ Г/л, тромбоцитів – з (385 ± 8) до (290 ± 9) Т/л. У цей строк спостереження в крові відсутні палич-

коядерні нейтрофіли й еозинофіли, зменшувалась кількість сегментоядерних нейтрофілів – з (4,2±0,2) до (2,4±0,1) і моноцитів – з

(0,4±0,01) до (0,2±0,01) Т/л, що приводило до зниження загальної кількості лейкоцитів у крові – з (10±0,3) до (8±0,2) Т/л (табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив есміну і крапель Береша на морфологічний склад периферичної крові мишей при гіпопластичній бензолній анемії (n=6)

Показники крові	Група тварин	Вихідні дані	Час дослідження після початку введення бензолу, доба		
			10	15	25
Гемоглобін, г/л	1-ша	145,0±8,0	100,0±7,0*	110,0±6,0*	130,0±6,0*
	2-га		100,0±7,0*	120,0±5,0*	145,0±7,0
	3-тя		100,0±7,0*	140,0±8,0**, ***	155,0±8,0 **
Еритроцити, Г/л	1-ша	7±0,3	6,0±0,25*	5,5±0,2*	6,0±0,25*
	2-га		6,0±0,25*	6,5±0,3**	7,0±0,3**
	3-тя		6,0±0,25*	7,0±0,25**	7,6±0,25**
Лейкоцити, Т/л	1-ша	10±0,3	8,0±0,2*	7,0±0,2*	8,0±0,25*
	2-га		8,0±0,2*	8,5±0,3**	9,5±0,4**
	3-тя		8,0±0,2*	10,0±0,25**	11,0±0,3**
Паличкоядерні нейтрофіли, Т/л	1-ша	0,1±0,005	0	0	0,1±0,01
	2-га		0	0,10±0,005**	0,2±0,01 *, **
	3-тя		0	0,17**±0,01***	0,3±0,01 *, **, ***
Сегментоядерні нейтрофіли, Т/л	1-ша	4,2±0,2	0	2,5±0,2*	3,6±0,2*
	2-га		2,4±0,1	3,5 ±0,2*, **	4,0±0,2
	3-тя		2,4±0,1	4,3±0,1**	5,5±0,3*, **, ***
Еозинофіли, Т/л	1-ша	0,2±0,01	0	0	0,1±0,007*
	2-га		0	0,1±0,006**	0,14±0,001*
	3-тя		0	0,2±0,001***	0,24±0,01**, ***
Моноцити, Т/л	1-ша	0,4±0,01	0,2±0,01*	0,2±0,01*	0,3±0,01*
	2-га		0,2±0,01*	0,3±0,01*, **	0,4±0,01
	3-тя		0,2±0,01*	0,4±0,02**, ***	0,5±0,02*, **, ***
Лімфоцити, Т/л	1-ша	5,1±0,2	5,4±0,3	4,3±0,03	4,0±0,06*
	2-га		5,4±0,3	4,5±0,02	4,72±0,05
	3-тя		5,4±0,3	5,1±0,2	4,46±0,01
Тромбоцити, Т/л	1-ша	385,0±8,0	290,0±9,0*	280,0±8,0*	360,0±9,0
	2-га		290,0±9,0*	380,0±7,0**	390,0±8,0
	3-тя		290,0±9,0*	400,0±8 **	410,0±9,0
ШОЕ, мм/год	1-ша	4±0,1	4,1±0,2	4,0±0,1	4,1±0,2
	2-га		4,1±0,2	4,2±0,2	4,2±0,2
	3-тя		4,1±0,2	4,0±0,1	4,1±0,1

Примітка. * – достовірні зміни відносно групи інтактних тварин;

** – достовірні зміни відносно контролю;

*** – достовірні зміни відносно препарату.

На 15 добу після початку введення бензолу і 5 добу введення есміну та крапель Береша в контролі відмічено достовірно знижені вміст гемоглобіну – з (145,0±8,0) до (110,0±6,0) г/л, кількість еритроцитів – з (7,0±0,3) до (5,5±0,2) Г/л і лейкоцитів – з (10,0±0,3) до (7,0±0,2) Т/л, відсутні еозинофіли. При введенні крапель Береша вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів підвищувались, але ці показники все ще залишались низькими. У групі тварин, яким вводили есмін, всі показники крові після 5-го введення препарату досягали вихідних даних.

На 25 добу після початку введення бензолу в контролі вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів ще залишались зниженими –

з (145,0±8,0) до (130,0±6,0) г/л, з 7,0 і 0,3 до (6±0,25) Г/л, з (10,0±0,3) до (8,0±0,25) Т/л відповідно. При застосуванні крапель Береша з 10-го введення до цього строку спостереження показники крові досягали вихідних величин. Введення есміну підвищувало, порівняно з вихідними даними, вміст гемоглобіну – з (145,0±8,0) до (155,0±8,0) г/л, еритроцитів – з (7,0±0,3) до (7,6±0,25) Г/л, паличкоядерних нейтрофілів – з (0,1±0,005) до (0,3±0,01) Т/л, сегментоядерних нейтрофілів – з (4,2±0,2) до (5,5±0,3) Т/л.

Для обговорення стану гемопоєзу при введенні есміну і крапель Береша за умов бензолної анемії у тварин всіх груп вивчали і морфологічний склад кісткового мозку. Крім

підрахунків клітинного складу мієлограми, визначали індекси дозрівання елементів еритробластичного і мієлоїдного рядів, лейкоеритроїдне співвідношення, які характеризують стан системи гемопоезу (табл. 2).

Вивчення морфологічного складу клітин кісткового мозку показало, що на 10 добу введення бензолу (контроль) зменшувалась кількість молодих форм, як мієлоїдного, так і еритроїдного рядів, що приводило до збільшення індексу дозрівання елементів еритроїдного ряду з 0,8 до 0,91 і зниження індексу дозрівання нейтрофілів з 0,87 до 0,72.

На 15 добу дослідження (після 5-го введення есміну і крапель Береша) в контролі кількість молодих мієлоцитів і еритроїдних клітин залишалась зниженою. При лікуванні бензолної анемії краплями Береша вміст мієлоцитів і еритробластів був вищим, ніж у контролі, й мало відрізнявся від вихідних даних.

Після п'яти введень есміну кількість молодих мієлоїдних і еритроїдних клітин у кістковому мозку була значно вищою, ніж у контролі й інтактних тварин. Так, у контролі індекс дозрівання нейтрофілів складав 0,77, в інтактних – 0,87, при введенні есміну – 1,0. Дещо більший вміст у цій групі тварин і еритробластів, індекс дозрівання яких дорівнював 0,77 (в контролі – 0,86, в інтактних тварин – 0,8).

На 25 добу експерименту (після 10-го введення препаратів у контролі й групі мишей, лікованих краплями Береша) морфологічний склад клітин кісткового мозку практично не відрізнявся від мієлограми інтактних тварин. Введення ж есміну не тільки попереджувало розвиток анемії, але і сприяло інтенсивнішому утворенню молодих форм мієлоїдного ряду – з 0,8 в інтактних тварин до 0,72 в контролі, а також збільшувало індекс дозрівання нейтрофілів з 0,87 і 0,83 до 1 відповідно.

Таблиця 2 – Динаміка показників клітинного складу кісткового мозку мишей при бензолній анемії (n=6)

Показник мієлограми, %	Конт- роль	1-ша група			2-га група			3-тя група		
		Доба після першого введення бензолу								
		10	15	25	10	15	25	10	15	25
Промієлоцити	1	–	–	–	–	1	2	–	–	–
Мієлоцити нейтрофільні	15	9	10	12	–	17	18	–	14	15
Мієлоцити еозинофільні	2	–	–	1	–	2	2	–	1	2
Мієлоцити базофільні	–	5	4	3	–	–	–	–	1	1
Метамієлоцити (юні)	10	7	8	9	–	11	11	–	9	10
Нейтрофіли паличкоядерні	13	10	10	12	–	13	13	–	13	13
Нейтрофіли сегментоядерні	17	19	18	18	–	15	17	–	17	17
Еозинофіли	1	–	–	1	–	1	2	–	1	2
Моноцити	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Базофіли	–	5	5	1	–	1	–	–	2	–
Лімфоцити	13	20	20	17	–	12	9	–	17	13
Ретикулоцити	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Плазматичні клітини	1	3	3	2	–	1	1	–	1	2
Еритробласти базофільні	6	2	3	4	–	6	7	–	5	5
Еритробласти поліхроматофільні	5	3	4	5	–	5	5	–	5	5
Еритробласти оксифільні	4	5	4	4	–	4	4	–	4	5
Нормобласти поліхроматофільні	5	6	5	5	–	5	4	–	5	5
Нормобласти оксифільні	6	7	6	6	–	6	5	–	5	6
Індекс дозрівання елементів еритроцитарного ряду	0,8	0,91	0,86	0,8		0,77	0,72	–	0,8	0,8
Кістковий індекс дозрівання нейтрофілів	0,87	0,72	0,77	0,83		1,0	1,0	–	0,8	0,86
Лейкоеритроїдне співвідношення	2,7:1	2,9:1	3,4:1	3:1	–	2,7:1	2,9:1		2,8:1	2,7:1

ВИСНОВОК. Проведені дослідження показали, що введення есміну тваринам з гіпопластичною бензолною анемією не тільки

швидко відновлює кількість і морфологічний склад клітин крові й кісткового мозку, але і проявляє певний гемостимулювальний ефект.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология : справочник / К. М. Абдулкадыров. – СПб. : Питер, 2006. – 448 с.
2. Гематология / под ред. О. А. Рукавицина. – СПб. : ООО “Д.П.”, 2007. – 912 с.
3. Гематология : руководство для врачей / под ред. Н. Н. Мамаева, С. И. Рябова. – СПб. : Спецлит, 2008 – 543 с.
4. Гусева С. А. Болезни системы крови : справочник / С. А. Гусева, В. П. Вознюк, М. Д. Бальшин. – К. : Логос, 2001. – 542 с.
5. Комплексоутворення як спосіб підвищення нешкідливості сполук мікроелементів / Г. С. Григор'єва, Л. М. Киричок, Н. Ф. Конахович [та ін.] // Совр. проблемы токс. – 1998. – № 1. – С. 21–23.
6. Координационные соединения металлов в медицине / [Е. Е. Крисс, И. И. Волченскова, А. С. Григорьева и др.] – К. : Наукова думка, 1986. – 216 с.
7. Терапия апластической анемии / Е. А. Михайлова, Г. А. Клясова, Е. Н. Устинова, В. Г. Савченко. – М. : ООО “Компания БОРГЕС”, 2008. – 30 с.
8. Хоффбранд Виктор. Гематология : атлас-справочник / Виктор Хоффбранд, Джон Петит ; пер. с англ. – М. : Практика, 2007. – 408 с.
9. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма : справочное пособие / И. А. Волчегорский. – Челябинск, 2000. – 167 с.
10. Hoffman Ronald Hematology Basic Principles and Practice. 3rd Edition1/ [Ronald Hoffman, J. Edward, Jr. Benz et al.] / Churchill Livingstone. New York, London, San Francisco, 2000. – 2584 p.
11. Oxford Handbook of Clinical Haematology. Second editon / D. Provan, Ch. R. S. Singer, T. Baglin, J. Lilleinan. – Oxford : University Press, 2004.

А.С. Григорьева¹, Н.Ф. Канахович¹, С.О. Шаповалов², М.М. Долгая², Н.Е. Узленкова³
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ НАН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ ЖИВОТНОВОДСТВА НААН УКРАИНЫ², ХАРЬКОВ
ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ НАН УКРАИНЫ³, ХАРЬКОВ

КОРРЕКЦИЯ ИСКУССТВЕННОЙ БЕНЗОЛЬНОЙ ГИПОПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМПЛЕКСНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

Резюме

Данная статья посвящена вопросам этиологии и патогенеза в терапии гипопластической анемии. Приведены результаты сравнительного исследования влияния микроэлементной композиции “Эсмин” и иммуностимулирующего препарата “Капли Береша” на организм мышей, искусственно анемизированных бензолом. Установлено, что введение эсмина животным с гипопластической бензольной анемией не только быстро возобновляет количество и морфологический состав клеток крови и костного мозга, но и проявляет определенный гемостимулирующий эффект.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипопластическая анемия, эссенциальные микроэлементы, гемопоэз, костный мозг, гемостимулирующий эффект.

H.S. Hryhoryeva¹, N.F. Kanakhovych¹, S.O. Shapovalov², M.M. Dolhaya², N.Ye. Uzlenkova³
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF NAS OF UKRAINE¹, KYIV
INSTITUTE OF STOCK-RAISING OF NAAN OF UKRAINE², KHARKIV
INSTITUTE OF MEDICAL RADIOLOGY OF NAS OF UKRAINE³, KHARKIV

CORRECTION OF ARTIFICIAL BENZOL HYPOPLASTIC ANEMIA DURING USING OF COMPLEX TRACE COMPOSITION

Summary

This article adduces the etiology and pathogenesis in the treatment of hypoplastic anemia. There have been presented the comparing data of trace elements composition “Esmine” and immunostimulating drug Beresh drops on the body of mice, artificially anemised by benzol. There have been determined that introduction of Esmine in animals with hypoplastic anemia benzol not only restore the quantity and morphological composition of blood cells and bone marrow, but also shows some hemostimulating effect.

KEY WORDS: hypoplastic anemia, essential trace elements, forming organs, bone marrow, stimulating effect of hemodialysis.

Отримано 15.12.10

Адреса для листування: М.М. Долгая, вул. 7 Гв. Армії, 3, Харківська обл., Харківський р-н, смт Кулиничі, 62404, Україна.

**СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ
ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ**

Після ураження тварин різних вікових груп нітритом натрію відмічають активацію процесу метгемоглобіноутворення, що призводить до нагромадження вільнорадикальних метаболітів, які чинять токсичний вплив на структуру біологічних мембран. Встановлено, що у статевонезрілих тварин активність процесу метгемоглобіноутворення набуває максимального значення порівняно зі статевозрілими і старечими тваринами. Поряд із цим, у молодих тварин цитоліз гепатоцитів та еритроцитів проходить найінтенсивніше, що підтверджується збільшенням еритроцитарного індексу інтоксикації та активності амінотрансфераз у сироватці крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза, гемоглобін, метгемоглобін, еритроцитарний індекс інтоксикації, печінка, сироватка крові, нітритна інтоксикація, гемічна гіпоксія.

ВСТУП. За умов прогресування техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків токсикології та медицини залишається вивчення особливостей і механізмів комбінованої дії найбільш поширених поліантантів – факторів ризику виникнення екологічнозалежних мультифакторних хвороб [2, 8]. Серед основних забруднювачів навколишнього середовища – важкі метали й азотвмісні речовини, причому найчастіше зустрічаються комбінації декількох патогенних чинників [3, 4].

Нітрит натрію – класичний метгемоглобіноутворювач, за його дії на організм розвивається гемічна гіпоксія. Згідно з даними [11], нітрит натрію в контакт з оксигемоглобіном призводить до утворення радикалів, які є активними реагентами, що пошкоджують біологічні системи, мають виражену цитотоксичну дію та активують процеси вільнорадикального окиснення [5].

Одними з головних завдань токсикології були і залишаються досі вивчення дії антропогенних забруднювачів довкілля, що є факторами ризику виникнення патологій у живих організмів, та розробка адекватних заходів щодо їх попередження [6].

Найважливіша література, в якій наведено численні результати досліджень впливу нітратів і нітритів на організм тварин, не повністю відоб-

ражає їх токсикодинаміку. Тому наші дослідження, які мають важливе наукове та практичне значення, були спрямовані на поглиблене вивчення патогенезу нітритного токсикозу в щурів різного віку.

Метою даного дослідження було встановити ступінь проникності еритроцитарних мембран та клітин печінки за умов нітритної інтоксикації тварин різного віку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” [7]. Виконували їх згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985). Усіх тварин було поділено на групи: 1-ша група – контрольні (інтактні) тварини (щури статевонезрілі, статевозрілі й старечі (1–3, 6, 18 місяців з вихідною масою 80–90, 180–200 і 300–320 г)); 2-га група – щури статевонезрілі, уражені нітритом натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла; 3-тя група – щури статевозрілі, отруєні нітритом натрію в тій же дозі; 4-та – щури старечі, отруєні нітритом натрію в дозі 45 мг/кг ($1/4$ від LD_{50}). Щури конт-

© П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, Н.І. Бурмас, І.З. Кернична, 2011.

рольної групи (інтактні тварини) отримували фізіологічний розчин за такою самою схемою. Нітрит натрію вводили інтрагастрально. Через 24 год після введення нітриту натрію здійснювали евтаназію всіх дослідних груп під тіопенталовим наркозом.

Об'єктом досліджень слугували гомогенат печінки, сироватка крові та цільна кров. Ступінь тяжкості гемічної гіпоксії оцінювали за вмістом гемоглобіну (Hb) [11] та метгемоглобіну (MetHb) [11] в крові щурів, ступінь проникності клітинних мембран – за еритроцитарним індексом інтоксикації (EII) [8], у крові та печінці піддослідних тварин визначали активність амінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) [1], адже саме ці ферменти відображають функціональний стан печінки. Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм "Microsoft Excel" та "STATISTICA 6,0" з розрахунку середніх величин, їх похибок, критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що введення в організм тварин нітриту

натрію в дозі $1/4$ від LD_{50} індукує значне утворення метгемоглобіну в крові, що призводить до розвитку гіпоксичного стану (табл.). В основі розвитку гіпоксичного пошкодження за гемічним типом лежить знижене забезпечення тканин киснем внаслідок підвищення рівня інактивованого гемоглобіну-метгемоглобіну [8, 11].

Як свідчать дані таблиці, нітрит натрію сприяє розвитку гемічної гіпоксії легкого ступеня у статевозрілих тварин, гемічної гіпоксії середньої тяжкості – у старечих, гемічної гіпоксії більш тяжкого ступеня – у статевонезрілих. Встановлено, що у статевонезрілих щурів вміст MetHb після ураження підвищився на 90 %, у статевозрілих – на 31 %, у старечих – на 54 %.

У зв'язку з підвищеним вмістом метгемоглобіну при нітратному ураженні в крові активуються процеси пероксидації ліпідів [4], причому з усіх видів гіпоксій за гемічної форми ці процеси перебігають найбільш інтенсивно і їх пов'язують з акумуляцією катехоламінів, дефіцитом антиокиснювальної системи, зниженням цитохром-активності [11].

Таблиця – **Вміст гемоглобіну, метгемоглобіну та еритроцитарного індексу інтоксикації в крові тварин різного віку за умов нітритної інтоксикації (M±n, n=6)**

Досліджуваний показник	Статевонезрілі		Статевозрілі		Старечі	
	інтактні	уражені NaNO ₂	інтактні	уражені NaNO ₂	інтактні	уражені NaNO ₂
Hb, г/л	122,70± 1,87	110,5± 1,67*	130,27± 3,72	124,25± 2,98	118,73± 4,12	112,45± 2,31
MetHb, г/л	1,548± 0,004	2,947± 0,004*	1,507± 0,008	1,982± 0,007*	1,477± 0,004	2,283± 0,008*
EII, %	66,070± 0,308	101,500± 0,144*	64,210± 0,047	81,198± 0,079*	61,130± 0,196	69,230± 0,197*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контрольної патології.

Слід зазначити, що Hb як субстрат окиснення, перетворюючись у MetHb, стає каталізатором оксидативних процесів в організмі, тобто проявляє прооксидний ефект. Так, нітрит-іони після потрапляння у кров за досить короткий проміжок часу проникають крізь еритроцитарні мембрани, ініціюючи в останніх вільнорадикальні перетворення, зокрема утворення активних форм кисню, таких, як $O^{\cdot -}$, NO^{\cdot} та ін. Інтенсифікація цього вільнорадикального окиснення ліпідів та зниження антиоксидантного захисту, згідно з даними літератури, є визначальним фактором зменшення резистентності еритроцитарних мембран до гемолізу [9, 11].

Нами встановлено, що введення в організм тварин нітриту натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла призводить до збільшення проникності

еритроцитарної мембрани, про що свідчить підвищений EII в крові у всіх дослідних групах (табл.).

Як видно з таблиці, найвищий відсоток проникності еритроцитарних мембран спостерігався у статевонезрілих тварин (збільшився на 38,5 % відповідно до контрольної групи), дещо менше – у старечих (на 13,45 % порівняно з інтактними тваринами), найнижчий відсоток проникності еритроцитарних мембран відмічали у статевозрілих щурів.

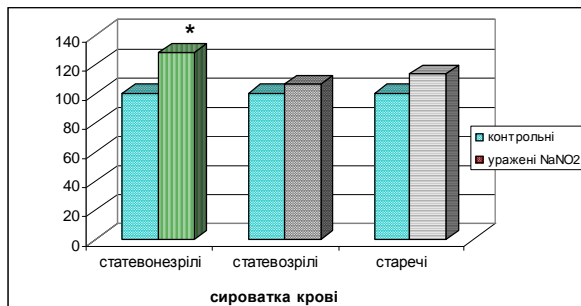
За гострого нітритного навантаження, внаслідок порушення білоксинтезуючої та дезінтоксикаційної функцій печінки, відзначали зниження активності амінотрансфераз у цьому органі. Останнє вказує на цитоліз гепатоцитів та зміну проникності їх мембран, що при-

зводить до виходу органоспецифічних ферментів у позаклітинний простір.

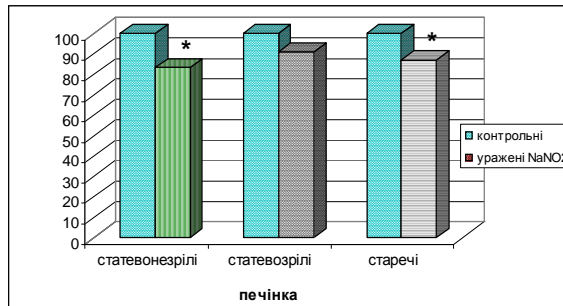
При введенні нітриту натрію в організм статевонезрілих тварин активність АлАТ у печінці уражених щурів знизилась в 1,2 раза, статевозрілих – в 1,1 раза, старечих – в 1,15 раза (рис. 1) порівняно з контрольною групою. У

сироватці крові після введення токсиканту відмічали підвищення активності амінотрансфераз, що є наслідком цитолітичного ефекту використаного нами нітриту натрію.

Аналогічна тенденція спостерігалась при визначенні активності АсАТ у тварин всіх вікових груп (рис. 2).

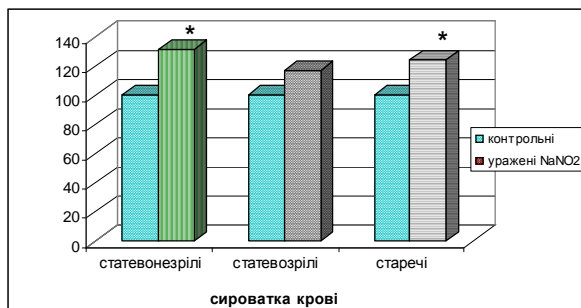


а

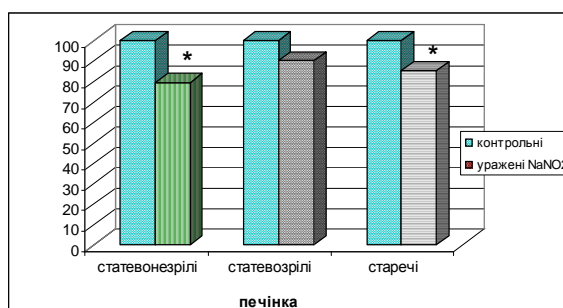


б

Рис. 1. Активність АлАТ у сироватці крові (а) та печінці (б) тварин різного віку, уражених нітритом натрію, %.



а



б

Рис. 2. Активність АсАТ у сироватці крові (а) та печінці (б) тварин різного віку, уражених нітритом натрію, %.

Таким чином, отримані нами результати вказують на токсичну дію нітриту натрію в організмі тварин різних вікових груп. Відмічається активація окиснювальних процесів, зокрема метгемоглобіноутворення, підвищення проникності еритроцитарних та плазматичних мембран гепатоцитів, про що свідчить збільшення ЕП й активності АлАТ та АсАТ в сироватці крові уражених щурів.

ВИСНОВОК. Найбільш чутливими до дії нітриту натрію є статевонезрілі щури, в яких активність окиснювальних процесів була найвищою, і це призвело до значних порушень проникності біологічних мембран, а звідси, виходу внутрішньоклітинних компонентів у кров. Найменш чутливими до дії нітриту натрію виявились статевозрілі щури. У старечих тварин всі досліджувані показники незначно відрізнялися від норми.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вивчення дезінтоксикаційних властивостей фібрабету на тваринах за умов комбінованої дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення / Л. С. Фіра, О. В. Благодарова, Б. Р. Бойчук, Д. В. Козак // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. – 2000. – 4 (11). – С. 83–86. – (Серія "Біологія").

2. Виявлення метаболічних порушень в організмі щурів при поєднаній дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення /

Л. С. Фіра, О. І. Кривокульський, С. Ю. Соснієнко, Л. В. Головатюк // Екол. та ноосферол. – 2002. – 11, № 1–2. – С. 26–32.

3. Головки Л. Л. Вплив поєданого введення нітритів та солей важких металів на стан захисних систем організму в експерименті / Л. Л. Головки, Я. І. Гонський І. М. Кліщ // Вісник наук. досліджень. – 2004. – № 3. – С. 122–123.

4. Гонський Я. І. Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи

у щурів, уражених натрію нітритом і кадмію хлоридом / Я. І. Гонський, М. І. Борис // Мед. хімія. – 2007. – № 4. – С. 58–61.

5. Кіцула Л. М. Біологічна дія сумішей нітрату та нітриту натрію зі свинцем на організм білих щурів / Л. М. Кіцула // Гигиена населенных мест : сб. науч. тез. – К., 2001. – Т. 1, вып. 38. – С. 284–285.

6. Котюжинська С. Г. Порівняльна характеристика впливу нітриту натрію на систему гомеостазу *in vivo* та *in vitro* / С. Г. Котюжинська // Вісник наук. досліджень. – 2002. – № 1. – С. 108–109.

7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 136 с.

8. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / Л. В. Пані-

на, О. І. Терлецькі, С. М. Ковальчук, М. Р. Гжегоцький // Здоб. клін. та експерим. медицини. – 2008. – № 2. – С. 72–76.

9. Попович А. С. NO-синтазна активність і вміст нітритів у печінці та мозку щурів різного віку / А. С. Попович, А. О. Шеремет, Ю. В. Нікітченко // Мед. хімія. – 2010. – № 3. – С. 54–56.

10. Характеристика про- та антиоксидантних параметрів крові при попередньому застосуванні коригувальних засобів за умов гемічної гіпоксії / М. Р. Гжегоцький, Л. В. Паніна, О. І. Терлецькі, С. М. Ковальчук // Буковинський мед. вісн. – 2008. – № 2. – С. 91–95.

11. Чорна В. І. Вплив іонізуючої радіації і нітритної метгемоглобінемії на вміст метгемоглобіну в крові статевозрілих щурів і їх нащадків у динаміці раннього постнатального розвитку / В. І. Чорна // Мед. хімія. – 2009. – № 1. – С. 63–66.

П.Г. Лихацкий, Л.С. Фира, Н.И. Бурмас, И.З. Керничная
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ПОРАЖЕНИИ НАТРИЯ НИТРИТОМ

Резюме

После поражения животных разного возраста нитритом натрия отмечают активацию процесса метгемоглобинообразования, что приводит к накоплению свободнорадикальных метаболитов, оказывающих токсическое воздействие на структуру биологических мембран. Установлено, что у половозрелых животных активность процесса метгемоглобинообразования приобретает максимальное значение по сравнению с молодыми и старческими животными. Наряду с этим, у молодых животных цитолиз гепатоцитов и эритроцитов проходит интенсивнее, что подтверждается увеличением эритроцитарного индекса интоксикации и активности аминотрансфераз в сыворотке крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, гемоглобин, метгемоглобин, эритроцитарный индекс интоксикации, печень, сыворотка крови, нитритная интоксикация, гемическая гипоксия.

P.H. Lykhatskyi, L.S. Fira, N.I. Burmas, I.Z. Kernychna
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE STATE OF CELL MEMBRANE OF RATS OF DIFFERENT AGE UNDER CONDITIONS OF AFFECTION BY SODIUM NITRITE

Summary

After the affection of animals of different age groups by sodium nitrite was observed activation the process of methemoglobin formation, that leads to accumulation of free radical metabolites, which have a toxic influence on the structure of biological membranes. It was found that in sexually immature animals an activity of the process of MetHb-formation becomes the maximum value compared with sexually mature and old animals. At the same time in this age group the cytolysis of hepatocytes and erythrocytes is the most intensive, as evidenced by the increase of erythrocyte indices of intoxication and the activity of aminotransferases in the blood serum.

KEY WORDS: alaninaminotransferase, aspartataminotransferase, hemoglobin, methemoglobin, the erythrocyte indices of intoxication, liver, blood serum, nitrite intoxication, hemic hypoxiation.

Отримано 12.10.10

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

ЗАСТОСУВАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО КОМБІНОВАНОГО ГЕПАТИТУ В ЩУРИВ

В експерименті на тваринах з модельованим комбінованим хронічним гепатитом встановлено антиоксидантні, мембранопротекторні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної, що підтверджується зниженням в ураженому організмі вмісту ТБК-реагуючих продуктів, молекул середньої маси, активності АлАТ і проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: чоловічі бруньки обліпихи крушиноподібної, густий екстракт, хронічний гепатит, антиоксидантні та гепатопротекторні властивості.

ВСТУП. Частота захворювань печінки в людей різного віку за останні десятиліття різко зросла, що є результатом впливу агресивних чинників як екзогенного, так і ендогенного походження, зокрема алкоголю, лікарських засобів і токсичних відходів від виготовлення продуктів сільського господарства.

У загальній структурі захворювань печінки провідна роль належить хронічним гепатитам різної етіології, внаслідок яких порушуються структура та функція гепатоцитів [1, 4, 5]. Для лікування таких захворювань використовують різні гепатопротектори та антиоксиданти як синтетичного, так і рослинного походження [2].

Актуальним є пошук нової лікарської рослинної сировини, БАР якої проявляли б позитивний вплив на організм в умовах хронічних гепатитів. Звідси стає доцільним впровадження в медичну практику нових лікарських засобів на її основі. Однією з перспективних рослин в цьому напрямку є обліпиха крушиноподібна, зокрема чоловічі бруньки *Hippophae rhamnoides L.* та густий екстракт на їх основі.

Метою даної роботи було дослідження антиоксидантних, мембранопротекторних та гепатопротекторних властивостей густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної на моделі хронічного комбінованого гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Інтоксикацію тварин викликали шляхом введення CCl_4 в дозі 0,2 мл/кг олійного розчину внутрішньочерев-

© В.П. Пида, 2011.

но два рази на тиждень протягом чотирьох тижнів із заміною питної води 5 % розчином етанолу [7].

Досліджували гомогенат печінки, кров та сироватку крові.

Усі експерименти на тваринах проводили згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках [3].

Тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури; 2-га – тварини, отруєні тетрахлорметаном та етанолом (контрольна група); 3-тя – уражені тварини, яким щоденно протягом 30 днів вводили густий екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної в дозі 100 мг/кг; 4-та – уражені тварини, яким щоденно протягом 7 днів після моделювання хронічного комбінованого гепатиту для корекції порушень вводили густий екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної в дозі 100 мг/кг, як препарат порівняння використовували силібор в дозі 50 мг/кг маси тварин. Для оцінки антиоксидантних, мембранопротекторних та гепатопротекторних властивостей досліджуваної лікарської форми у піддослідних тварин вивчали вміст ТБК-реагуючих продуктів [6], еритроцитарний індекс інтоксикації [1], активність АлАТ [8] та вміст молекул середньої маси (МСМ) [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що ураження організму тварин CCl_4 та етиловим спиртом призводить до суттєвого зростання вмісту ТБК-реагуючих продуктів, причому максимальним він був на 37-му добу після отруєння даними гепатотоксинами (табл. 1).

Таблиця 1 – Вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці уражених тварин (мкмоль/кг) після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної і силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	ТБК-реагуючі продукти			
	сироватка крові		печінка	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	2,85±0,07		0,90±0,03	
Уражені	9,04±0,13*	10,06±0,29*	1,67±0,07*	2,67±0,12*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	7,00±0,10**	5,94±0,11**	1,23±0,05**	1,59±0,01**
Ліковані силібором	6,80±0,13**	5,99±0,12**	1,24±0,06**	1,61±0,01**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – достовірні зміни між інтактними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); ** – достовірні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p_1 < 0,05$).

У цей період вміст ТБК-реагуючих продуктів зріс у сироватці крові та печінці ($p < 0,05$) в 3,5 і 3 рази відповідно. На 30-ту добу дослідження даний показник збільшився у сироватці крові в 3,2, печінці ($p < 0,05$) – у 2 рази. Можливо, на 30-ту і 37-му доби дослідження максимально проявилась дія ксенобіотиків і активація процесів ПОЛ досягла свого найвищого значення.

Після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові знизився в 1,3 раза на 30-му добу експерименту і в 1,7 раза на 37-му добу дослідження відносно уражених ($p < 0,05$) тварин.

Введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної призвело до зниження продуктів ліпопероксидації в печінці

уражених тварин на 49 % на 30-ту добу експерименту та на 120 % на 37-му добу дослідження. Достовірні зміни відмічено у всі терміни дослідження даного показника ($p_1 < 0,05$). Застосування силібору позитивно вплинуло на досліджувані показники протягом всіх термінів експерименту.

Про гепатопротекторні властивості лікарської форми можна судити за активністю амінотрансфераз, які є органоспецифічними внутрішньоклітинними ферментами печінки. Підвищення їх у сироватці крові вказує на цитоліз та зміну проникності плазматичних мембран гепатоцитів.

Як видно з таблиці 2, введення тетрахлорметану та етилового спирту в організм тварин призводить до суттєвого зростання активності АлАТ в сироватці крові.

Таблиця 2 – Еритроцитарний індекс інтоксикації (%) та активність АлАТ у сироватці крові (мкмоль/л-год) і печінці (мкмоль/кг-год) уражених тварин після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної та силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Показник					
	АлАТ				ЕІІ	
	сироватка крові		печінка		кров	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	0,26±0,01		0,68±0,013		72,70±0,40	
Уражені	0,37±0,02*	0,43±0,02*	0,70±0,01	0,85±0,01*	80,60±0,61*	78,30±0,31*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	0,30±0,01**	0,27±0,01**	0,69±0,01	0,75±0,01**	74,70±0,30**	75,00±0,55**
Ліковані силібором	0,31±0,01**	0,29±0,01**	0,69±0,02	0,77±0,01**	75,50±0,25**	75,90±0,45**

На 30-ту добу експерименту активність АлАТ зросла в сироватці крові в 1,4 раза ($p < 0,05$), на 37-му добу дослідження в 1,7 раза ($p < 0,05$).

У печінці піддослідних щурів на 30-ту і 37-му доби активність АлАТ збільшувалась на 3 та 25 % відповідно порівняно з інтактними тваринами. Відмічене зростання активності даного ферменту в сироватці крові перевищувало його

активність у печінці. Це пов'язано, ймовірно, з токсичним впливом на печінку тетрахлорметану та етилового спирту, що призводить до виходу внутрішньоклітинних компонентів у кров.

Після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної активність АлАТ у сироватці крові уражених тварин знизилася

на 27 % на 30-ту добу експерименту та на 60 % на 37-му добу. Зміни були вірогідні в обидві доби дослідження ($p_1 < 0,05$). У печінці зниження активності АлАТ у лікованих тварин відносно уражених було достовірним на 37-му добу дослідження.

Аналогічна тенденція до зниження активності АлАТ спостерігалась після застосування силібору. Щоправда, густий екстракт з обліпихи крушиноподібної проявив більш виражений вплив на даний показник, ніж силібор.

Нами досліджено проникність еритроцитарних мембран у тварин після ураження тетрахлорметаном та етанолом. Результати вивчення ЕІІ наведено в таблиці 2. На 30-ту добу від початку дії токсинів відмічали достовірне збільшення ЕІІ, тобто підвищилась проникність еритроцитарної мембрани для різних речовин. Проникність еритроцитарної мембрани збільшувалась до кінця експерименту (на 30-ту

добу – на 11 %, а на 37-му – на 8 % перевищувала таку в здорових тварин).

Екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної викликав достовірні зміни проникності еритроцитарних мембран на 30-ту і 37-му доби експерименту. На 30-ту добу дослідження ЕІІ знизився на 8 %, а на 37-му добу – на 5 % від рівня уражених тварин.

Активация процесів вільнорадикального окиснення і токсичні продукти, які при цьому утворюються, спричиняють деструктивний вплив на мембрани клітин, чим поглиблюють інтоксикацію організму, про ступінь якої судять за вмістом у сироватці крові МСМ.

На 30-ту добу дослідження (табл. 3) в сироватці крові уражених щурів зростав вміст $СМ_1$ (переважали ланцюгові амінокислоти) та $СМ_2$ (переважали ароматичні амінокислоти) і становив 217 та 225 % відповідно від рівня інтактних тварин.

Таблиця 3 – Вміст МСМ у сироватці крові (ум. од./л) та печінці уражених тварин (ум. од./кг) після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної і силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Показник							
	$СМ_1$				$СМ_2$			
	сироватка крові		печінка		сироватка крові		печінка	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	0,240±0,012		2,470±0,013		0,240±0,010		2,520±0,011	
Уражені	0,520±0,011*	0,680±0,016*	2,530±0,012*	3,350±0,079*	0,540±0,012*	0,540±0,012*	2,590±0,015*	2,830±0,013*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	0,420±0,020**	0,540±0,012**	2,470±0,014**	2,800±0,071**	0,450±0,008**	0,480±0,013**	2,560±0,007	2,550±0,040**
Ліковані силібором	0,460±0,010**	0,560±0,011**	2,490±0,011**	3,050±0,061**	0,440±0,010**	0,490±0,012**	2,570±0,007	2,650±0,040**

На 37-му добу дослідження вміст даних продуктів у сироватці крові зростав ще більше (для $СМ_1$ – в 2,83 раза, для $СМ_2$ – в 2,25 раза) порівняно з інтактними тваринами.

Нами відмічено достовірне підвищення фракцій $СМ_1$ та $СМ_2$ у печінці піддослідних щурів протягом всього експерименту. Причому зростання $СМ_1$ та $СМ_2$ на 30-ту добу було незначним. На 37-му добу експерименту вміст $СМ_1$ в уражених тварин на 36 % перевищував його в інтактних, вміст $СМ_2$ виявився на 12 % більшим норми ($p_1 < 0,05$).

Вірогідні зміни щодо зниження вмісту фракцій $СМ_1$ та $СМ_2$ в сироватці крові лікованих тварин відносно уражених спостерігали на 30-ту (на 42 та 38 % відповідно) і 37-му доби дослідження (на 58 та 25 % відповідно) ($p_1 < 0,05$).

Встановлено, що в печінці уражених тварин введення обидвох коригувальних чин-

ників знижувало вміст МСМ протягом всього експерименту. При вивченні цього показника ефективнішим виявилось застосування густого екстракту з обліпихи.

ВИСНОВОК. На моделі комбінованого хронічного гепатиту нами встановлено антиоксидантні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної, що проявляється пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів, стабілізацією проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів і зниженням ендогенної інтоксикації організму. Це дозволяє використати екстракт як лікарську форму для лікування хронічних гепатитів, а також створити на його основі нові лікарські засоби з метою впровадження в клініку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Атаманюк О. Ю. Значення сорбційної здатності еритроцитів у диференціальній діагностиці гострого апендициту / О. Ю. Атаманюк // Лаб. діагностика. – 2008. – № 2 (44). – С. 32–34.
2. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – К. : Здоров'я, 1989. – 168 с.
3. Етика лікаря та права людини : положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
4. Ивашкин В. Т. Алкогольно-вирусные заболевания печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская. – М. : Литтерра, 2007. – 160 с.
5. Калинин А. В. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / под ред. А. В. Калинина, А. И. Хазанова. – М. : Миклош, 2007. – 602 с.
6. Методы биохимических исследований / под ред. М. И. Прохоровой. – Л. : Издательство Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.
7. Effects of dithiocarb and (+)cyanidanol-3 on the CCL₄ alcohol induced fibrosis of rat liver / C. P. Siegers, V. Voipel, G. Schel, M. Jounes // Connective Tissue Norn. and Fibrotis. Hum. Liver. Stuttgart. – New-York, 1982. – P. 244–245.
8. Reitman S., Frankel S. // Am. J. Clin. Pathol. – 1957. – 28. – P. 56.

В.П. Пыда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПРИМЕНЕНИЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА С ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО КОМБИНИРОВАННОГО ГЕПАТИТА У КРЫС

Резюме

В эксперименте на животных с моделированным комбинированным хроническим гепатитом установлены антиоксидантные, мембранопротекторные и гепатопротекторные свойства густого экстракта с мужских почек облепихи крушиновидной, что подтверждается снижением в пораженном организме содержания ТБК-реагирующих продуктов, МСМ, активности АлАТ и проницаемости плазматических мембран гепатоцитов и эритроцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мужские почки облепихи крушиновидной, густой экстракт, хронический гепатит, антиоксидантные и гепатопротекторные свойства.

V.P. Pyda

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

USAGE OF THE THICK SEA-BUCKTHORN EXTRACT IN THE CONDITIONS OF CHRONIC COMBINED HEPATITIS IN RATS

Summary

In the experiment on rats with the designed combined chronic hepatitis there were set antioxydative, membranoprotective and hepatoprotective properties of the thick sea-buckthorn extract. It was confirmed by decreasing of aldehyde level, decreasing of middle weight molecules level, decreasing of ALAT activity and decreasing of permeability of hepatocyte and erythrocyte membranes.

KEY WORDS: the buds of sea buckthorn, thick extracts, chronic hepatitis, antioxydative and hepatoprotective properties.

Отримано 08.12.10

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

І.В. Українець, М.Ю. Голік, В.М. Кравченко, В.О. Паршиков¹
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
 КРИМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ С.І. ГЕОРГІЄВСЬКОГО¹,
 СІМФЕРОПОЛЬ

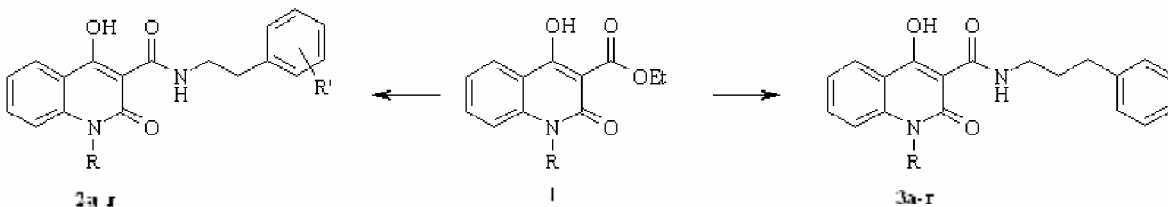
АРИЛАЛКІЛАМІДИ 1-*R*-4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ. СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

*Продовжуючи пошук нових біологічно активних речовин серед сполук хінолонового ряду, здійснено синтез серії арилалкіламідів 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Вивчено діуретичні та протизапальні властивості одержаних речовин, обговорюються виявлені закономірності зв'язку "структура-активність".*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: арилалкіламіди, 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонові кислоти, діуретики, протизапальна активність.

ВСТУП. Діуретики цілком заслужено відносять до життєво важливих лікарських засобів. Уже багато років препарати цієї фармакологічної групи традиційно застосовують при гострих отруєннях, нирковій чи серцевій недостатності та набряках мозку [2, 6, 8, 10, 13]. Однак в останні роки перелік показань до клінічного використання діуретичних засобів значно розширився, і тепер їх все частіше з успіхом застосовують у галузях, на перший погляд, мало пов'язаних з необхідністю посиленого сечовиділення, – онкології [7], трансплантології [12], а також при лікуванні таких захворювань, як муковісцидоз [10] чи епілепсія [9]. Зважаючи на те, що потреба в діуретиках з боку практичної медицини постійно зростає, пошук нових речовин з цим видом фармакологічної дії та створення на їх основі лікарських засобів, які б відповідали сучасним вимогам щодо ефективності та безпечності, залишається актуальним завданням медичної хімії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Хінолін як основу сполук, здатних посилювати сечовидільну функцію нирок, ще зовсім недавно вважали абсолютно безперспективним. Разом з тим, проведені нами широкі скринінгові дослідження з вивчення біологічних властивостей численних 2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів дозволили виявити серед них і досить активні діуретики [15, 16], які навіть перевищували за специфічною дією відомі лікарські препарати при значно нижчій токсичності [3, 4]. Продовжуючи дослідження в даному напрямку, при взаємодії етилових естерів хінолін-3-карбонових кислот **1** з арилалкіламінами в киплячому етанолі нами здійснено синтез та вивчено біологічні властивості відповідних 2-арилетил- (**2а-т**) та 3-фенілпропіл- (**3а-г**) амідів 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот:



2: а R = R' = H; б R = Me, R' = H; в R = Et, R' = H; г R = All, R' = H; д R = Pr, R' = H; е R = Bu, R' = H;
 ж R = Am, R' = H; з R = H, R' = 4-Cl; и R = Me, R' = 4-Cl; і R = Et, R' = 4-Cl; к R = Pr, R' = 4-Cl;
 л R = H, R' = 4-OMe; м R = Me, R' = 4-OMe; н R = Et, R' = 4-OMe; о R = Pr, R' = 4-OMe;
 п R = H, R' = 3,4-(OMe)₂; р R = Me, R' = 3,4-(OMe)₂; с R = Et, R' = 3,4-(OMe)₂; т R = Pr, R' = 3,4-(OMe)₂
 3: а R = H; б R = Me; в R = Et; г R = Pr

© І.В. Українець, М.Ю. Голік, В.М. Кравченко, В.О. Паршиков, 2011.

Усі одержані 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксаміди (**2а-т**, **3а-г**) являють собою безбарвні кристалічні речовини з чіткими температурами плавлення, при кім-

натній температурі розчинні в ДМФА та ДМСО, мало розчинні в спиртах і практично не розчинні у воді (табл. 1). Їх хімічна будова підтверджена спектрами ЯМР ¹H (табл. 2).

Таблиця 1 – Характеристики арилалкіламідів
1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (**2**, **3**)

Сполука	Емпірична формула	Т. пл., °С	Знайдено, %			Вираховано, %			Вихід, %
			С	Н	N	С	Н	N	
2а	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	221–223	70,23	5,29	8,97	70,12	5,23	9,09	95
2б	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₃	114–116	70,88	5,75	8,76	70,79	5,63	8,69	93
2в	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₃	74–76	71,32	6,08	8,41	71,41	5,99	8,33	90
2г	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₃	78–80	72,51	5,90	8,16	72,40	5,79	8,04	91
2д	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₃	85–87	72,09	6,43	8,08	71,98	6,33	7,99	84
2е	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₃	69–71	72,63	6,57	7,58	72,51	6,64	7,69	87
2ж	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₃	63–65	72,90	6,85	7,33	72,99	6,92	7,40	82
2з	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₂ O ₃	249–251	62,98	4,52	8,11	63,07	4,41	8,17	97
2и	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₃	146–148	64,05	4,87	7,96	63,96	4,80	7,85	94
2і	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₂ O ₃	113–115	64,89	5,22	7,45	64,78	5,16	7,55	90
2к	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₂ O ₃	122–124	65,43	5,41	7,17	65,54	5,50	7,28	92
2л	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₄	227–229	67,56	5,47	8,36	67,45	5,36	8,28	94
2м	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₄	121–123	68,29	5,81	8,00	68,17	5,72	7,95	88
2н	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₄	108–110	68,93	6,13	7,57	68,84	6,05	7,65	85
2о	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₄	85–87	69,35	6,27	7,26	69,46	6,36	7,36	82
2п	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₅	182–184	65,14	5,40	7,72	65,21	5,47	7,60	91
2р	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₅	111–113	65,85	5,91	7,44	65,96	5,80	7,33	87
2с	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₅	80–82	66,56	6,02	6,95	66,65	6,10	7,07	84
2т	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₅	89–91	67,19	6,47	6,95	67,30	6,38	6,82	82
3а	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₃	164–166	70,88	5,74	8,56	70,79	5,63	8,69	89
3б	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₃	83–85	71,52	6,10	8,25	71,41	5,99	8,33	85
3в	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₃	66–68	72,09	6,45	8,08	71,98	6,33	7,99	83
3г	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₃	78–80	72,43	6,57	7,78	72,51	6,64	7,69	86

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА. Спектри ЯМР ¹H синтезованих речовин зареєстровано на спектрометрі Bruker AC-300, робоча частота складає 300 МГц, розчинник – ДМСО-*D*₆, внутрішній стандарт – ТМС.

Арилалкіламід 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (**2**, **3**). Загальна методика одержання. До розчину 0,01 моль етилового естеру хінолін-3-карбоної кислоти **1** в 20 мл етанолу додають 0,011 моль відповідного арилалкіламіну і кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 3 год. Реакційну суміш охолоджують, додають 100 мл холодної води і підкислюють HCl до pH=4,5. Осад аміду **2** чи **3** відфільтровують, промивають холодною водою, сушать. Кристалізують з етанолу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Діуретичні властивості одержаних арилалкіламідів **2**, **3** вивчали на безпородних білих щурах масою 180–200 г за стандартною методикою [5]. До-

сліджувати сполуки вводили *per os* в дозі 20 мг/кг у вигляді тонкої водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Препарат порівняння – гіпотіазид – застосовували у його ефективній дозі (40 мг/кг), діурез реєстрували через 4 год.

Аналіз одержаних при цьому даних (табл. 3) показує, що з переходом від бензиламідів 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот до 2-арилетильних **2** чи 3-фенілпропільних **3** аналогів сечогінна дія суттєво послаблюється. Говорячи інакше, одержано ще одне експериментальне підтвердження зробленого нами раніше висновку про негативний вплив на діуретичну активність хінолін-3-карбоксамідів віддалення ароматичного ядра від амідного атома нітрогену [15, 16]. Разом із тим, виявлено декілька цілком несподіваних винятків з цього правила. Так, зокрема, 4-метоксифенілетиламід **2н** і, що більш цікаво, 3-фенілпропіламіди **3а** та **3в** продемонстрували досить виражене посилення сечовидільної функції нирок.

Протизапальні властивості арилалкіламідів **2** і **3** вивчено, зважаючи на їх структурну схожість з високоактивними гетариламидами

4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот [14]. Випробовування проведено за відомою методикою [1] на білих безо-

Таблиця 2 – Спектри ЯМР ¹H синтезованих сполук, д, м.д.*

Сполука	N-(CH ₂) _n -Ar	R
2а	7,17 (5H, м, Ph); 3,65 (2H, к, NCH ₂); 2,93 (2H, т, CH ₂ Ph)	11,95 (1H, с, NH)
2б	7,10 (5H, м, Ph); 3,60 (2H, к, NCH ₂); 2,88 (2H, т, CH ₂ Ph)	3,71 (3H, с, NMe)
2в	7,11 (5H, м, Ph); 3,62 (2H, к, NCH ₂); 2,89 (2H, т, CH ₂ Ph)	4,30 (2H, к, NCH ₂); 1,32 (3H, т, Me)
2г	7,13 (5H, м, Ph); 3,63 (2H, к, NCH ₂); 2,90 (2H, т, CH ₂ Ph)	5,93 (1H, м, CH=CH ₂); 5,10 (1H, д, =CH- <i>cis</i>); 5,02 (1H, д, NCH ₂ CH=CH- <i>trans</i>); 4,86 (2H, м, NCH ₂)
2д	7,10 (5H, м, Ph); 3,61 (2H, к, NCH ₂); 2,92 (2H, т, CH ₂ Ph)	4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,79 (2H, м, CH ₂ Me); 1,08 (3H, т, Me)
2е	7,13 (5H, м, Ph); 3,61 (2H, к, NCH ₂); 2,89 (2H, т, CH ₂ Ph)	4,20 (2H, т, NCH ₂); 1,63 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,39 (2H, м, CH ₂ Me); 0,91 (3H, т, Me)
2ж	7,11 (5H, м, Ph); 3,64 (2H, к, NCH ₂); 2,92 (2H, т, CH ₂ Ph)	4,22 (2H, т, NCH ₂); 1,61 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,38 (4H, м, (CH ₂) ₂ Me); 0,90 (3H, т, Me)
2з	7,29 (4H, д, д, H аром.); 3,65 (2H, к, NCH ₂); 2,91 (2H, т, CH ₂)	11,70 (1H, с, NH)
2и	7,27 (4H, д, д, H аром.); 3,64 (2H, к, NCH ₂); 2,93 (2H, т, CH ₂)	3,72 (3H, с, NMe)
2і	7,29 (4H, д, д, H аром.); 3,66 (2H, к, NCH ₂); 2,94 (2H, т, CH ₂)	4,31 (2H, к, NCH ₂); 1,30 (3H, т, Me)
2к	7,28 (4H, д, д, H аром.); 3,68 (2H, к, NCH ₂); 2,95 (2H, т, CH ₂)	4,20 (2H, т, NCH ₂); 1,73 (2H, м, CH ₂ Me); 1,05 (3H, т, Me)
2л	7,18 (2H, д, H-3',5'); 6,82 (2H, д, H-2',6'); 3,79 (3H, с, OMe); 3,60 (2H, к, NCH ₂); 2,86 (2H, т, CH ₂ Ar)	11,69 (1H, с, NH)
2м	7,16 (2H, д, H-3',5'); 6,82 (2H, д, H-2',6'); 3,79 (3H, с, OMe); 3,61 (2H, к, NCH ₂); 2,89 (2H, т, CH ₂ Ar)	3,68 (3H, с, NMe)
2н	7,18 (2H, д, H-3',5'); 6,80 (2H, д, H-2',6'); 3,78 (3H, с, OMe); 3,61 (2H, к, NCH ₂); 2,88 (2H, т, CH ₂ Ar)	4,31 (2H, к, NCH ₂); 1,30 (3H, т, Me)
2о	7,19 (2H, д, H-3',5'); 6,81 (2H, д, H-2',6'); 3,79 (3H, с, OMe); 3,62 (2H, к, NCH ₂); 2,89 (2H, т, CH ₂ Ar)	4,20 (2H, т, NCH ₂); 1,74 (2H, м, CH ₂ Me); 1,05 (3H, т, Me)
2п	6,80 (3H, м, H аром.); 3,83 (3H, с, OMe); 3,79 (3H, с, OMe); 3,64 (2H, к, NCH ₂); 2,85 (2H, т, CH ₂ Ar)	11,70 (1H, с, NH)
2р	6,81 (3H, м, H аром.); 3,82 (3H, с, OMe); 3,80 (3H, с, OMe); 3,62 (2H, к, NCH ₂); 2,88 (2H, т, CH ₂ Ar)	3,67 (3H, с, NMe)
2с	6,81 (3H, м, H аром.); 3,84 (3H, с, OMe); 3,81 (3H, с, OMe); 3,66 (2H, к, NCH ₂); 2,85 (2H, т, CH ₂ Ar)	4,31 (2H, к, NCH ₂); 1,31 (3H, т, Me)
2т	6,80 (3H, м, H аром.); 3,82 (3H, с, OMe); 3,80 (3H, с, OMe); 3,63 (2H, к, NCH ₂); 2,86 (2H, т, CH ₂ Ar)	4,21 (2H, т, NCH ₂); 1,73 (2H, м, CH ₂ Me); 1,05 (3H, т, Me)
3а	7,20 (5H, м, Ph); 3,45 (2H, к, NCH ₂); 2,72 (2H, т, CH ₂ Ph); 1,99 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂)	11,86 (1H, с, NH)
3б	7,22 (5H, м, Ph); 3,43 (2H, к, NCH ₂); 2,73 (2H, т, CH ₂ Ph); 2,00 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂)	3,70 (3H, с, NMe)
3в	7,21 (5H, м, Ph); 3,47 (2H, к, NCH ₂); 2,75 (2H, т, CH ₂ Ph); 2,00 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂)	4,33 (2H, к, NCH ₂); 1,37 (3H, т, Me)
3г	7,23 (5H, м, Ph); 3,44 (2H, к, NCH ₂); 2,74 (2H, т, CH ₂ Ph); 2,00 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂)	4,23 (2H, т, NCH ₂); 1,76 (2H, м, CH ₂ Me); 1,07 (3H, т, Me)

Примітка. * – протони 4-ОН-груп проявляються синглетами інтенсивністю 1H у слабкому полі при 17,40–16,97 м.д., протони NH-груп – триплетами інтенсивністю 1H при 10,42–10,30 м.д. Сигнали протонів хінолонового фрагмента мають вигляд: H-5 – дублет при 8,20–8,00 м.д.; H-7 – триплет при 7,72–7,53 м.д.; H-8 – дублет при 7,50–7,34 м.д.; H-6 – триплет при 7,30–7,18 м.д.

родних щурах масою 180–200 г на моделі карагенінового набряку. Синтезовані речовини вводили перорально в дозі 8 мг/кг (ефективна доза препарату порівняння – ортофену) за 1 год до ін'єкції карагеніну. Антиексудативну дію оцінювали онкометрично через 2 год (максимум розвитку викликаного карагеніном набряку). Наведені в таблиці 3 дані свідчать

про те, що з подовженням вуглеводного ланцюжка, який розділяє ароматичне кільце та атом нітрогену в амідному фрагменті 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів на одну (арилетиламід **2**) чи дві (фенілпропіламід **3**) метиленові ланки, антиексудативний ефект, на відміну від діуретичного, помітно зростає.

Таблиця 3 – Біологічні властивості синтезованих сполук

Сполука	Діуретична активність		Протизапальна активність	
	об'єм виділеної сечі, мл	% до контролю*	величина набряку, ум. од.	% до контролю*
2a	1,92±0,21	-23	1,63±0,09	-25
2б	2,14±0,23	-14	1,78±0,12	-18
2в	2,26±0,18	-9	1,72±0,07	-21
2г	2,34±0,19	-6	1,89±0,15	-13
2д	2,01±0,15	-19	1,85±0,11	-15
2е	1,96±0,17	-21	1,59±0,12	-27
2ж	1,79±0,12	-28	1,74±0,14	-20
2з	1,20±0,10	-52	2,20±0,19	+1
2и	2,50±0,22	1	1,43±0,08	-34
2і	2,49±0,18	0	1,70±0,11	-22
2к	2,29±0,15	-8	1,91±0,10	-12
2л	2,19±0,11	-12	2,04±0,13	-6
2м	2,32±0,21	-7	1,96±0,09	-10
2н	3,28±0,26	+32	2,16±0,18	-1
2о	0,50±0,04	-80	2,14±0,15	-2
2п	2,88±0,23	+16	2,35±0,21	+8
2р	1,69±0,17	-32	1,46±0,13	-33
2с	1,79±0,09	-28	1,85±0,12	-15
2т	2,68±0,17	+8	1,61±0,10	-26
3a	3,19±0,30	+28	1,87±0,12	-14
3б	2,33±0,21	-6	1,83±0,09	-16
3в	3,34±0,25	+34	1,59±0,07	-27
3г	2,26±0,17	-9	2,37±0,13	+9
Гіпотіазид	3,77±0,28	+51	–	–
Ортофен	–	–	1,24±0,05	-43

Примітка. * "+" – посилення, "-" – пригнічення діурезу чи карагенінового набряку відносно контролю, взятого за 100 %.

ВИСНОВКИ. 1. Здійснено синтез нових 2-арилетил- та 3-фенілпропілариламідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, будову яких підтверджено спектрами ЯМР ¹H.

2. Усі одержані речовини піддано біологічному скринінгу на виявлення сечогінних та антиексудативних властивостей. Виявлено закономірності взаємозв'язку "структура–активність", цікаві для подальшого пошуку нових діуретиків та антифлогістиків серед похідних хіноліну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / [С. М. Дрогозов, І. А. Зупанець, М. А. Мохорт та ін.]; за ред. О. В. Стефанова // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації. – К. : Авіцена, 2001. – С. 292–306.
2. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : РИА “Новая волна” : Издатель Умеренков, 2009. – С. 498–514.
3. Пат. 85952 Україна, МПК C07D 215/22, A61K 31/47. Аніліди 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність / І. В. Українець, Н. Л. Березнякова, В. О. Паршиков, О. І. Набока. – Опубл. 10.03.09, Бюл. № 5.
4. Пат. 86286 Україна, МПК C07D 215/22, A61K 31/47. N-R-Аміди 1-гідрокси-3-оксо-5,6-дигідро-3H-піроло[3,2,1-ij]-хінолін-2-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність / І. В. Українець, Н. Л. Березнякова, О. В. Моспанова, О. І. Набока. – Опубл. 10.04.09, Бюл. № 7.
5. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М. : Медицина, 2000. – С. 103–104.
6. Adverse drug events in hospitalized patients with chronic kidney disease / Y. Hassan, R. J. Al-Ramahi, N. A. Aziz, R. Ghazali // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 2010. – **48**, № 9. – P. 571–576.
7. Characterization of cell death induced by ethacrynic acid in a human colon cancer cell line DLD-1 and suppression by N-acetyl-L-cysteine / S. Aizawa, K. Ookawa, T. Kudo [et al.] // Cancer Sci. – 2003. – **94**, № 10. – P. 886–393.
8. Jenter J. C. Combination of loop diuretics with thiazide-type diuretics in heart failure / J. C. Jentzer, T. A. Dewald, A. F. Hernandez // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – **56**, № 19. – P. 1527–1534.
9. Margineanu D. G. Differential effects of cation-chloride co-transport-blocking diuretics in a rat hippocampal slice model of epilepsy / D. G. Margineanu, H. Klitgaard // Epilepsy Res. – 2006. – **69**, № 2. – P. 93–99.
10. Nebulizer performance: AFLM study. Association Francaise de Lutte contre la Mucoviscidose / F. Faurisson, J. F. Dessanges, A. Grimfeld [et al.] // Respiration. – 1995. – **62**, Suppl. 1. – P. 13–18.
11. Platelet-Large Cell Ratio and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study / G. De Luca, M. Santagostino, G. G. Secco [et al.] // J. Thromb. Thrombolysis. – 2010. – **30**, № 4. – P. 426–433.
12. Risk of cardiovascular disease associated with refractory hypertension in renal transplant recipients / G. Fernandez-Fresnedo, M. Gago-Fraile, C. Gomez-Alamillo [et al.] // Transplant. Proc. – 2010. – **42**, № 8. – P. 2908–2909.
13. Safety and Tolerability of the Direct Renin Inhibitor Aliskiren: A Pooled Analysis of Clinical Experience in More Than 12,000 Patients With Hypertension / W. B. White, R. Bresalier, A. P. Kaplan [et al.] // J. Clin. Hypertens. (Greenwich). – 2010. – **12**, № 10. – P. 765–775.
14. Synthesis of N-Pyridinyl(methyl)-1,2-dihydro-4-hydroxy-2-oxoquinoline-3-carboxamides and analogues and their anti-inflammatory activity in mice and rats / X. Collin, J. M. Robert, M. Duflos [et al.] // J. Pharm. Pharmacol. – 2001. – **53**, № 3. – P. 417–423.
15. 4-Hydroxy-2-quinolones. 138. Synthesis and study of structure – biological activity relationships in a series of 1-hydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-3H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-2-carboxylic acid anilides / I. V. Ukrainets, E. V. Mospanova, N. L. Bereznyakova, O. I. Naboka // Chem. Heterocycl. Comp. – 2007. – **43**, № 12. – P. 1532–1539.
16. 4-Hydroxy-2-quinolones. 142. 4-Methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid anilides as potential diuretics / I. V. Ukrainets, N. L. Bereznyakova, V. A. Parshikov, O. I. Naboka // Chem. Heterocycl. Comp. – 2008. – **44**, № 2. – P. 178–183.

І.В. Українець, Н.Ю. Голик, В.Н. Кравченко, В.А. Паршиков¹
 НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ
 КРЫМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
 ИМЕНИ С.И. ГЕОРГИЕВСКОГО¹, СИМФЕРОПОЛЬ

АРИЛАЛКИЛАМИДЫ 1-R-4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ. СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Резюме

Продолжая поиск новых биологически активных веществ среди соединений хинолонового ряда, осуществлен синтез серии арилалкиламидов 1-R-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Изучены диуретические и противовоспалительные свойства полученных веществ, обсуждаются обнаруженные закономерности связи “структура–активность”.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: арилалкиламиды, 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновые кислоты, диуретики, противовоспалительная активность.

I.V. Ukrayinets, M.Yu. Holik, V.M. Kravchenko, V.O. Parshykov¹
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV
S.I. HEORHIYEVSKYI CRIMEAN STATE MEDICAL UNIVERSITY¹, SIMFEROPOL

ARYLALKYLAMIDES OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACIDS. SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Summary

To continue the search of biologically active substances the synthesis of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids arylalkylamides has been carried out. The diuretic and anti-inflammatory properties of the obtained substances have been studied and the revealed regularities of the relation "structure-activity" are discussed.

KEY WORDS: **arylalkylamides, 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids, diuretics, anti-inflammatory activity.**

Отримано 20.12.10

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

М.Б. Чубка¹, Л.В. Вронська¹, С.В. Сур², О.Г. Смалюх³, І.З. Кернична¹
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
 КОРПОРАЦІЯ "АРТЕРІУМ"², КИЇВ
 ВАТ "ГАЛИЧФАРМ"³, ЛЬВІВ

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У ПЛОДАХ МОРКВИ ДИКОЇ

Наведено результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у плодах моркви дикої методом диференціальної спектрофотометрії. Показано, що кількісний вміст суми флавоноїдів у плодах моркви дикої слід перераховувати на апігенін. Вміст флавоноїдів у промислових і дикорослих зразках сировини кількісно відрізняється: у промислових серіях – 0,103–0,267 %, у дикорослих зразках із Західної України – 0,080–0,124 % у перерахунку на апігенін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: флавоноїди, плоди моркви дикої, спектрофотометрія, кількісне визначення.

ВСТУП. Цінною лікарською рослиною родини губоцвітих (Ariaceae) є морква дика (*Daucus carota*), яку з давніх часів широко використовують у народній медицині, а плоди її та відповідні екстракти є складовими компонентами рецептури багатьох лікарських засобів ("Уролесан", "Урохол" та ін.) [3]. З літературних джерел відомо, що різностороння фармакологічна активність цієї сировини зумовлена наявністю різних груп біологічно активних речовин (БАР), таких, як: ефірні олії, флавоноїди, кумарини, алкалоїди, дубильні речовини тощо [4, 5, 7], зокрема спазмолітична, сечогінна, літолітична дії сировини пов'язані з вмістом флавоноїдів та кумаринів [5].

На сьогодні у Державній Фармакопеї України і зарубіжних фармакопеях немає монографії про плоди моркви дикої, тому питання розробки методик ідентифікації та кількісного визначення БАР у плодах та відповідних лікарських засобах та їх стандартизації є актуальним і важливим. Для стандартизації плодів моркви дикої і лікарських засобів (ЛЗ), що містять їх екстракт, потрібно дослідити кількісний вміст у них основних груп БАР. Тому метою даної роботи було обґрунтувати і розробити методику кількісного визначення флавоноїдів у плодах моркви дикої спектрофотометричним методом та визначити їх вміст у сировині різного походження.

© М.Б. Чубка, Л.В. Вронська, С.В. Сур, О.Г. Смалюх, І.З. Кернична, 2011

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досліджень використовували рослинний матеріал з різних територіальних зон Західної України (райони Тернопільської та Львівської областей) та сировину, яку застосовують вітчизняні виробники при одержанні готових лікарських засобів (ГЛЗ).

Спиртові витяжки з плодів моркви дикої отримують таким чином: 3 г (точна наважка) перетертої сировини поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл з притертим шліфом, додають 40 мл спирту потрібної концентрації (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 95 %) і нагрівають зі зворотним холодильником впродовж 30 хв на киплячій водяній бані. Після охолодження спиртової витяжки її фільтрують в мірну колбу місткістю 50 мл, промивають колбу тим же спиртом, додаючи отримані розчини до фільтрату. Одержаний фільтрат аналізують на вміст флавоноїдів.

Кількісне визначення флавоноїдів у сировині з різних регіонів Західної України здійснювали до та після гідролізу флавоноїдів.

Методика кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів з використанням диференціальної спектрофотометрії (без попереднього гідролізу) – методика 1.

Випробуваний розчин. 3 г (точна наважка) перетертої сировини поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл з притертим шліфом, додають 40 мл 70 % спирту етилового і нагрівають зі зворотним холодильником впродовж 30 хв на киплячій водяній бані. Після охолодження

спиртової витяжки її фільтрують в мірну колбу місткістю 50 мл, промивають колбу із сировиною тим же спиртом, додають отримані розчини до фільтрату та доводять об'єм витяжки до 50 мл.

1 мл досліджуваної спиртової витяжки поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 3 мл 3 % розчину алюмінію хлориду і доводять об'єм розчину 95 % спиртом етиловим до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 1 мл досліджуваної спиртової витяжки поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл та доводять об'єм розчину 95 % спиртом етиловим до позначки, перемішують.

Розчин стандартного зразка апігеніну. 0,03 г (точна наважка) стандартного зразка апігеніну (Fluka) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл 95 % спирту етилового, розчиняють та доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують.

10 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину спиртом етиловим до позначки, перемішують.

Розчин порівняння. 1 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 3 мл 3 % розчину алюмінію хлориду і доводять об'єм розчину 95 % спиртом етиловим до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 1 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл та доводять об'єм розчину 95 % спиртом етиловим до позначки, перемішують.

Оптичну густину випробуваного розчину і розчину порівняння вимірюють через 45 хв після приготування при довжині хвилі 390 нм відносно компенсаційних розчинів для кожного з розчинів відповідно.

Вміст суми флавоноїдів у сировині у відсотках в перерахунку на апігенін (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_o \cdot A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100}{A_o \cdot 25 \cdot m_{нав} \cdot (100 - W)},$$

де A_x – оптична густина випробуваного розчину; m_o – маса наважки стандартного зразка апігеніну, г; A_o – оптична густина стандартного розчину апігеніну з алюмінію хлоридом; $m_{нав}$ – маса наважки сировини, г; W – вміст води в сировині, %.

Методика кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів з використанням диференціальної спектрофотометрії (після попереднього гідролізу) – методика 2.

Вихідний розчин. 2 г (точна наважка) перетертої сировини поміщають у круглодонну

колбу місткістю 100 мл, додають 1 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 20 мл ацетону Р і 2 мл кислоти хлористоводневої Р1. Одержану суміш кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, фільтрують через тампон із вати у плоскодонну колбу місткістю 100 мл. Додають тампон із вати до залишку в круглодонну колбу та екстрагують двома порціями, по 20 мл кожна, ацетону Р, кожного разу проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують та фільтрують через тампон із вати. Об'єднані ацетонові витяжки фільтрують через паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 100 мл та доводять об'єм витяжки ацетоном Р до позначки, перемішують.

20 мл отриманого розчину поміщають у ділильну лійку місткістю 250 мл, додають 20 мл води Р і струшують з однією порцією 15 мл, потім з двома порціями, по 10 мл кожна, етилацетату Р протягом 15 хв щоразу. Етилацетатні витяжки збирають разом в іншу ділильну лійку місткістю 250 мл. Одержану етилацетатну витяжку промивають двома порціями, по 50 мл кожна, води Р, відкидаючи кожного разу водну фазу. Органічний шар фільтрують через паперовий фільтр з 10 г натрію сульфату безводного Р, попередньо змоченого етилацетатом Р, у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм фільтрату етилацетатом Р до позначки, перемішують.

Випробуваний розчин. 10 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 1 мл реактиву алюмінію хлориду Р і доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 10 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до позначки, перемішують.

Розчин стандартного зразка апігеніну. 0,03 г стандартного зразка апігеніну (Fluka) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл 95 % спирту етилового, розчиняють та доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують.

5 мл отриманого розчину поміщають у колбу місткістю 50 мл зі шліфом, додають 1 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 20 мл ацетону Р і 2 мл кислоти хлористоводневої Р1. Отриманий розчин кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують, переносять кількісно за допомогою ацетону Р у мірну колбу місткістю 50 мл та доводять об'єм розчину ацетоном Р до позначки, перемішують.

20 мл отриманого розчину поміщають у ділильну лійку місткістю 250 мл, додають 20 мл води Р і струшують з однією порцією 20 мл, потім з двома порціями, по 10 мл кожна, етилацетату Р протягом 15 хв щоразу. Етилацетатні витяжки збирають разом в іншу ділильну лійку місткістю 250 мл. Одержану етилацетатну витяжку промивають двома порціями, по 50 мл кожна, води Р, відкидаючи кожного разу водну фазу. Органічний шар фільтрують через паперовий фільтр з 10 г натрію сульфату безводного Р, попередньо змоченого етилацетатом Р, у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм фільтрату етилацетатом Р до позначки, перемішують.

Розчин порівняння. 10 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 1 мл реактиву алюмінію хлориду Р і доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 10 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до позначки, перемішують.

Оптичну густина випробуваного розчину та розчину порівняння вимірюють через 30 хв після приготування при довжині хвилі 390 нм відносно компенсаційних розчинів для кожного з розчинів відповідно.

Вміст суми флавоноїдів у сировині у відсотках в перерахунку на апігенін (X) розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot A_x \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 10 \cdot m_{\text{нав}} \cdot (100 - W)},$$

де A_x – оптична густина випробуваного розчину; m_0 – маса наважки стандартного зразка апігеніну, г; A_0 – оптична густина розчину комплексу апігеніну з алюмінію хлоридом; $m_{\text{нав}}$ – маса наважки сировини, г; W – вміст волиги в сировині, %.

У роботі використовували спиртові розчини (на 95 % спирті етилового) стандартних зразків апігеніну (Fluka), кверцетину (Fluka), рутину (Sigma) і лютеолін-7-глікозиду (ФСЗ). 3 % розчин алюмінію хлориду готували таким чином: 3 г алюмінію хлориду $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (ч.д.а) поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 70 мл 70 % спирту етилового, розчиняли і доводили об'єм розчину цим же розчинником до позначки, перемішували. Інші використовувані розчини реактивів готували відповідно до вимог ДФУ [1, 2].

Вимірювання оптичної густини і записування спектрів поглинання проводили на спектрофотометрі Carry – 50.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Першим етапом наших досліджень було визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у спиртових витяжках з плодів моркви дикої з різною концентрацією спирту без попереднього гідролізу флавоноїдів з метою вивчення впливу концентрації спирту етилового на ступінь вилучення флавоноїдів. Для цього використовували сировину (певної серії), яку отримує в промислових кількостях один з фармацевтичних виробників України (ВАТ “Галичфарм”). Суму флавоноїдів визначали методом диференціальної спектрофотометрії за реакцією утворення фотометрованої сполуки з алюмінію хлоридом. Як компенсаційний розчин використовували вихідний розчин без додавання відповідних реактивів, що унеможлиблює вплив забарвлених та супутніх речовин. Диференціальні електронні спектри поглинання комплексів флавоноїдів з алюмінію хлоридом для отриманих за допомогою різних концентрацій спирту етилового витяжок подібні між собою як за ходом кривих, так і за положенням максимуму поглинання ((390±2) нм) (рис. 1). Порівнюючи їх хід та положення максимуму поглинання з виглядом і положенням максимуму поглинання аналогічного комплексу різних агліконів та глікозидів флавоноїдів (рис. 2), ми встановили, що у досліджуваних

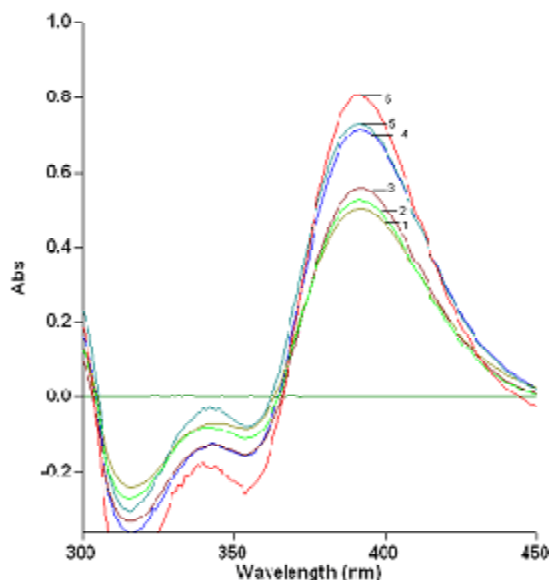


Рис. 1. Диференціальні електронні спектри поглинання за умов кількісного визначення флавоноїдів у витяжках з плодів моркви дикої, отриманих за допомогою спиртових розчинів різної концентрації: 1 – 95 % етанол; 2 – 40 % етанол; 3 – 50 % етанол; 4 – 70 % етанол; 5 – 60 % етанол; 6 – 80 % етанол.

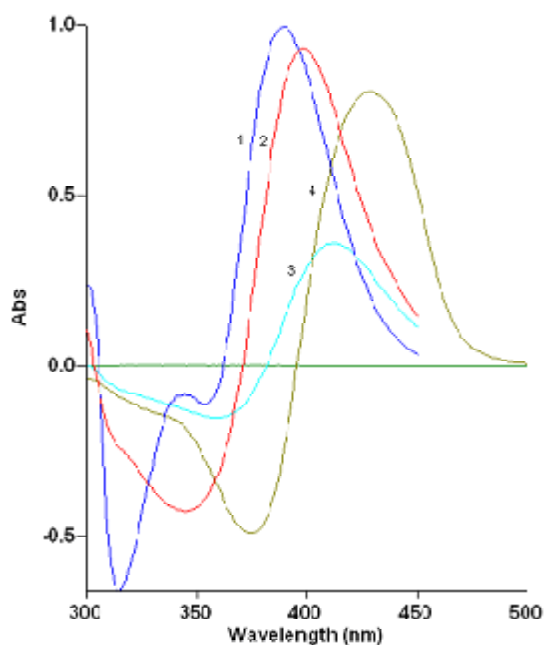


Рис. 2. Диференціальні електронні спектри поглинання стандартних розчинів флавоноїдів з алюмінію хлоридом за умов кількісного визначення: 1 – апігеніну ($\lambda_{\text{макс.}}=390$ нм); 2 – лютеолін-7-глюкозиду ($\lambda_{\text{макс.}}=398$ нм); 3 – рутину ($\lambda_{\text{макс.}}=412$ нм); 4 – кверцетину ($\lambda_{\text{макс.}}=429$ нм).

спиртових витяжках з плодів моркви дикої домінують флавоноїди апігенінової групи. Саме тому кількісний вміст флавоноїдів у спиртових витяжках визначали в перерахунку на апігенін.

У результаті проведених досліджень нами встановлено, що найбільш повне вилучення суми флавоноїдів із плодів моркви дикої досягається за умов отримання спиртових витяжок, описаних вище, та при застосуванні 70–80 % спирту етилового (табл. 1). При підвищенні концентрації спирту в екстрагенті вміст флавоноїдів не збільшувався, що, опосередковано, вказує на присутність як агліконових, так і глікозидних форм флавоноїдів у плодах моркви дикої. Таким чином, при пробопідготовці плодів моркви дикої для спектрофото-

Таблиця 1 – Вміст суми флавоноїдів у спиртових витяжках з плодів моркви дикої

Вміст спирту в розчині, який використовували для отримання витяжки, %	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на апігенін, %
10	0,051±0,004
20	0,092±0,005
30	0,122±0,003
40	0,158±0,003
50	0,169±0,004
60	0,219±0,005
70	0,238±0,006
80	0,245±0,005
95	0,151±0,004

метричного дослідження суми флавоноїдів слід використовувати 70 % спирт етиловий з метою отримання спиртової витяжки, з якою в подальшому проводитиметься визначення.

Таким чином, для вилучення суми флавоноїдів із сировини, зібраної на різних територіях, використовували 70 % спирт етиловий з метою одержання спиртових витяжок. В отриманих спиртових витяжках кількісний вміст суми флавоноїдів визначали за методикою 1.

Як видно з рисунка 3, за умов кількісного визначення флавоноїдів диференціальні електронні спектри спиртових витяжок з різної сировини дещо відрізнялися між собою за положенням максимуму поглинання. Це зумовлено, ймовірно, тим, що у різних зразках сировини присутній набір різних представників класу флавоноїдів (лютеолін, апігенін та їх глікозиди) з переважанням все ж таки апігеніну та його похідних, оскільки довжини хвиль максимумів поглинання для зразків сировини 2 і 3 близькі, а для зразків 1 і 4 повністю відповідають довжині хвилі (390±2) нм, що збігається з довжиною хвилі максимуму поглинання комплексу апігеніну з алюмінію хлоридом. Тому для контролю якості плодів моркви дикої кінцево можна пропонувати проводити кількісне визначення суми флавоноїдів із спиртових витяжок, отриманих за допомогою 70 % спирту етилового в перерахунку на апігенін.

У Державній Фармакопеї України для деяких видів сировини, що містять флавоноїди, наведено методики кількісного визначення

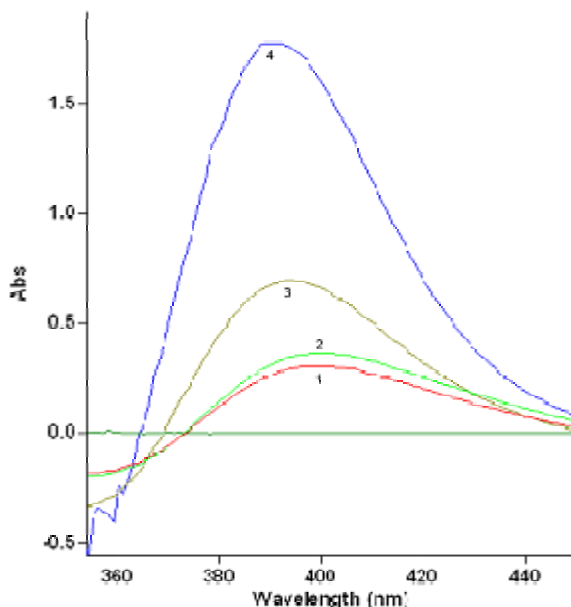


Рис. 3. Диференціальні електронні спектри поглинання флавоноїдів за умов кількісного визначення за методикою 1 для різних зразків сировини: 1 – зразок 2; 2 – зразок 3; 3 – зразок 1; 4 – зразок 4.

флавоноїдів, які ґрунтуються на попередньому гідролізі глікозидів флавоноїдів до відповідних агліконів, екстракції агліконів етилацетатом і наступному їх комплексоутворенні з алюмінієм хлоридом. З метою аналізу плодів моркви дикої на вміст суми флавоноїдів у світлі тенденцій ДФУ нами адаптовано методику, наведену у ДФУ для плодів глоду (методика 2 після гідролізу флавоноїдів).

Результати спектрофотометричного дослідження за умов кількісного визначення флавоноїдів у різних зразках сировини плодів моркви дикої наведено на рисунку 4. Диференціальні спектри, що відповідають зразкам 2 і 3, мають два поєднані максимуми поглинання при 390 і 412–416 нм, зразки 1 і 6 – чіткий максимум поглинання при 390 нм і розмите плече в ділянці 410–420 нм, що свідчить про різноманітність флавоноїдного складу різної сировини, проте з переважанням апігеніну – максимум поглинання 390 нм. Спектри зразків 4 і 5 мають лише один максимум поглинання, що належить апігеніну за умов кількісного визначення ($\lambda_{\text{макс.}}=390$ нм) (рис. 5).

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у зразках різної сировини за двома методиками наведено в таблиці 2.

На основі отриманих результатів (табл. 2) можна зробити висновок, що кількісний вміст флавоноїдів у плодах моркви дикої, використовуваної виробниками у промислових мас-

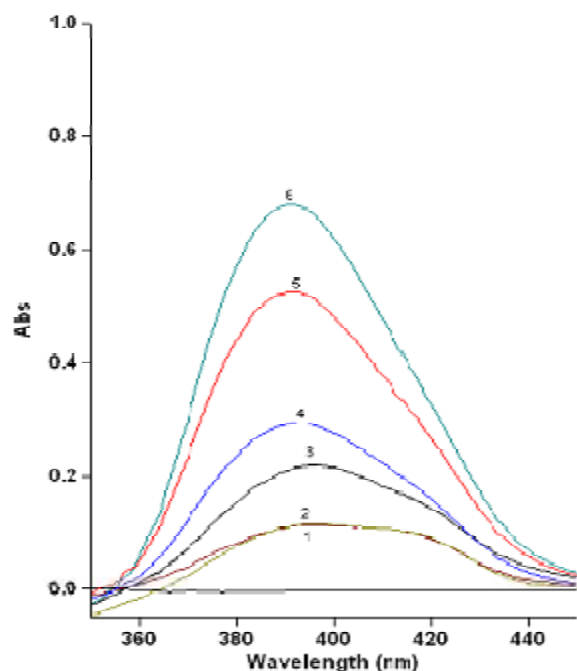


Рис. 4. Диференціальні електронні спектри поглинання за умов кількісного визначення флавоноїдів за методикою 2: 1 – зразок 2; 2 – зразок 3; 3 – зразок 6; 4 – зразок 1; 5 – зразок 5; 6 – зразок 4.

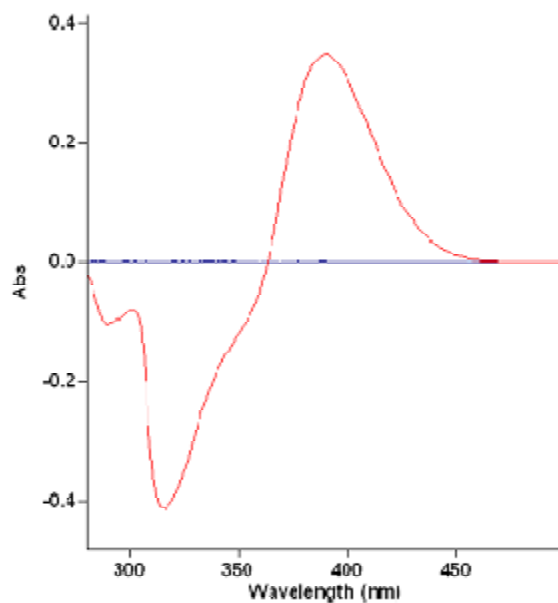


Рис. 5. Диференціальний електронний спектр поглинання розчину апігеніну з алюмінієм хлоридом за умов кількісного визначення за методикою 2.

штабах, а також зібраної на різних територіях, відрізняється, що може бути пов'язано з різними кліматичними умовами зростання та культурою вирощування. Також спостерігається різниця у кількісному вмісті суми флавоноїдів, визначеної різними методиками, зокрема з попереднім гідролізом та екстракцією і безпосереднім визначенням зі спиртових витяжок. Нижчі значення вмісту, отримані за методикою з попереднім гідролізом, можливо, пов'язані з вилученням флавоноїдів із сировини у кислому середовищі, за наявності якого розчинність флавоноїдів менша.

Наявність одного чи декількох максимумів у спектрах поглинання, отриманих за умов кількісного визначення флавоноїдів у різних зразках сировини, може бути важливою діагностичною або критеріальною ознакою при розробці методології контролю якості та виборі критеріїв доброякісності в процесі стандартизації сировини плодів моркви дикої.

ВИСНОВКИ. 1. Кількісний вміст суми флавоноїдів моркви дикої слід перераховувати на апігенін, при пробопідготовці для спектрофотометричного визначення вибирати 70–80 % спирт етиловий як кращий екстрагент флавоноїдів з плодів моркви дикої.

2. Визначено кількісний вміст флавоноїдів у зразках сировини, як промислових, так і дикорослих, зібраних у різних територіальних зонах. Показано, що якісний склад флавоноїдів у різних зразках є подібним, але різняться кількісно: у промислових серіях – 0,103–

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів у плодах моркви дикої з різних місць зростання

Місце збору сировини	Вміст суми флавоноїдів, %	
	без гідролізу в перерахунку на апігенін	після попереднього гідролізу в перерахунку на апігенін
Промислова серія (зразок 1)	0,103±0,004	0,042±0,002
Промислова серія (зразок 2)	0,146±0,002	0,061±0,002
Промислова серія (зразок 3)	0,156±0,003	0,065±0,003
Промислова серія (зразок 4)	0,267±0,005	0,098±0,004
Промислова серія (зразок 5)	0,238±0,006	0,075±0,003
Бережанський район Тернопільської області (зразок 6)	0,081±0,002	0,031±0,002
Монастирський район Тернопільської області (зразок 7)	0,078±0,003	0,028±0,002
Дрогобицький район Львівської області (зразок 8)	0,124±0,004	0,051±0,003

0,267 %, у дикорослих зразках із Західної України – 0,080–0,124 % у перерахунку на апігенін.

3. Досліджено, що для кількісного визначення флавоноїдів у плодах моркви дикої можна застосовувати як методику без попереднього гідролізу, так і методику з попереднім

гідролізом. Вибір методики залежить від форми і складу подальшого ГЛЗ, оскільки через різницю у кількісному вмісті, отриманому за двома методиками, вибрана методика повинна бути можлива до застосування при визначенні флавоноїдів у ланцюзі “сировина – напівпродукт – ГЛЗ”.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Доповнення 2. – Харків : Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. – 620 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Харків : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Компендиум 2007 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К. : МОРИОН, 2007. – 2270 с.
4. Лікарські рослини : енциклопедичний довідник / відп. ред. А. М. Гродзінський. – К. : Голов. ред. УРЕ, 1989. – 544 с.

5. Морковь дикая, морковь обыкновенная / Б. Зузук, Р. Куцик, И. Гресько [и др.] // Провизор. – 2005. – № 10. – С. 37–41.
6. Морковь дикая, морковь обыкновенная / Б. Зузук, Р. Куцик, И. Гресько [и др.] // Провизор. – 2005. – № 11. – С. 30–33.
7. Формазюк В. И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине / В. И. Формазюк ; под ред. Н. П. Максютинной. – К. : Издательство А. С. К., 2003. – 792 с.

М.Б. Чубка¹, Л.В. Вронска¹, С.В. Сур², О.Г. Смалюх³, И.З. Керничная¹
 ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
 КОРПОРАЦИЯ “АРТЕРИУМ”², КИЕВ
 ОАО “ГАЛИЧФАРМ”³, ЛЬВОВ

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В СЕМЕНАХ МОРКОВИ ДИКОЙ

Резюме

Приведены результаты определения количественного содержания флавоноидов в семенах моркови дикої методом дифференциальной спектрофотометрии. Показано, что количественное содержание суммы

флавоноидов в семенах моркови дикой необходимо пересчитывать на апигенин. Содержание флавоноидов в промышленных и дикорастущих образцах сырья количественно отличается: в промышленных сериях – 0,103–0,267, в дикорастущих образцах с Западной Украины – 0,080–0,124 % в пересчете на апигенин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: флавоноиды, семена моркови дикой, спектрофотометрия, количественное определение.

M.B. Chubka¹, L.V. Vronska¹, S.V. Sur², O.H. Smaliuh³, I.Z. Kernychna¹
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
CORPORATION "ARTERIUM"², KYIV
OJSC "GALYCHPHARM"³, LVIV

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE GARDEN CARROT (DAUCUS CAROTA L.) SEEDS

Summary

The results of the flavonoids quantitative determination in the garden carrot seeds by differential spectrophotometry have been presented. It is shown that the total flavonoids quantitative content in the garden carrot seeds is necessary to count on apigenin. Flavonoids content in the industrial and agrarian samples of raw materials quantitatively are different: the industrial series – 0,103–0,267 % in the agrarian samples from the West Ukraine 0,080–0,124 % in the re-calculation of apigenin.

KEY WORDS: **flavonoids, garden carrot seeds, spectrophotometry, quantitative determination.**

Отримано 29.11.10

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

**БІОФАРМАЦЕВТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ІНТРАНАЗАЛЬНОЇ
М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ НІМОДИПІНУ**

Проведено дослідження впливу виду основи-носія на вивільнення німодипіну з інтраназальних мазей. Установлено, що даний фармацевтичний фактор справляє значущий вплив на вивільнення німодипіну. Дисперсійний аналіз результатів досліджень показав, що оптимальне вивільнення німодипіну з інтраназальних мазей забезпечує натрій карбоксиметилцелюлозний гліцерогель.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: німодипін, основа-носіє, вивільнення, фармацевтична доступність.

ВСТУП. Порушення мозкового кровообігу – патології, що мають величезне медико-соціально значення, їх загальновідомим наслідком є зниження якості й тривалості життя в результаті розвитку ішемічного та геморагічного інсультів і їх ускладнень, дисциркуляторної енцефалопатії і под. У зв'язку із цим, дослідження, спрямовані на розробку нових високоефективних лікарських засобів нейропротекторного напрямку, є пріоритетними, про що свідчать відповідні національні програми охорони здоров'я багатьох країн світу, в тому числі України [6, 10, 17].

Патогенез мозкового інсульту, що став на початку ХХІ століття однією з основних причин смертності у світі, сьогодні вивчають в аспекті так званої кальцієвої гіпотези пошкодження нейронів [6]. У зв'язку із цим, особливий інтерес в учених викликають препарати-антагоністи потенціалзалежних кальцієвих каналів, насамперед німодипін. На даний час він є практично єдиним доведеним ефективним церебральним блокатором Ca^{2+} . Історія його застосування в нейрохірургії та неврології нараховує понад 10 років. Німодипін (Німотоп, "Байер Шерінг Фарма") – блокатор кальцієвих каналів, тропний виключно до судин головного мозку. Зв'язуючись із дигідропіридинними рецепторами, розташованими на мембранах нейронів, нейрогліальних клітинах і судинах головного мозку, німотоп модулює проникність кальцієвих каналів. Завдяки цьому препарат впливає і на нейрональну активність, і на мозковий кровообіг. Модулюючи

надходження іонів кальцію, головним чином, у нейрони кори головного мозку й гіпокампу, він впливає на нейромедіаторний баланс, захищає нейрони, стабілізує їх функції, усуває вазоспазм і підвищує толерантність до ішемії, нейротоксинів, знижує смертність, пов'язану із субарахноїдальними крововиливами [14, 18].

У сучасній вітчизняній медичній практиці клінічний ефект від впливу німодипіну досягається або шляхом приймання пероральної лікарської форми – таблеток 30 мг імпортного ("Німотоп" – Німеччина, "Bayer"; "Німодипін-Гексал" – Швейцарія, "Sandoz") і вітчизняного походження ("Німодипін" – Борщаговський ХФЗ), або внутрішньовенним введенням 0,02 % розчину німодипіну для інфузій ("Німотоп" – Німеччина, "Bayer") [9].

При пероральному шляху введення німодипін частково інактивується ферментами кишкового тракту та й час досягнення клінічного ефекту досить тривалий [12]. Суттєвий недолік інфузійної форми німодипіну – широкий спектр можливих серйозних побічних явищ після її приймання, що обмежує його внутрішньовенне введення у відділеннях інтенсивної терапії, де є відповідне обладнання й підготовлений персонал [8]. Цей недолік можна оптимізувати шляхом використання альтернативного трансмукозного шляху введення німодипіну, зокрема інтраназального із застосуванням відповідних м'яких лікарських форм.

Важливою перевагою інтраназального застосування лікарських препаратів є наявність центральної дії (за рахунок того, що оболонки нюхових нервів позбавлені гематоенцефалічного бар'єру і субстанція з носової

порожнини відразу ж надходить в головний мозок), висока біодоступність, відсутність ефекту першого проходження через печінку й пов'язаних із цим несприятливих реакцій, зручність і легкість застосування, що сприяє поліпшенню комплаєнтності пацієнтів, швидкість розвитку системного ефекту [3, 20]. При інтраназальному введенні швидкість розвитку терапевтичного ефекту порівнянна з ін'єкційним шляхом введення. Системний ефект при інтраназальному введенні розвивається вже через 5–10 хв після застосування [21, 22].

Для інтраназального введення доцільно використовувати м'які лікарські форми (мазі, креми, гелі), що забезпечують необхідну швидкість дифузії лікарської речовини через порожнину носа й зручні в застосуванні [1, 5].

З огляду на біофармацевтичні концепції, створення нових м'яких лікарських засобів для інтраназального застосування не можливе без урахування фармацевтичних факторів, що впливають на ступінь і швидкість вивільнення лікарських речовин, а також їх біодоступності [2, 7, 13]. Одним з основних факторів при цьому є вид основи-носія. Завдяки опти-

мальному вибору основи можна значною мірою управляти рівнем терапевтичного ефекту. Тому першочерговим завданням при розробці інтраназальної форми німодипіну є наукове обґрунтування виду основи-носія.

Метою даної роботи було біофармацевтичне обґрунтування раціонального складу інтраназальної м'якої лікарської форми німодипіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як носії для розроблюваної м'якої інтраназальної форми німодипіну вивчено мазеві основи, які широко застосовують у виробництві мазей, описані в літературі й не викликають алергічних і сенсibiliзуювальних проявів після нанесення [4, 16]. Склад композицій наведено в таблиці 1. Німодипін в усі носії, крім основи № 7, вводили після попереднього розчинення в поліетиленоксиді 400. В основу № 7 лікарську речовину вносили за типом суспензії.

Дослідження з наукового обґрунтування виду основи-носія для інтраназальної м'якої лікарської форми німодипіну проводили за планом однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями [11].

Таблиця 1 – Склад інтраназальних мазевих композицій з німодипіном

Компонент	Основа-носії (№)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Німодипін	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Натрій-КМЦ	2									
Гліцерин	10	7,5				5		5	5	5
Твін 80	1			2,5	2	2				
Метилцелюлоза		5								
Пропіленгліколь		7,5		10						
Поліетиленоксид 400	15	15	40	15	15	15		15	15	15
Поліетиленоксид 1500			55	10						
Проксанол 268				25						
Олія соняшникова					15			15	15	
Моногліцериди дистильовані					4	8		5		
Емульгатор № 1					7,5			5		
Масло вазелінове						20				
Віск емульсійний						6				
Вазелін							10			
Ланолін							45			
Парафін							10			
Віск бджолиний								3		
Моностеарат гліцерину									5	
Олеат-пег-400									5	
Стеарат-ПЕГ-400									5	
Естер П									3	
Карбопол 940										0,75
Розчин натрію гідроксиду 10 %										0,5
Вода, очищена до	100	100		100	100	100		100	100	100

Для всіх приготовлених композицій встановлювали вивільнення німодипіну як перший етап визначення біологічної доступності. Вивільнення німодипіну з мазей вивчали методом рівноважного діалізу за [19] при температурі $(32 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ через целофанову напівпроникну мембрану – плівку “Купрофан” за ГОСТ 7730-89 спільною площею $9,8\text{ см}^2$. Діалізічним середовищем, з урахуванням розчинності німодипіну, було обрано спирт етиловий. Концентра-

цію німодипіну, що вивільнився через 15 хв, встановлювали спектрофотометрично [15].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 2 наведено матрицю планування і результати визначення концентрації німодипіну в діалізатах (номери відповідають складам композицій, вказаних у таблиці 1).

У таблиці 3 представлено дисперсійний аналіз отриманих результатів.

Таблиця 2 – Матриця планування і результати визначення концентрації (%) німодипіну, що вивільнився з мазевих композицій (інтервал 15 хв)

№ композиції	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
% німодипіну	54,5	34	49,25	45	31	30,7	27	30,5	31,5	44,5
	54	33,5	49	44,5	30,5	30,65	26,5	30	31	45
	54,5	33,5	49	45	30,5	30,6	26,5	30,5	31	45
Сума	163	101	147,25	134,5	92	91,95	80	91	93,5	134,5
Загальна сума	1128,7									

Таблиця 3 – Дисперсійний аналіз результатів експериментальних даних щодо визначення вивільнення німодипіну з мазевих основ (інтервал 15 хв)

Джерело мінливості	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	$F_{\text{експ.}}$	$F_{\text{табл.}}$
Вид основи-носія	9	2526,25	280,69	4067,97	2,45
Помилка	20	1,38	0,069		
Загальна сума	29	2527,63			

Як свідчать наведені дані, природа вивчених мазевих основ-носіїв справляє значущий ($F_{\text{експ.}} > F_{\text{табл.}}$) вплив на вивільнення німодипіну з приготовлених інтраназальних лікарських форм. Проведено перевірку розходження середніх значень результатів вивільнення німодипіну за допомогою множинного рангового критерію Дункана [11].

При цьому встановлено, що за впливом мазевих основ на інтенсивність вивільнення німодипіну їх можна розташувати в такий ряд (номери відповідають складам композицій, вказаних у таблиці 1):

$$1 > 3 (4) > 10 > 2 > 9 > 5 > 6 > 8 (7)$$

Як свідчать отримані дані, оптимальне вивільнення німодипіну з мазевих композицій забезпечує натрій карбоксиметилцелюлозний гліцерогель.

ВИСНОВКИ. 1. Установлено, що вид основи-носія впливає на вивільнення німодипіну з інтраназальних мазей.

2. Дисперсійний аналіз результатів досліджень показав, що оптимальне вивільнення німодипіну з інтраназальних мазей забезпечує натрій карбоксиметилцелюлозний гліцерогель.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Варпаховская И. П. Лекарственные препараты для интраназального применения / И. П. Варпаховская // Медлайн Экспресс. – 2001. – № 15 (137). – С. 16–19.
2. Вспомогательные вещества, используемые в технологии лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов) (обзор) / О. А. Семкина,

М. А. Джавахян, Т. А. Левчук [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – **39**, № 9. – С. 45–48.
3. Гилман А. Г. Клиническая фармакология / А. Г. Гилман. – М.: Практика, 2006. – 434 с.
4. Грецкий В. М. Носители лекарственных веществ в мазях / В. М. Грецкий, Г. В. Цагарейшвили. – Тбилиси: Мецниереба, 1979. – 202 с.

5. Гуревич К. Г. Разработка систем интраназальной доставки лекарственных средств / К. Г. Гуревич // Качественная клиническая практика. – 2002. – № 1. – С. 23–28.

6. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – М. : Медицина, 2000. – 328 с.

7. Иванов Л. В. Биофармацевтические исследования, направленные на оптимизацию состава, свойств и пути введения лекарственных препаратов / Л. В. Иванов, И. Н. Орлова // Технология и стандартизация лекарств. – Х. : ИТ “Рипер”, 2003. – Т. 2. – С. 558–613.

8. Кечин І. Л. Фармакологічна корекція неускладнених гіпертензивних кризів антигіпертензивними препаратами для аплікаційного застосування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.01.28 “Клінічна фармакологія” / І. Л. Кечин. – К., 2003. – 41 с.

9. Компендиум 2008 – лекарственные препараты : [в 2 т.] / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К. : Морион, 2008. – 2270 с.

10. Мальцева Л. А. Интенсивная терапия ишемического инсульта с позиций доказательной медицины / Л. А. Мальцева, Л. В. Усенко // Укр. журн. экстремальной медицины ім. Г. О. Можаява. – 2005. – 6, № 4. – С. 12–16.

11. Методические указания по обработке результатов эксперимента по технологии лекарств / А. И. Тенцова, Т. А. Грошовый, В. А. Головкин, С. М. Махкамов. – Ташкент : НИИ “Узгипрозем”, 1980. – 71 с.

12. Мирный С. П. Показатели гемодинамики и процессов перекисного окисления липидов у больных цереб्रोишемической формой артериальной гипертензии и их динамика при терапии буккальными лекарственными формами нипруцела и нимодипина : 14.01.11 / Мирный Сергей Петрович. – Запорожье, 1999. – 267 с.

13. Павх О. І. Розробка складу і технології назальної мазі на основі рослинних настоек та ефірних олій : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармацевт. наук : спец. 15.00.01 “Технологія ліків

та організація фармацевтичної справи” / О. І. Павх. – К., 2010. – 23 с.

14. Патологическое обоснование применения блокаторов кальциевых каналов и нейротрофических средств при остром нарушении кровообращения различного генеза / В. И. Черный, Т. В. Островая, Е. В. Черный [и др.] // Укр. журн. экстремальной медицины ім. Г. О. Можаява. – 2005. – 6, № 1(д). – С. 110–113.

15. Розробка та валідація методики кількісного визначення німодипіну в субстанції / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк [та ін.] // Запорізький медичний журнал. – 2011. – № 1. – С. 52–54.

16. Фармацевтические и биологические аспекты мазей / [Перцев И. М., Котенко А. М., Чуешов О. В., Халева Е. Л.]. – Харьков : Золотые страницы, 2003. – 288 с.

17. Bracco D. Vasospasm treatment in intensive care / D. Bracco, R. Chiolero // Rev. Med. Suisse Romande. – 2000. – № 120 (4). – P. 355–362.

18. Hui C. Efficacy of intra-arterial nimodipine in the treatment of cerebral vasospasm complicating subarachnoid haemorrhage / C. Hui, K. P. Lau // Clin. Radiol. – 2005. – 60, № 9. – P. 1030–1036.

19. Krowczynski L. Metody analityczne stosowane w badaniach biofarmaceutycznych / L. Krowczynski, H. Krasowaka // Biul. Inform. Inst. przem. pharm. – 1975. – 23, № 3. – P. 284–293.

20. Preparation and drug release behaviors of nimodipine-loaded poly-(caprolactone)-poly (ethylene oxide)-polylactide amphiphilic copolymer nanoparticles / Y. He, X. Jiang, Y. Ding [et al.] // Biomaterials. – 2003. – 24, № 13. – P. 2395–2404.

21. Pretorius E. Permeation of four oral drugs through human intestinal mucosa / E. Pretorius, P. J. Bouic // AAPS Pharm. Sci. Tech. – 2009. – 10, № 1. – P. 270–275.

22. Wells S. M. Pharmacokinetics of butorphanol in cats after intramuscular and buccal transmucosal administration / S. M. Wells, L. E. Glerum, M. G. Papich // Am. J. Vet. Res. – 2008. – 69, № 12. – P. 1548–1554.

И.О. Рогачев, В.В. Гладышев, Б.С. Бурлака, И.Л. Кечин
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НИМОДИПИНА

Резюме

Проведены исследования влияния вида основы-носителя на высвобождаемость нимодипина из интраназальных мазей. Установлено, что данный фармацевтический фактор оказывает значимое влияние на высвобождаемость нимодипина. Дисперсионный анализ результатов исследований показал, что оптимальную высвобождаемость нимодипина из интраназальных мазей обеспечивает натрий карбоксиметилцеллюлозный глицерогель.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нимодипин, основа-носитель, высвобождаемость, фармацевтическая доступность.

BIOPHARMACEUTICAL SUBSTANTIATION OF COMPOSITION OF INTRANAZALIS SOFT MEDICINAL FORM OF NIMODIPIN

Summary

Researches of influence of a kind of a basis-carrier on release of nimodipin from intranazalis ointments were conducted. It was determined that this pharmaceutical factor makes significant impact on release of nimodipin. Dispersion analysis of researches results showed that optimum release of nimodipin from intranazalis ointments provides sodium carboxymethylcellulose glicerogel.

KEY WORDS: **nimodipin, basis-carrier, release, pharmaceutical availability.**

Отримано 14.12.10

Адреса для листування: В.В. Гладисhev, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69095, Україна.

ТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ КОБАЛЬТУ ХЛОРИДУ НА ШВИДКІСТЬ УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ БІЛИХ ЩУРІВ

У статті оцінено токсичний вплив кобальту хлориду на генерацію активних форм кисню та показники вільнорадикального окиснення ліпідів. Встановлено, що катіони кобальту викликають підвищене утворення супероксид-аніон радикала та пероксиду водню. Виявлено подальший вплив цих порушень на процеси ліпопероксидації, що підтверджується збільшенням вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кобальту хлорид, активні форми кисню, вільнорадикальне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Присутність в організмі металів змінної валентності спричиняє активацію процесів окиснення. Кобальт у мінімальних дозах є фізіологічно активним в організмі людини у формі кобаламіну (вітаміну B_{12}). Проте при надлишковому надходженні його в організм погіршується стан здоров'я. Кобальт як метал змінної валентності може викликати зміщення рівноваги між активними формами кисню та системами антиоксидантного захисту в бік зростання рівня вільних радикалів (зокрема гідроксильного радикала) та зменшення вмісту антиоксидантів, що супроводжується активацією ланцюгових реакцій окиснення ліпідів, розвитком оксидативного стресу [14, 15]. Прооксидантна роль кобальту за цих умов пов'язана з його здатністю взаємодіяти з пероксидом водню з утворенням вільних радикалів, активувати ферментні системи утворення активних форм кисню, індукувати синтез протизапальних цитокінів [13].

У зв'язку з цим, метою роботи було вивчити токсичний вплив кобальту хлориду на генерацію супероксид-аніон радикала, вміст пероксиду водню і продуктів ліпопероксидації в плазмі крові та печінці білих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проведено на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення їм водно-го розчину кобальту хлориду в дозі 5 мг/кг

маси тіла ($1/12 LD_{50}$) [1]. Тварин було поділено на 2 групи: 1-ша група – інтактні тварини, 2-га – тварини, уражені кобальту хлоридом. Декапітацію щурів здійснювали під тіопенталовим наркозом через 1, 4, 7 та 10 діб від моменту введення отруту згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [11]. Досліджували плазму крові й тканину печінки, з якої на холоді готували 10 % гомогенат на фосфатному буфері (pH=7,4).

Продукцію супероксид-аніон радикала ($O_2^{\cdot-}$) визначали за тестом з нітросинім тетразолієм у печінці зі специфічними індукторами НАДФН і НАДН для оцінки, відповідно, ролі мікросом та мітохондрій в цьому процесі [4]. Вміст пероксиду водню (H_2O_2) визначали спектрофотометричним методом за знебарвленням перманганату калію при внесенні кислоторозчинної фракції, що містить H_2O_2 [2]. Рівень вільнорадикального окиснення ліпідів оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК АП) [7] та концентрацією дієнових кон'югатів (ДК), які екстрагували в гептан-ізопропаноловій суміші й реєстрували при $\lambda=232$ нм [6]. Цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента [3]. Зміни вважали вірогідними при $p<0,05$, $p<0,02$, $p<0,01$, $p<0,001$. Для розрахунків застосовували комп'ютерну програму Excel (Microsoft).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати наших досліджень (табл. 1), введення щурам токсичної дози кобальту хлориду спричинило підвищення продукції активних

© М.В. Чорна, І.Я. Криницька, І.Р. Бекус, 2011.

форм кисню. Зокрема, загальна продукція супероксид-аніон радикала зростала в 1,1 та 1,2 раза на 1-шу і 4-ту доби відповідно після введення токсиканту порівняно з контрольними тваринами. До 10-ї доби після ураження рівень утворення цього радикала становив 108 % і вірогідно не відрізнявся від такого в інтактних тварин. Щодо швидкості утворення $O_2^{\cdot-}$ в мікосомальному електронно-транспортному ланцюгу при стимулюванні за допомогою НАДФН, то вона також зростала, як і нестимульована продукція, та найбільше відрізнялася на 4-ту і 7-му доби, що було, відповідно, на 18 та 11 % більше від такої в інтактних тварин. Подібних змін зазнавала і швидкість утворення супероксиду в мітохондріальному електронно-транспортному ланцюгу з індуктором НАДН, але її інтенсивність була значно вищою і становила 122, 170, 118 та 105 % на 1-шу, 4-ту, 7-му і 10-ту доби відповідно порівняно з інтактними тваринами.

Пероксид водню, хоча не є вільним радикалом, але має здатність ініціювати вільнорадикальне окиснення, тому його вважають цитотоксичною сполукою. Але найбільша шкода від H_2O_2 полягає в тому, що в реакції Хабер-Вейса він, взаємодіючи із супероксид-аніон

радикалом, утворює найнебезпечніший гідроксильний радикал [8, 12]. Як видно з таблиці 1, концентрація пероксиду водню в плазмі крові щурів з кобальтовою інтоксикацією підвищувалась уже через 24 год після введення отрути і була в 1,8 раза більшою, ніж в інтактних тварин. На 4-ту добу вміст H_2O_2 залишався майже таким самим і становив 175 % від рівня контролю. На наступному етапі досліджень спостерігалось зниження вмісту H_2O_2 , але його рівень залишався вірогідно високим до завершення дослідження і на 10-ту добу був в 1,5 раза більшим від контролю ($p_1 < 0,001$).

Таким чином, найбільша інтенсивність утворення АФК спостерігалась на 4-й день після введення кобальту хлориду. Можна вважати, що в основі таких змін за дії іонів кобальту лежать надмірне виснаження системи антиоксидантного захисту і неспроможність захисних адаптивних механізмів до підвищення антиоксидантних властивостей тканин [9]. Але в наступні терміни внаслідок стимуляції захисних систем інтенсивність утворення вільних радикалів дещо зменшувалась, можливо, тому, що введення іонів металів було одноразовим, їх кумуляція не відбувалася і організм мобілізував захисні сили.

Таблиця 1 – Продукція активних форм кисню у тварин, уражених кобальту хлоридом ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Досліджуванний матеріал	Група тварин				
		інтактні	уражені кобальту хлоридом			
			1 доба	4 доба	7 доба	10 доба
$O_2^{\cdot-}$ (загальна продукція), мкмоль/(с·кг)	Печінка	0,73±0,01	0,81±0,04	0,90±0,04 $p_1 < 0,01$	0,86±0,03 $p_1 < 0,02$	0,79±0,03
$O_2^{\cdot-}$ (продукція від мікосом), мкмоль/(с·кг)	Печінка	15,33±0,33	15,94±0,87	18,07±0,21 $p_1 < 0,001$	16,94±0,52 $p_1 < 0,05$	15,55±0,43
$O_2^{\cdot-}$ (продукція від мітохондрій), мкмоль/(с·кг)	Печінка	16,77±0,46	20,39±0,87 $p_1 < 0,02$	28,55±0,47 $p_1 < 0,001$	19,83±0,47 $p_1 < 0,01$	17,55±0,45
H_2O_2 , г/кг білка	Плазма крові	0,397±0,014	0,701±0,038 $p_1 < 0,001$	0,695±0,043 $p_1 < 0,001$	0,605±0,018 $p_1 < 0,001$	0,595±0,022 $p_1 < 0,001$

Примітка. Тут і в наступній таблиці: p_1 – відмінності вірогідні порівняно з інтактними тваринами.

Збільшення утворення активних форм кисню, безперечно, впливає на окиснення ліпідів. Як видно з таблиці 2, показники ліпопероксидації зазнавали зростання при отруєнні тварин кобальту хлоридом. Вміст ДК збільшувався вже на 1-шу добу і становив у плазмі крові 134 % ($p_1 < 0,01$), а на 4-ту – 127 % ($p_1 < 0,02$) від рівня інтактних тварин. Починаючи із 7-ї доби від моменту введення токсиканту, можна було

спостерігати зменшення концентрації цього показника, однак не до рівня інтактних тварин. Концентрація ДК у печінці на 1-шу добу від моменту ураження становила 232 % від рівня інтактних щурів, а на 4-ту – 169 %. Через 7 та 10 діб вміст ДК знижувався, але дані були статистично вірогідно вищими від рівня контрольних тварин і становили на 7-му добу 135 %, на 10-ту – 123 %. Збільшення концен-

трації ДК, що є первинними продуктами ПОЛ і токсичними метаболітами, призводить до деградації ліпопротеїнів, ферментів та нуклеїнових кислот [10].

Що стосується ТБК АП, то їх концентрація також збільшувалася при введенні щурам кобальту хлориду. В плазмі крові й печінці максимальні зміни зафіксовано на 4-ту добу – на рівні, відповідно, 148 та 208 % проти інтактних тварин. Через 7 діб від моменту введення CoCl_2

концентрація ТБК-активних продуктів у плазмі крові суттєво знизилась, а в печінці залишалась майже на попередньому рівні (199 % від інтактних). До закінчення експерименту вміст ТБК АП залишався вірогідно вищим, порівняно з інтактними тваринами, лише в печінці отруєних щурів, тоді як на 10-ту добу після введення токсиканту концентрація прикінцевих продуктів ПОЛ вірогідно не відрізнялася від такої в плазмі крові неуразених тварин.

Таблиця 2 – Динаміка показників вільнорадикального окиснення ліпідів у тварин з кобальтовою інтоксикацією ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Досліджуваний матеріал	Група тварин				
		інтактні	уражені кобальту хлоридом			
			1 доба	4 доба	7 доба	10 доба
ДК, ум. од./л	Плазма крові	1,19±0,06	1,59±0,06 $p_1 < 0,01$	1,51±0,06 $p_1 < 0,02$	1,43±0,06 $p_1 < 0,05$	1,33±0,05
ДК, ум. од./кг	Печінка	7,16±0,26	16,63±0,51 $p_1 < 0,001$	12,10±0,55 $p_1 < 0,001$	9,63±0,49 $p_1 < 0,01$	8,83±0,41 $p_1 < 0,02$
ТБК АП, мкмоль/л	Плазма крові	2,13±0,05	2,93±0,17 $p_1 < 0,01$	3,16±0,29 $p_1 < 0,02$	2,47±0,11 $p_1 < 0,05$	2,23±0,08
ТБК АП, мкмоль/кг	Печінка	3,50±0,14	6,50±0,27 $p_1 < 0,001$	7,31±0,23 $p_1 < 0,001$	6,97±0,43 $p_1 < 0,001$	4,70±0,30 $p_1 < 0,02$

На основі вищенаведеного можна констатувати, що отруєння кобальту хлоридом призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові та печінці піддослідних тварин. Це пов'язано зі здатністю кобальту інактивувати сульфгідрильні групи антиоксидантних ферментів і, таким чином, посилювати утворення вільних радикалів, метаболіти яких, у свою чергу, активують ПОЛ [8]. А кобальт як метал змінної валентності може безпосередньо взаємодіяти з вільними радика-

лами, продовжуючи ланцюгові реакції ліпопероксидації.

ВИСНОВКИ. Зростання швидкості утворення АФК свідчить про значний прооксидантний вплив кобальту хлориду. Значна роль у продукції АФК належить мітохондріальному електронно-транспортному ланцюгу. Підвищена генерація вільних радикалів призводить до вірогідного збільшення процесів ліпопероксидації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Губский Ю. И. Химические катастрофы и экология / Ю. И. Губский, В. Б. Долго-Сабуров, В. В. Храпак. – К. : Здоров'я, 1993. – 224 с.
2. Данилович Ю. В. Вплив стероїдних гормонів і окситоцину на утворення NO та H_2O_2 в ендометрії / Ю. В. Данилович // Укр. біохім. журн. – 2004. – 76, № 1. – С. 88–96.
3. Ланкин Г. Ф. Биметрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. школа, 1990. – 352 с.
4. Почерняева В. Ф. Определение источников активных форм кислорода / В. Ф. Почерняева, О. И. Цебржинский, Н. В. Шиш // Буковинський медичний вісник. – 2005. – 9, № 2. – С. 214–215.
5. Самохіна Л. М. Вплив пентоксифіліну на показники перекисного окиснення ліпідів та вміст нітриту за умов інтоксикації хлоридом кобальту / Л. М. Самохіна, Т. М. Бондар, С. В. Оксененко // Сучасні проблеми токсикології. – 2003. – № 4. – С. 41–48.
6. Сопоставление различных подходов к определению перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский, Р. И. Лившиц // Вопросы мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127.
7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили ; под ред.

В. Н. Ореховича // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

8. Чорна М. В. Вплив хлориду кобальту на генерацію гідроксильного радикалу та стан антиоксидантної системи у тварин / М. В. Чорна, І. Р. Бекус, Н. А. Василюшин // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конф., 13 черв. 2008 р. : тези доп. – Тернопіль, 2008. – С. 132.

9. Brown D. R. Neurodegeneration and oxidative stress: prior disease results from loss of antioxidant defence / D. R. Brown // Folia Neuropathol. – 2005. – **43**. – P. 229–243.

10. Cellular lipid peroxidation end-products induce apoptosis in human lens epithelial cells / S. Choudhary, W. Zhang, F. Zhou [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – **32**. – P. 360–369.

11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other

scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

12. Hancock J. T. Role of reactive oxygen species in cell signaling pathways / J. T. Hancock, R. Desikan, S. J. Neill // Biochemical Society Transactions. – 2001. – **29**, part 2. – P. 345–350.

13. Inhalation toxicity and carcinogenicity studies of cobalt sulfate / J. R. Bucher, J. R. Hailey, J. R. Roycroft [et al.] // Toxicol. Sci. – 1999. – **49**. – P. 56–67.

14. Oxidative DNA base damage in renal, hepatic, and pulmonary chromatin of rats after intraperitoneal injection of cobalt(II) acetate / K. S. Kasprzak, T. H. Zastawny, S. L. North [et al.] // Chem. Res. Toxicol. – 1994. – **7**. – P. 35–329.

15. Physicochemical mechanism of the interaction between cobalt metal and carbide particles to generate toxic activated oxygen species / D. Lison, P. Carbonnelle, L. Mollo [et al.] // Chem. Res. Toxicol. – 1995. – **8**. – P. 6–60.

М.В. Чорна, І.Я. Криницька, І.Р. Бекус

*ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО*

ТОКСИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ КОБАЛЬТА ХЛОРИДА НА СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ КРЫС

Резюме

В статье оценено токсическое воздействие кобальта хлорида на генерацию активных форм кислорода и показатели свободнорадикального окисления липидов. Установлено, что катионы кобальта вызывают повышенное образование супероксид-анион радикала и пероксида водорода. Выявлено дальнейшее влияние этих нарушений на процессы липопероксидации, что подтверждается увеличением содержания диеновых конъюгатов и ТБК-активных продуктов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кобальта хлорид, активные формы кислорода, свободнорадикальное окисление липидов.

M.V. Chorna, I.Ya. Krynytska, I.R. Bekus

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

TOXIC EFFECT OF COBALT CHLORIDE ON THE RATE OF OXYGEN ACTIVE FORMS FORMATION AND LIPID PEROXIDATION IN WHITE RATS

Summary

The article assesses toxic effect of cobalt chloride on the generation of reactive oxygen forms and indices of lipids free radical oxidation. It was determined, that cobalt cations cause increased formation of superoxide anion and hydrogen peroxide. There are further effects of these violations, the processes of lipid peroxidation, as evidenced by increased content of diene conjugates and TBA-active products.

KEY WORDS: cobalt chloride, active forms of oxygen, free radical oxidation of lipids.

Отримано 09.12.10

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

**ВИВЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЛИСТКІВ
ЕНДОСПЕРМАЛЬНОГО МУТАНТА КУКУРУДЗИ SUGARY-1**

З листків ендоспермального мутанта кукурудзи *sugary-1* виділено та ідентифіковано 4 флавонових глікозиди: монозиди апігенін-7-О-глюкозид, цинарозид (лютеолін-7-О-*b*-D-глюкопіранозид); біозиди сколимозид (лютеолін-7-О-*L*-рамнопіранозил-О-*b*-D-глюкопіранозид), хризеріол-7-О-рутинозид.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кукурудза, мутація, флавоноїдні сполуки.

ВСТУП. Створення нових лікарських препаратів із рослинної сировини є пріоритетним напрямком фармацевтичної промисловості. Найбільший інтерес викликають джерела фенольних сполук. Кукурудза є оптимальним джерелом отримання біологічно активних речовин. У медичній практиці використовують кукурудзяну олію, крохмаль та кукурудзяні стовпчики з приймочками [7, 10]. Листя кукурудзи в Україні застосовують виключно у тваринництві [1].

Ендоспермальний мутант кукурудзи *sugary-1* було отримано шляхом введення в генотип кукурудзи звичайної зубподібної гена, що впливає на структуру ендосперму зернівки, сприяє накопиченню цукрів, знижує вміст крохмалю і підвищує вміст декстринів до 32 % [5]. Широким масам споживачів ця кукурудза відома під назвою “цукрова кукурудза”. Ген *sugary-1*, притаманний цукровій кукурудзі, є типовим для спонтанних природних мутацій, а отримані рослини не містять генів інших організмів.

У попередніх дослідках було вивчено біологічну активність листків ендоспермального мутанта кукурудзи *sugary-1* та встановлено гепатопротекторну, антиоксидантну та протизапальну дії [2, 4, 6]. Хімічний склад листків кукурудзи майже не вивчено, тому метою роботи було комплексне дослідження біологічно активних речовин ендоспермального мутанта кукурудзи *sugary-1*, зокрема глікозидів флавоноїдів [3, 8, 9].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення експерименту використовували листки куку-

© М.Ф. Ткаченко, В.М. Ковальов, А.Г. Кононенко, 2011.

рудзи *sugary-1*, зібрані у фазу молочно-воскової стиглості зернівок. Листки подрібнювали до часток розміром 1-2 мм. Для видалення ліпофільних речовин сировину триразово обробляли хлороформом. Екстракцію сировини проводили 70 % етанолом. Отриманий водно-етаноловий екстракт концентрували при нагріванні під вакуумом до густого водного залишку, який фракціонували за розчинністю речовин у ряді розчинників: діетиловий ефір, етилацетат, *n*-бутанол.

Кожну фракцію аналізували за допомогою хроматографії на папері. Монозиди флавоноїдів ідентифікували в етилацетатній і бутанольній фракціях, біозиди – в бутанольній.

Кожну фракцію змішували з порошком поліаміду і наносили на колонку. Десорбцію проводили сумішшю етилацетат–етанол у різних співвідношеннях зі збільшенням концентрації етанолу (9:1, 8:2). Елюати збирали з колонки порціями по 50–100 мл. Кожну порцію аналізували за допомогою одно- і двомірної хроматографії на хроматографічному папері Filtrak у системах розчинників: 2, 15, 30 та 60 % оцтова кислота; етилацетат–мурашина кислота–вода (10:2:3); *n*-бутанол–оцтова кислота–вода (4:1:2 або 4:1:5); бензол–етилацетат–оцтова кислота (50:50:1 та 70:30:1). Ідентичні фракції поєднували, концентрували і кристалізували.

З листків кукурудзи виділили речовини фенольної природи, позначені як **Ф1–Ф4**.

Для встановлення будови глікозидів використовували кислотний, лужний і ферментативний гідроліз. У гідролізатах ідентифікували аглікони і цукри.

Кислотний гідроліз проводили у жорстких і м'яких умовах. Для виявлення якісного складу глікозидів виконували жорсткий кислотний гідроліз 5 % сульфатною кислотою при нагріванні на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 2–4 год. Для визначення порядку приєднання цукрів до аглікону проводили кислотний гідроліз у м'яких умовах 0,5 % хлористоводневою кислотою при нагріванні в колбі зі зворотним холодильником протягом 1,5–2 год з відбором проб через 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 та 120 хв і наступним хроматографуванням продуктів гідролізу [12, 13].

Лужний гідроліз проводили у 0,5 % водному розчині гідроксиду калію при нагріванні на водяній бані протягом 3 год. Проби для аналізу відбирали через 5, 10, 20, 50, 60 і 120 хв, підкисляли і хроматографували в системах розчинників: 15 і 30 % оцтова кислота.

Ферментативний гідроліз проводили естеразами виноградного равлика. Для цього до досліджуваного витягу додавали суміш естераз виноградного равлика і нагрівали при 35–40 °С протягом 12–24 год, періодично відбираючи проби для аналізу. Після досягнення повноти гідролізу суміш розводили етанолом і кип'ятили на водяній бані для денатурації протеїнів, які входять до складу ферментів. Аглікони екстрагували ефіром або етилацетатом, цукри виділяли й ідентифікували з водного розчину.

Шляхом ацетилювання визначали кількість гідроксигруп. Ацетилювання проводили зі свіжоперегнаним оцтовим ангідридом за присутності кислих або основних каталізаторів (концентрована сірчана кислота, піридин, ацетат натрію) [16]. Досліджувані сполуки розчиняли в оцтовому ангідриді, додавали концентровану сульфатну кислоту, через 3 хв додавали холодну воду і залишали на 10–12 год. Продукти, що виділилися, кристалізували з відповідних розчинників. Фізико-хімічні властивості ацетильних похідних використовували для ідентифікації окремих сполук [13, 14–16]. Температуру плавлення флавоноїдів і їх похідних визначали на блоці Кофлера (Franz Kystner ngch K:G:Dresden; N.K. 70/3314k). Нагрівання проводили зі швидкістю 4 °С/хв. Виміри робили в трьох повторностях.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Флавоноїдну природу досліджуваних речовин **Ф1–Ф4** підтверджували даними хроматографічної рухливості та ІЧ-спектрів, у яких виявляли смуги поглинання в ділянках 3400–3300 см⁻¹ (спир-

тові гідроксигрупи вуглеводів), 2900 см⁻¹ (фенольні гідроксигрупи), 1660 см⁻¹ (карбонільна група γ-пірону).

У продуктах гідролізу речовин **Ф1–Ф4** ідентифікували прості цукри: D-глюкозу в речовинах **Ф1, Ф2, Ф4**; D-глюкозу й рамнозу в речовинах **Ф3, Ф4**. Для ідентифікації вуглеводної частини використовували метод хроматографії на папері порівняно з достовірними зразками цукрів.

Після проведення кислотного гідролізу з гідролізатів виділяли аглікони: агліконом речовини **Ф1** був апігенін; речовин **Ф2** та **Ф3** – лютеолін; речовини **Ф4** – хризеріол.

За молекулярною масою, кількісним визначенням продуктів кислого та лужного гідролізу встановили, що речовини **Ф1** та **Ф2** віднесені до монозидів, а речовини **Ф3, Ф4** – до біозидів.

Відсутність батохромного зсуву з ацетатом натрію, що була встановлена за допомогою УФ-диференційної спектроскопії, свідчить про наявність заміщення в С-7 для речовин **Ф1–Ф4** [11, 12, 16]. Наявність гідроксигрупи в С-5 речовин **Ф1–Ф4** підтверджували якісними реакціями з розчином хлориду цирконілу. При додаванні розчину лимонної кислоти в метанолі інтенсивна жовта флуоресценція не зникала. Вільні гідроксили у С-3', С-4' речовин **Ф2** та **Ф3** визначали борно-ацетатним реактивом. В ІЧ-спектрі речовин **Ф1–Ф4** спостерігали 3 смуги поглинання в ділянці 1100–1010 см⁻¹, що підтверджує піранозну форму цукрів, а смуга при 890 см⁻¹ вказує на β-глікозидний зв'язок піранозидів.

На підставі отриманих результатів фізико-хімічних досліджень і порівняно з достовірними зразками ідентифікували виділені сполуки як флавонові глікозиди: монозиди – **Ф1** – апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, **Ф2** – цинарозид або лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид; біозиди – **Ф3** – сколимосид або лютеолін-7-О-L-рамнопіранозил-β-D-глюкопіранозид, **Ф4** – хризеріол-7-О-L-рамнопіранозил-О-β-D-глюкопіранозид або 3'-метокси-лютеолін-7-О-L-рамнопіранозил-О-β-D-глюкопіранозид.

Фізико-хімічні властивості ідентифікованих сполук наведено в таблиці.

ВИСНОВКИ. З листків ендоспермального мутанта кукурудзи *sugar1* виділено та ідентифіковано 4 флавонових глікозиди: монозиди апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, цинарозид (лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид); біозиди сколимосид (лютеолін-7-О-L-рамнопіранозил-

Таблиця – Фізико-хімічні властивості флавонових глікозидів листків ендоспермального мутанта кукурудзи sugary-1

Сполука	Речовина	Формула	М.м.	Т. пл., °С	λ max, нм
Ф1	Апігенін-7-О-глюкозид	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432,41	176–178	335, 265
Ф2	Цинарозид (лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,41	320–322	350, 265, 255
Ф3	Сколимозид (лютеолін-7-О-L-рамнопіранозил-О-β-D-глюкопіранозид)	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628,59	257–259	256, 265, 343
Ф4	Хризериол-7-О-рутинозид	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	608,60	173–175	253, 268, 350

О-β-D-глюкопіранозид), хризериол-7-О-L-рамнопіранозил-О-β-D-глюкопіранозид.

Враховуючи те, що листки кукурудзи sugary-1 мають різноманітні види фармаколо-

гічної активності, цей новий вид сировини є перспективним і потребує подальшого вивчення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Болотских А. С. Овощи Украины / А. С. Болотских. – Х. : Орбита, 2001. – 1088 с.

2. Вивчення гепатопротекторної активності екстракту листків кукурудзи в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту / А. Г. Кононенко, Л. М. Малоштан, М. Ф. Ткаченко, В. М. Ковальов // Запорозький медичинський журнал. – 2009. – **11**, № 5. – С. 115–117.

3. Вивчення флавоноїдного складу листків кукурудзи su-1 / М. Ф. Ткаченко, В. М. Ковальов, А. Г. Кононенко, Л. М. Малоштан // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. – К., 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 497–502.

4. Використання субстанції рослинного походження водного екстракту листків кукурудзи для розробки лікарського засобу гепатопротекторної дії : інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я / Л. М. Малоштан, А. Г. Кононенко, В. М. Ковальов, М. Ф. Ткаченко. – К., 2009. – Вип. 31 з проблеми "Фармація". – 4 с.

5. Класифікатор-довідник виду *Zea mays* L. / [В. В. Кириченко, І. А. Гур'єва, В. К. Рябчун, та ін.]. – Харків: ІР ім. В. Я. Юр'єва УААН, 2009. – 83 с.

6. Пат. 86502 Україна, МПК А 61 К 36 / 899, А 61 К 127 / 00, А 61 Р 7 / 10, А 61 Р 11 / 02, А 61 Р 17 / 08, А 61 Р 39 / 06, А 61 Р 43 / 00. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з антиоксидантною та протизапальною дією / Ковальов В. М., Малоштан Л. М., Субота Н. П., Кононенко А. Г., Ткаченко М. Ф. ; патентовласник Нац. фармац. ун-т. – № а 200708446 ; заявл. 23.07.07 ; опубл. 27.04.09, Бюл. № 8.

7. Пикунов Е. Лекарственные растения от А до Я / Е. Пикунов, Н. Рожкова. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2006. – 428 с.

8. Ткаченко М. Ф. Вивчення елементного складу листя ендоспермальних мутантів кукурудзи / М. Ф. Ткаченко // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії : мате-

ріали Всеукр. наук.-практ. семінару, 26 лист. 2004 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2004. – С. 267–270.

9. Ткаченко М. Ф. Вивчення жирнокислотного складу вегетативних та генеративних органів ендоспермальних мутантів кукурудзи / М. Ф. Ткаченко, В. М. Ковальов // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок : наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2004. – С. 127.

10. Формазюк В. И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине / под ред. Н. П. Максютинной. – К. : А.С.К., 2003. – 792 с.

11. Casati P. Gene expression profiling in response to ultraviolet radiation in *Zea mays* genotypes with varying flavonoid content / P. Casati, V. Walbot // *Plant Physiol.* – 2003. – **132**, № 9. – P. 1739–1754.

12. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications / ed. by O. M. Andersen, K.R. Markham. – N.-Y. : CRC Press, 2006. – 1212 p.

13. Identification and Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Burr Parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry / A. Plazonic, F. Bucar, Z. Males [et al.] // *Molecules.* – 2009. – **14**, № 1. – P. 2466–2490.

14. Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract / D. Dekanski, S. Janicijevic-Hudomal, V. Tadic [et al.] // *O. Serb. Chem. Soc.* – 2009. – **74**, № 4. – P. 367–377.

15. Suzuki R. A. New Flavone C-Glycoside from the Style of *Zea mays* L. with Glycation Inhibitory Activity / R. Suzuki, Y. Okada, T. Okuyama; Department of Natural Medicine and Phytochemistry, Meiji Pharmaceutical University // *Chemical and pharmaceutical bulletin.* – 2003. – **51**, № 10. – P. 1186–1188.

16. The Science of Flavonoids. ed. by E. Grotewold. – Springer Science + Business Media, 2006. – 274 p.

М.Ф. Ткаченко, В.Н. Ковалев, А.Г. Кононенко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ЛИСТЬЕВ ЭНДОСПЕРМАЛЬНОГО МУТАНТА КУКУРУЗЫ SUGARY-1

Резюме

Из листьев эндоспермального мутанта кукурузы *sugary-1* выделены и идентифицированы 4 флавоновых гликозида: монозиды апигенин-7-О-глюкозид, цинарозид (лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид); биозиды сколимосид (лютеолин-7-О-L-рамнопиранозил-О-β-D-глюкопиранозид), хризериол-7-О-рутинозид.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кукуруза, мутация, флавоноидные соединения.

M.F. Tkachenko, V.M. Kovaliov, A.H. Kononenko
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

STUDY OF FLAVONS GLYCOSIDES LEAVES OF ENDOSPERMAL MUTANT OF CORN SUGARY-1

Summary

4 flavons glycosides: monosides: apigenin-7-O-glucoside, cynaroside (luteolin-7-O-β-D-glucopyranoside); biosides: scolimoside (luteolin – 7-O-L-rhamnoside- O-β-D – glucopyranoside), chrisoeriol-7-O-rutinoside were isolated and identified from leaves of endospermal mutant of corn *sugary-1*.

KEY WORDS: corn, mutation, flavonoids compounds.

Отримано 17.12.10

Адреса для листування: М.Ф. Ткаченко, Національний фармацевтичний університет, вул. Блюхера, 4, Харків, 61146, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ У ТРАВІ НАСТУРЦІЇ ВЕЛИКОЇ (TROPAEOLUM MAJUS L.)

Вивчено якісний склад та кількісний вміст ефірних олій трави настурції великої. В ефірній олії ідентифіковано 16 компонентів, серед яких домінують фітол (9,49 %) і сквален (7,58 %).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: настурція велика, ефірні олії.

ВСТУП. Родина Tropealaceae складається з 2 родів, понад 80 видів яких заселяють тропічну Америку від Мексики до Чилі й Аргентини. Вони зустрічаються у тропічних лісах, посушливих областях, високогір'ях. В основному це однорічні трави із сильним запахом, що мають лопатеве листя, зазвичай без прилистків, з довгими черешками [2, 9]. Для всіх представників родини настурцевих характерні пряні запах і смак, властиві всім частинам рослини. Це зумовлено наявністю в їх органах клітин, що містять міозин [6].

Найвідомішими і давно культивованими представниками родини є настурція велика (*T. majus*) і настурція мала (*T. minus*) [3, 4, 7].

Хімічний склад рослин родини Tropealaceae вивчено недостатньо, тому метою даної роботи було дослідити якісний склад та визначити кількісний вміст ефірної олії, виділеної з трави настурції великої.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ефірні олії з досліджуваної сировини настурції великої виділяли методом перегонки з водяною парою з використанням віали "Agilent".

Дослідження компонентного складу ефірної олії трави настурції великої проводили на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Компоненти ефірної олії ідентифікували за результатами порівняння в процесі хроматографування мас-спектрів хімічних речовин з даними бібліотеки мас-спектрів NIST02.

Індекси одержання компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів ефірної олії з додаванням суміші нормальних алканів ($C_{10}-C_{18}$) [8].

© О.О. Баєв, С.М. Марчишин, 2011.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень ефірних олій трави настурції великої відображено у таблиці 1.

Таблиця 1 – Компонентний склад ефірних олій надземної частини настурції великої

Компоненти ефірної олії	%
бензонітрил	2,92
бензилізотіоціанат	2,70
не ідентифікована	1,56
тетрадеканова кислота	1,81
октадекан	0,89
гексагідрофарнезилцетон	2,75
нонадекан	1,03
фарнезилцетон	0,95
не ідентифікована	0,82
хенейкозан	0,94
фітол	9,49
трикозан	1,63
тетракозан	1,37
пентакозан	4,05
гексакозан	1,22
не ідентифікована	1,25
гептакозан	4,04
не ідентифікована	1,89
сквален	7,58
не ідентифікована	1,52
нонакозан	5,48
не ідентифікована	0,79
не ідентифікована	10,35

З 23 виділених компонентів ефірної олії надземної частини (трави) настурції великої

ідентифіковано 16, що становить 69,6 %. Кількісний вміст ідентифікованих компонентів ефірної олії настурції складав 48,85 % (рис. 1).

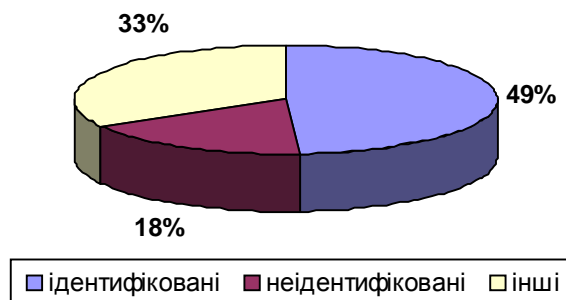


Рис. 1. Вміст ідентифікованих та неідентифікованих компонентів ефірних олій у траві настурції великої.

Вивчаючи якісний склад і кількісний вміст ефірних олій, виявили, що у досліджуваній олії трави настурції великої є 18 компонентів, вміст яких більший 1 % (рис. 2).

Домінуючими компонентами ефірної олії настурції є фітол (9,49 %) і сквален (7,58 %). З джерел літератури відомо, що сквален нале-

жить до дуже важливих біологічно активних речовин. Цю сполуку вперше виявили у печінці акул (назва "сквален" походить від "squalus" – акула) [5, 10]. В організмі людини сквален активізує відновні процеси, що сприяє загоюванню виразок і пошкоджених тканин внутрішніх органів [1]. Крім того, виявлено позитивний вплив сквалену на нормалізацію обміну холестерину, а також доведено, що він є протипухлинним засобом, зміцнює імунну систему, протидіє канцерогенним речовинам, бактеріям, грибкам, вірусу герпесу [11].

Важливим компонентом ефірної олії настурції є фітол (з грец. phytion – рослина) – ациклічний одненасичений дитерпеновий спирт, який входить до складу молекули хлорофілу, вітамінів E та K₁.

Окрім того, у значній кількості серед ідентифікованих компонентів ефірної олії настурції є нонакозан (5,48 %), пентакозан (4,049 %), гептакозан (4,036 %), бензонітрил (2,92 %), гексагідрофарнезиллацетон (2,75 %), бензилізотиоціанат (2,70 %), тетрадеканова кислота (1,81 %), трикозан (1,63 %), тетракозан (1,37 %), гексакозан (1,22 %).

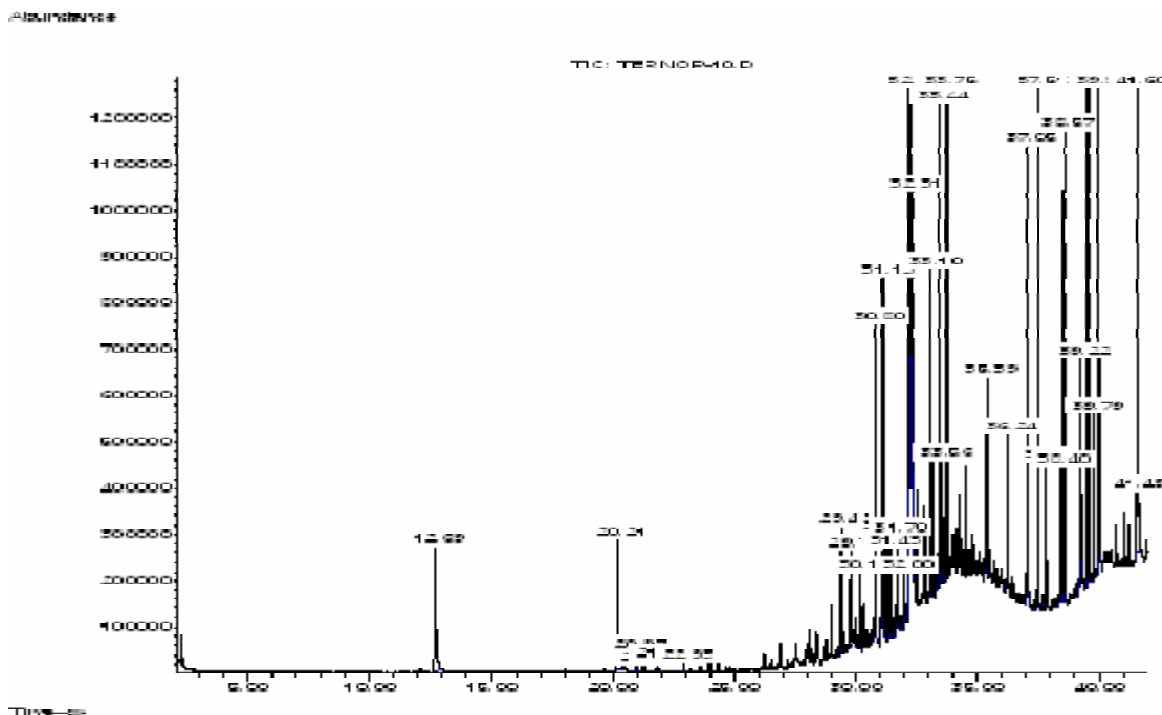


Рис. 2. Хроматограма ефірної олії трави настурції великої.

ВИСНОВОК. Вивчено якісний склад і кількісний вміст основних компонентів ефір-

них олій трави настурції великої. Вперше ідентифіковано 16 компонентів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гонський Я. І. Біохімія людини : підручник / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 736 с.
2. Дудченко Л. Г. Пряно-ароматическіе и пряно-вкусовые растения / Л. Г. Дудченко, А. С. Козьяков, В. В. Кривенко. – К. : Наукова думка, 1989. – 304 с.
3. Лікарські рослини : енциклопедичний довідник / [відп. ред. А. М. Гродзинський]. – К. : Голов. ред. УРЕ, 1990. – С. 879.
4. Николайчук Л. В. Целебные растения: лекарственные свойства, кулинарные рецепты. Применение в косметике / Л. В. Николайчук, Н. П. Жигар. – 2-е изд. – Х. : Прапор, 1992. – С. 133.
5. Определение сквалена в семенах некоторых растений семейства Amaranthaceae / Л. А. Дейнека, В. И. Дейнека, И. А. Гостищев [и др.] // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 60–74.
6. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин / М. М. Сафонов. – Тернопіль : Навчальна книга-Богдан, 2008. – 384 с.
7. Формазюк В. Й. Энциклопедия пищевых и лекарственных растений: культурные и дикорастущие растения в практической медицине / В. И. Формазюк ; под ред. Н. П. Максютинной. – К. : АСК, 2003. – С. 682–683.
8. Черногород Л. Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea L.*, содержащие фразанол / Л. Б. Черногород, Б. А. Виноградов // Растительные ресурсы. – 2006. – **42**, вып. 2. – С. 61–68.
9. Шакалина Н. С. Большая энциклопедия народной медицины / Н. С. Шакалина. – М. : Эксмо, 2009. – С. 960–961.
10. He H.-P. Extraction and purification of squalene from *Amaranthus grain* / H.-P. He, Y. Cai, H. Corke // J. Agric. Food Chem. – 2002. – **50**. – P. 368–372.
11. Newmark H. I. Squalene, olive oil, and cancer risk: a review and hypothesis / H. I. Newmark // Cancer Epidem. Biomark. Prevent. – 1997. – **6**. – P. 1101–1103.

А.А. Баев, С.М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ТРАВЕ НАСТУРЦИИ БОЛЬШОЙ (*TROPAEOLUM MAJUS L.*)

Резюме

Изучено качественный состав и количественное содержание эфирных масел травы настурции большой. В эфирном масле идентифицировано 16 компонентов, среди которых доминируют фитол (9,49 %) и сквален (7,58 %).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: настурция большая, эфирные масла.

A.A. Bayev, S.M. Marchyshyn

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ANALYSIS OF THE VOLATILE OIL CONTENT IN GARDEN NASTURTIUM HERB (*TROPAEOLUM MAJUS L.*)

Summary

Qualitative and quantitative content of volatile oils in garden nasturtium herb was studied. 16 components were identified in ether oil. The dominating components of volatile oil are phytol (9,49 %) and scvalene (7,58 %).

KEY WORDS: garden nasturtium, volatile oils.

Отримано 06.12.10

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

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОТОВОЇ РІДИНИ У ПРАЦІВНИЦЬ КОНДИТЕРСЬКОГО ВИРОБНИЦТВА

Проведено аналіз фізико-хімічних властивостей ротової рідини у працівниць кондитерського виробництва (КВ) залежно від стажу роботи на даному підприємстві. Зі збільшенням стажу роботи на КВ спостерігали зниження рН, швидкості секреції слини та збільшення в'язкості ротової рідини стосовно осіб порівняльної групи, які не контактували зі шкідливими чинниками кондитерського виробництва.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фізико-хімічні властивості, ротова рідина, кондитерське виробництво.

ВСТУП. Важливу роль у повноцінному функціонуванні й підтриманні цілісності всього комплексу тканин пародонта відіграє ротова рідина, яка містить фактори захисту зубів і слизової оболонки порожнини рота, сприяє механічному і хімічному очищенню від бактеріальних і токсичних впливів, має певне значення в обміні речовин покривного епітелію та є "засобом поєднання структур пародонта з навколишнім середовищем". Мікрофлора порожнини рота може набути значення етіопатогенного подразника за умови послаблення захисних факторів пародонта, серед яких важлива роль належить кількісним і якісним параметрам ротової рідини. При професійному контакті зі шкідливими чинниками виробничого середовища (вплив високих температур, випари токсичних речовин, пил, стрес) склад і властивості ротової рідини змінюються, що є однією з причин високої частоти стоматологічних захворювань у працівників промислових підприємств [3, 4].

Зниження темпів секреції слини і підвищення її в'язкості погіршують очищення слизової оболонки від мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності, гальмують утворення і виділення секреторного імуноглобуліну А, який перешкоджає прикріпленню бактерій до верхніх зубів, а також сприяють посиленню відкладання зубного каменю. При недостатньому слиновиділенні мікроорганізми порожнини рота легко переборюють знижену опірність слизової оболонки, що призводить до розвитку запального процесу [1, 2].

© Ю.Л. Бандрівський, 2011.

Стан порожнини рота, в тому числі м'яких тканин, і активність мікрофлори суттєво залежать від стабільності рН ротової рідини. Відхилення від норми концентрації іонів водню викликає порушення клітинного метаболізму внаслідок зміни активності ферментів слини. В експериментальному дослідженні на щурах (Т. П. Вавилова і співавт., 1991) встановлено, що утримування тварин на високоцукровій дієті призводить до суттєвого зниження активності пероксидази слини, яка відіграє важливу роль в етіології зубної бляшки [2, 5].

За нормальних умов слина здатна нейтралізувати кислоти і луги завдяки буферній дії бікарбонатної, фосфатної та білкової систем, однак при впливі низки екзогенних чинників, у тому числі при надлишковому надходженні вуглеводів, буферна ємність слини знижується [6, 7].

Метою дослідження було визначити фізико-хімічні властивості ротової рідини у працівниць кондитерського виробництва, хворих на генералізований пародонтит.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували швидкість слиновиділення, в'язкість і кислотність ротової рідини.

Для визначення швидкості слиновиділення нестимульовану мішану слину збирали вранці натще шляхом спльовування протягом 20 хв у мірні пробірки. Швидкість слиновиділення вимірювали в мл/хв.

В'язкість ротової рідини визначали за допомогою віскозиметра Освальда з капіляром довжиною 10,0 см і діаметром 0,4 мм. Результати дослідження виражали в мПа/с. Для до-

слідження брали 5,0 мл щойно зібраної ротової рідини. Величину в'язкості обчислювали за формулою:

$$\eta_p = \eta_0 \frac{\rho_p \cdot \tau_p}{\rho_0 \cdot \tau_0}$$

де ρ_0 , τ_0 , η_0 – густина, час витікання і в'язкість води;

ρ_p , τ_p , η_p – густина, час витікання і в'язкість ротової рідини.

Вимірювання рН щойно зібраної ротової рідини проводили за допомогою рН-метра, мілівольметра рН-150М і здійснювали у цифровій формі із застосуванням вимірювального перетворювача та набору скляних комбінованих електродів ЭСК-1, ЭСК-10301, ЭСК-10302. Точність вимірювання рН середовища складала $\pm 0,01$ [2].

Фізико-хімічні властивості ротової рідини визначали у 85 працівниць кондитерського виробництва зі стажем роботи на підприємстві

від 1 до 11 років та більше (основна група) і в 30 жінок, які не контактували зі шкідливими чинниками кондитерського виробництва (контрольна група).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження швидкості слиновиділення, в'язкості й кислотності ротової рідини в 30 осіб контрольної групи і 85 осіб основної групи (табл.) дозволило встановити в останніх такі зміни досліджуваних параметрів. Швидкість слиновиділення становила в середньому ($0,44 \pm 0,02$) мл/хв, що нижче, порівняно з контрольною групою ($0,66 \pm 0,02$) мл/хв, у 1,5 раза ($p < 0,001$). Середнє значення в'язкості ротової рідини ($1,82 \pm 0,07$) мПа/с також достовірно перевищувало таке ж у контролі ($1,33 \pm 0,03$) мПа/с в 1,5 раза ($p < 0,001$). При визначенні концентрації іонів водню у ротовій рідині обстежених основної групи встановлено середнє значення рН – $6,44 \pm 0,55$, що нижче, порівняно зі зна-

Таблиця – Динаміка показників ротової рідини працівниць кондитерського виробництва залежно від стажу роботи та протягом робочої зміни ($M \pm m$)

Показник	Стаж роботи, роки	Основна група, n=85			Контрольна група, n=30 $M \pm m$
		кількість обстежень	На початку зміни	У кінці зміни	
			$M \pm m$	$M \pm m$	
Швидкість секреції слини, мл/хв.	до 1	15	$0,54 \pm 0,01$	–	0
	1–5	22	$0,44 \pm 0,02$	–	
	6–10	21	$0,47 \pm 0,01$	–	
	11 і більше	27	$0,39 \pm 0,02$	–	
Середнє значення			$0,44 \pm 0,02$ $p < 0,001$		$0,66 \pm 0,02$
В'язкість ротової рідини, мПа/с	до 1	15	$1,36 \pm 0,02$	$1,61 \pm 0,02$	
	1–5	22	$1,62 \pm 0,03$ p, p_1, p_2	$1,99 \pm 0,06$	
	6–10	21	$1,91 \pm 0,03$ p, p_1, p_3	$2,16 \pm 0,03$	
	11 і більше	27	$2,18 \pm 0,02$ p, p_1, p_3	$2,09 \pm 0,04$	
Середнє значення			$1,82 \pm 0,07$ $p < 0,001$	$2,09 \pm 0,07$ $p, < 0,001$	$1,33 \pm 0,03$
рН	до 1	15	$6,75 \pm 0,09$ p_1, p_2	$5,64 \pm 0,08$	
	1–5	22	$6,38 \pm 0,04$ p, p_1, p_2, p_3	$5,62 \pm 0,06$	
	6–10	21	$6,40 \pm 0,02$ p, p_1, p_2, p_3	$5,61 \pm 0,04$	
	11 і більше	27	$6,34 \pm 0,03$ p, p_1, p_2, p_3	$5,61 \pm 0,04$	
Середнє значення			$6,44 \pm 0,05$ $p < 0,001$	$5,62 \pm 0,06$ $p_1 < 0,001$	$6,77 \pm 0,05$

Примітка. Відмінності показників достовірності при $p < 0,05$:

p – в основній групі на початку зміни стосовно контролю;

p_1 – в основній групі в кінці зміни стосовно контролю;

p_2 – між показниками основної групи на початку і в кінці зміни;

p_3 – між показниками основної групи залежно від стажу роботи;

ченням $6,77 \pm 0,05$ контрольної групи, в 1,1 раза $p < 0,001$).

Вивчення фізико-хімічних властивостей ротової рідини в обстежених залежно від стажу роботи на кондитерському виробництві показало суттєві зміни досліджуваних параметрів тільки в осіб основної групи, отож у контрольній групі вказані їх середні значення.

Уже в перший рік роботи в умовах кондитерського виробництва швидкість секреції мішаної слини в обстежених основної групи була нижчою порівняно з контролем, однак зафіксований показник ($0,54 \pm 0,01$) мл/хв перебував у межах загальноприйнятої норми.

При стажі роботи 1–5 років швидкість секреції мішаної слини в основній групі зменшувалась до ($0,44 \pm 0,02$) мл/хв, що нижче в 1,2 раза порівняно з такою при стажі до одного року ($p_3 < 0,05$) і в 1,6 раза порівняно з контролем ($p < 0,001$). При стажі роботи 6–10 років швидкість слиновиділення в основній групі незначно зростала до ($0,47 \pm 0,01$) мл/хв ($p_3 < 0,2$), залишаючись достовірно нижчою порівняно з контролем ($p < 0,001$). Найменшу швидкість слиновиділення ($(0,39 \pm 0,02)$ мл/хв) зафіксовано у працівниць зі стажем понад 10 років, що нижче в 1,4 раза стосовно показників при стажі до одного року ($p_3 < 0,01$) і в 1,5 раза порівняно з контролем ($p < 0,001$).

В обстежених основної групи зі стажем до одного року в'язкість ротової рідини становила ($1,36 \pm 0,02$) мПа/с і практично не відрізнялася від середнього показника контролю ($p > 0,1$). Зі зростанням стажу роботи в основній групі зафіксовано прогресуюче збільшення

в'язкості ротової рідини, максимальне значення якої ($(2,18 \pm 0,02)$ мПа/с) встановлено в осіб зі стажем понад 10 років ($p_3 < 0,01$) і в 1,6 раза вище за значення контролю ($p < 0,01$).

Зі збільшенням стажу роботи в основній групі простежено зниження рН ротової рідини від $6,75 \pm 0,09$ при стажі до одного року до $6,34 \pm 0,03$ при стажі понад 10 років. Показники рН ротової рідини в жінок зі стажем роботи більше одного року були меншими як порівняно зі стажем до одного року, так і порівняно з контролем (в усіх випадках $p < 0,05$).

Вплив виробничих чинників підтвердило порівняння показників в'язкості й рН ротової рідини обстежених основної групи в кінці робочого дня стосовно ранкових показників. Середнє значення в'язкості ротової рідини в кінці зміни становило ($2,09 \pm 0,07$) мПа/с, що перевищувало початковий показник ($(1,82 \pm 0,07)$ мПа/с) в 1,1 раза ($p_4 < 0,05$). Середнє значення рН у кінці робочого дня було нижчим, порівняно з початком, в 1,2 раза і становило $5,62 \pm 0,06$ при середньому значенні $6,49 \pm 0,05$, встановленому на початку роботи ($p_4 < 0,001$).

ВИСНОВКИ. Аналіз отриманих даних дозволяє припустити, що пародонтопатогенний вплив комплексу шкідливих виробничих чинників кондитерського виробництва реалізується значною мірою через зміну властивостей ротової рідини працівників, сприяючи зміні якісного та кількісного складу мікрофлори порожнини рота, токсини якої запускають каскад метаболічних процесів у пародонті, що, у свою чергу, потребує адекватного лікування та корекції [4, 5].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галиулина М. В. Влияние электролитов на структурные свойства смешанной слюны человека / М. В. Галиулина, Н. В. Ганзына, Н. В. Анисимива. – Омск, 1995. – 251 с.
2. Забросаева Л. Н. Биохимия слюны / Л. Н. Забросаева, Н. В. Козлов. – Смоленск, 1992. – 36 с.
3. Кундієв Ю. І. Професійна захворюваність в Україні у динаміці довгострокового спостереження / Ю. І. Кундієв, А. М. Нагорна // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2005. – № 1. – С. 3–11.
4. Мороз К. А. Особливості клінічного перебігу та лікування захворювань пародонта у працівників цукрового виробництва : автореф. дис. на здобуття

- наук. ступеня канд. мед. наук ; спеціальність 14.01.21 “стоматологія” / К. А. Мороз. – Львів, 2005. – 16 с.
5. Пильмьяров Э. М. Стоматологический и соматический статус организма в показателях метаболизма ротовой жидкости : автореф. дис. на присвоение науч. степени д-ра мед. наук / Э. М. Пильмьяров. – Самара, 2002. – 40 с.
6. Aurer A. Markers of periodontal destruction in saliva of periodontitis patients / A. Aurer, G. Stavlegenic-Rukavina, Aurer – Kozel // Acta. Med. Croatica. – 2005. – 59, № 2. – P. 117–122.
7. Nomura G. S. Creening of periodontitis with, salivares enzyme tests / G. Nomura, T. Tamaka // G. Iral. Sci. – 2006. – 48, № 4. – P. 117–183.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У РАБОТНИЦ КОНДИТЕРСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Резюме

Проведен анализ физико-химических свойств ротовой жидкости у работниц кондитерского производства (КП) в зависимости от стажа работы на данном предприятии. С увеличением стажа работы на КП наблюдали снижение рН, скорости секреции слюны и увеличение вязкости ротовой жидкости относительно лиц сравнительной группы, которые не контактировали с вредными факторами кондитерского производства.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: физико-химические свойства, ротовая жидкость, кондитерское производство.

Yu.L. Bandrivskyi

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF MOUTH LIQUID IN THE WORKWOMEN OF PASTRY PRODUCTION

Summary

It was held the analysis of physical and chemical properties of mouth liquid in the workwomen of pastry production depending on length of service in this enterprise. With the increase of length of service there was diminishing of pH on PP, speeds of secretion of saliva and increase of viscosity of mouth liquid in relation to the persons of comparative group, which did not contact with the harmless factors of pastry production.

KEY WORDS: physical and chemical properties, mouth liquid, pastry production.

Отримано 01.12.10

Адреса для листування: Ю.Л. Бандривський, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ

Вивчали клінічні особливості остеоартрозу (ОА) в поєднанні з хронічним токсичним гепатитом (ХТГ) у 17 хворих і в 53 хворих на ОА без супутнього ураження гепатобіліарної системи. У пацієнтів із токсичним ураженням печінки ОА клінічно перебігав тяжче. Рівень оксипроліну сироватки крові був статистично достовірною вищим за комбінованої патології, а концентрація румалонових антитіл несуттєво перевищувала показник хворих лише на ОА.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: остеоартроз, хронічний токсичний гепатит, оксипролін, румалонові антитіла.

ВСТУП. Остеоартроз (ОА) – поширена патологія, якою уражено близько 20 % населення земної кулі [1]. Згідно з прогнозами спеціалістів, до 2020 року ОА діагностуватимуть у 57 % жителів нашої планети [2].

Досить часто у клінічній практиці спостерігається поєднання ОА із захворюванням гепатобіліарної системи [3, 5], зокрема хронічними гепатитами [3]. Причиною токсичного ураження печінки досить часто стають медикаменти, які використовують для лікування ОА. Встановлено, що патологічні зміни в кістково-хрящовій тканині можуть бути зумовлені хворобами печінки [6]. Печінка є центральним органом біохімічного гомеостазу організму. Внаслідок постійного впливу хронічної інтоксикації порушується саморегуляція клітин на генетичному рівні, збільшується проникність мембран гепатоцитів, активуються протизапальні цитокіни, перекисне окиснення, пригнічується антиоксидантний захист. Усе це, у свою чергу, негативно впливає на обмінні процеси в усьому організмі, в тому числі в хрящовій і кістковій тканинах [7].

При огляді наукової літератури виявлено мало робіт, в яких би проводили дослідження клінічних та біохімічних проявів ОА на тлі токсичного ураження печінки. Тому метою даної роботи стало визначення клініко-функціональних індексів, концентрації оксипроліну і румалонових антитіл у пацієнтів з ОА в поєднанні з хронічним токсичним гепатитом (ХТГ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було обстежено 70 хворих на ОА. В обстеження не включали осіб із супутніми ендокринними захворюваннями, хірургічною постменопаузою, підозрою на реактивний артрит, активним гепатитом, індексом маси тіла понад 25 кг/м² та III–IV рентгенологічними стадіями ОА за класифікацією Келлгрена–Лоуренса (J. H. Kellgren, J. S. Lawrence, 1957).

Пацієнтів поділили на дві групи: 1-шу групу склали 53 хворих на ОА – 17 чоловіків (32,1 %) і 36 жінок (67,9 %), середній вік – (55,92±1,41) року; до 2-ї групи зарахували 17 хворих на ОА на тлі ХТГ – 7 чоловіків (41,2 %) та 10 жінок (58,8 %), середній вік – (52,58±2,99) року. До контрольної групи ввійшло 20 здорових людей.

Діагноз ОА встановлювали на основі уніфікованих діагностичних критеріїв, розроблених Американською ревматологічною асоціацією і схвалених Асоціацією ревматологів України [2].

ХТГ діагностовано на основі клінічних, епідеміологічних і лабораторних (біохімічний аналіз крові, визначали HBsAg, анти-HCV Ig G та ДНК і РНК вірусів гепатитів В і С у полімеразній ланцюговій реакції) даних.

Вираження суглобового синдрому оцінювали за такими показниками, як: больовий індекс (БІ), візуально-аналогова шкала (ВАШ) болю, суглобовий індекс (СІ), альгофункціональний індекс Лекена. Про метаболізм кістково-хрящової тканини дізнавались за концентрацією оксипроліну, румалонових антитіл і активністю лужної фосфатази в сироватці крові. Рівень оксипроліну в сироватці

крові визначали фотоелектроколориметрично (П. Н. Шараєв, 1981). За Є. В. Бененсоном і співавт. (1992) визначали румалонові антитіла, які є показниками антигеноспецифічної активації сироватки крові.

Обробку цифрових даних виконували на персональному комп'ютері Intel (R) Celeron (R) CPU 430 із застосуванням електронних таблиць Excel 2003 for Windows (Microsoft, USA) з

визначенням критерію Стюдента (t) і статистичної достовірності (p). Різницю показників вважали вірогідною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При проведенні клінічного дослідження у пацієнтів, в яких ОА поєднувався з ХТГ, відмічено зростання клініко-функціональних індексів порівняно з хворими без супутніх хвороб (табл.).

Таблиця – **Інтенсивність суглобового синдрому в обстежених хворих (M±m)**

Показник	ОА (n=53)	ОА+ХТГ (n=17)	p
СІ, бали	1,36±0,10	1,59±0,12	>0,05
Альгофункціональний індекс Лекена, бали	9,26±0,20	9,82±0,18	<0,05
Інтенсивність болю за ВАШ, см	5,55±0,15	6,00±0,15	<0,05
БІ в спокої, бали	1,70±0,06	1,65±0,12	>0,05
БІ при активних рухах, бали	1,98±0,06	2,18±0,10	>0,05

Примітка. p – достовірність різниці між показниками хворих на ОА і ОА в поєднанні із ХТГ.

У хворих на ОА в поєднанні з ХТГ альгофункціональний індекс Лекена та інтенсивність болю за ВАШ були суттєво вищими, ніж у хворих лише на ОА ($p < 0,05$). СІ, БІ у спокої і при активних рухах у вказаних групах суттєво не різнилися ($p > 0,05$).

Відмічено підвищення концентрації оксипроліну і румалонових антитіл в усіх хворих порівняно зі здоровими людьми, що вказує на інтенсифікацію кістково-хрящового метаболізму.

Концентрація оксипроліну і румалонових антитіл у пацієнтів із супутнім токсичним ураженням печінки була вищою порівняно з особами, в яких діагностовано лише ОА, відповідно, на 40,9 ($p < 0,05$) і 17,8 % ($p > 0,05$).

Колаген входить до складу позаклітинного матриксу хряща. Оксипролін є продуктом

метаболізму колагену і вважається біологічним маркером, який відображає катаболізм цього білка [4]. В організмі людини є колагеночутливі В-лімфоцити, які можуть утворювати антитіла до сполучної тканини і колагену II типу – румалонові антитіла. Румалоночутливий клон В-клітин при ОА можна вважати фактором, що спричиняє деструкцію хряща.

ВИСНОВКИ. 1. Виявлено зростання інтенсивності суглобового синдрому у хворих на ОА в поєднанні з ХТГ порівняно з хворими лише на ОА без клінічнозначущої супутньої патології.

2. Токсичне ураження печінкової тканини при ОА сприяє посиленню деструктивних процесів у хрящовій тканині.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Клинические рекомендации. Ревматология / [под ред. Е. Л. Насонова]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 288 с.
2. Коваленко В. Н. Остеоартроз. Практична настанова / В. Н. Коваленко, О. П. Борткевич. – [3-те вид., допов., зі змінами]. – К. : Морион, 2010. – 608 с.
3. Козак Н. П. Особливості уражень гепато-біліарної системи у хворих на остеоартроз // Укр. мед. часопис. – 2000. – **17**, № 3. – С. 129–131.
4. Лисенко І. В. Діагностична цінність оксипроліну й арахідонової кислоти як біологічних маркерів деградації сполучної тканини / І. В. Лисенко // Укр. ревматол. журн. – 2006. – **24**, № 2. – С. 40–44.

5. Пішак О. В. Вікові та статеві особливості стану про- та антиоксидантних систем крові у хворих на остеоартроз із супутньою патологією гепато-біліарної системи та кишечника / О. В. Пішак, І. О. Волошин, М. М. Кулинич // Буковинський мед. вісник. – 2008. – **12**, № 1. – С. 41–44.

6. Подрушняк В. П. Остеопороз – проблема века / В. П. Подрушняк. – Симферополь : Одиссей, 1997. – 216 с.

7. Соринсон С. Н. Хронические гепатиты / С. Н. Соринсон. – СПб. : Теза, 1998. – 325 с.

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТЕОАРТРОЗА И ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Резюме

Изучали клинические особенности остеоартроза (ОА) в сочетании с хроническим токсическим гепатитом (ХТГ) у 17 больных и у 53 больных с ОА без сопутствующего поражения гепатобилиарной системы. У пациентов с токсическим поражением печени ОА клинически перебежал тяжелее. Уровень оксипролина сыворотки крови был статистически достоверно выше при комбинированной патологии, а концентрация румалоновых антител незначительно превышала показатель больных лишь с ОА.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: остеоартроз, хронический токсический гепатит, оксипролин, румалоновые антитела.

I.I. Hanberher
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CLINICAL PECULIARITIES OF OSTEOARTHRITIS AND CONNECTIVE TISSUE METABOLISM INDICES IN PATIENTS WITH CHRONIC TOXIC HEPATITIS

Summary

Clinical peculiarities of osteoarthritis (OA), combined with chronic toxic hepatitis (HTH) in 17 patients and in 53 patients with OA without concomitant destruction of hepato-biliary system were studied. In patients with chronic toxic hepatitis, OA clinically ran severely. Oxyprolyn serum level was statistically significantly higher in patients with combined pathology, and rumalons antibodies concentration didn't figure significantly higher than patients with only OA.

KEY WORDS: osteoarthritis, chronic toxic hepatitis, oxyproline, rumalon antibodies.

Отримано 28.12.10

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

ЕФЕКТИВНІСТЬ МАЗІ “ГЛІТАЦИД” НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ СКИПИДАРНОГО ДЕРМАТИТУ В ЩУРІВ

Досліджено протизапальну активність нової комбінованої мазі із сухим екстрактом солодки на моделі скипидарного дерматиту в щурів. Встановлено, що мазь із сухим екстрактом солодки проявляє виражену протизапальну дію (58,3 %) на відміну від референт-препарату – гелю “Пантестин”-Дарниця (33,3 %). Отримані результати свідчать про перспективність застосування нової комбінованої мазі в терапії гнійно-запальних процесів шкіри.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **сухий екстракт солодки, скипидарний дерматит, протизапальний ефект.**

ВСТУП. Проблема раціональної терапії запальних захворювань шкіри є однією з актуальних у сучасній медицині, оскільки дуже часто їх перебіг ускладнюється наявністю ерозій, виразок, а також приєднанням інфекції [2, 4, 7, 11, 12].

З огляду на це, одним з ефективних методів лікування ранової патології шкіри є застосування засобів місцевої терапії з комплексною дією (протизапальною, регенераторною та антибактеріальною), що стимулюють процеси репарації [2, 3, 8]. Тому актуальним напрямком підвищення ефективності лікування запальних захворювань шкіри нині вважають розробку нових полікомпонентних високо-ефективних і безпечних лікарських засобів.

На кафедрі заводської технології ліків під керівництвом професора О.А. Рубан розроблено склад мазі для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри: сухий екстракт солодки, анестезин, нітазол, емульгатори, вода очищена та інші речовини.

Метою дослідження було вивчення протизапальної активності нової комбінованої мазі із сухим екстрактом солодки на моделі субхронічного запалення шкірних покривів – скипидарного дерматиту в щурів [1].

Як референт-препарат використовували гель “Пантестин”-Дарниця. Вибір референт-препарату був зумовлений спільністю фармакологічних ефектів: обидві мазі беруть участь у процесах формування та регенерації шкіри,

рубцювання важкозагоюючих, ускладнених ран. Оскільки рани, що важко загоюються, як правило, ускладнюються рановою інфекцією, з метою профілактики та лікування ранової інфекції і в мазь “Глітацид”, і в гель “Пантестин”-Дарниця введено антисептики (нітазол і мірамистин). Відповідно, обидві мазі беруть участь у процесах синтезу пластичного матеріалу для клітин [4, 9, 10, 11].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження було проведено на 24 білих безпородних різностатевих щурах масою 200,0–220,0 г. Для моделювання патології на депільовану ділянку шкіри тварин розміром 3х3 см² щодня [1, 5], протягом 10 днів, наносили по п'ять крапель скипидару, який потім ретельно втирали у шкіру за допомогою скляної палички. На 10-й день експерименту стан шкірного покриву щурів оцінювали в балах за ступенем розвитку дерматиту:

0 балів – видимих ушкоджень не спостерігалось;

1 бал – слабовиражена гіперемія з дрібнолушковим пошархненням;

2 бали – помірно виражена гіперемія, лущення, крапкоподібні крововиливи;

3 бали – виражена гіперемія, виразки шкіри.

Для оцінки вираження запалення шкіри у тварин досліджували товщину шкірної складки в міліметрах, яку вимірювали за допомогою штангенциркуля. Всі показники визначали:

– до початку експерименту (вихідні дані);

– на 10-й день нанесення скипидару (останній день моделювання патології).

Лікування шкіри починали відразу після моделювання експерименту протягом п'яти днів. Інтенсивність ураження шкіри скипидаром оцінювали в балах при найвищому ступені патології (10-й день експерименту) і в останній день місцевого лікування (15-й день експерименту).

Протизапальну активність мазі із сухим екстрактом солодки і гелю "Пантестин"-Дарниця визначали за формулою:

$$A = 100 \% - I_d \cdot 100/I_k,$$

де A – протизапальна активність;

I_d – інтенсивність ураження покриву шкіри в дослідній групі;

I_k – інтенсивність ураження покриву шкіри в контрольній групі.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерію Стьюдента з вірогідністю ($p < 0,05$) [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень протизапальної активності мазі із сухим екстрактом солодки на моделі скипидарного дерматиту наведено в таблиці.

Таблиця – Протизапальна активність мазі "Глітацид" на моделі скипидарного дерматиту в щурів ($M \pm m$)

Показник	Термін досліджу	Тварини з дерматитом		
		неліковані	ліковані маззю "Глітацид"	ліковані маззю "Пантестин"-Дарниця
Інтенсивність ураження, бали	10-й день експерименту (закінчено моделювання дерматиту)	2,80±0,1	2,60±0,2	2,80±0,1
	7-й день лікування	1,20±0,1	0,50±0,1	0,90±0,2
Вихідні дані				
Товщина шкірної складки, мм	10-й день експерименту (закінчено моделювання дерматиту)	1,40±0,01*	1,20±0,1	1,28±0,2
	7-й день лікування	3,26±0,1	3,10±0,1	3,00±0,06
Протизапальна активність, %	7-й день лікування	–	58,2	33,4

Примітка. * – $p < 0,05$ – вірогідно щодо вихідних даних.

Отримані результати свідчать про те, що мазь із сухим екстрактом солодки має виражені протизапальні властивості, що проявляються вірогідним зменшенням таких досліджуваних показників, як: товщина шкірної складки, інтенсивність ушкодження шкірних покривів, ШОЕ, кількість лейкоцитів. Так, у групі тварин, яких лікували маззю із сухим екстрактом солодки, показники товщини шкірної складки були нижчими в 1,9 раза, а в групі щурів, яких лікували референт-препаратом, – в 1,5 раза порівняно з 10-м днем моделювання патології. Інтенсивність ушкодження шкірних покривів зменшилася при лікуванні маззю із сухим екстрактом солодки в 5,2 раза, при лікуванні маззю "Пантестин"-Дарниця – в 3,1 раза. Лікування маззю приводило також до нормалізації гематологічних показників: при лікуванні тварин маззю із сухим екстрактом солодки кількість лейкоцитів знизилася в 1,5 раза, а при лікуванні маззю "Пантестин"-Дарниця – в 1,3 раза відповідно. Швидкість осідання еритроцитів при лікуванні маззю із сухим екстрактом солодки зменшилася в 1,8 раза, при лікуванні маззю "Пантестин"-Дарниця – в 1,5 раза порівняно з 10-м днем експерименту.

Протизапальна активність мазі із сухим екстрактом солодки на цій моделі становила 58,3 %, а мазі "Пантестин"-Дарниця – 33,3 %, тобто була в 1,8 раза меншою.

Таким чином, на основі проведеного доклінічного дослідження на моделі скипидарного дерматиту в щурів можна стверджувати, що мазь із сухим екстрактом солодки має виражену протизапальну активність. Цей ефект може бути зумовлений синергічною дією фармакологічно активної речовини нітазолу, який входить до складу мазі із сухим екстрактом солодки, та власною протизапальною активністю мазевої основи.

ВИСНОВКИ. 1. На моделі скипидарного дерматиту в щурів мазь із сухим екстрактом солодки проявляє виражену протизапальну дію.

2. На даній моделі протизапальна дія мазі із сухим екстрактом солодки перевищує дію гелю "Пантестин"-Дарниця.

3. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення нової комбінованої мазі із сухим екстрактом солодки з метою використання її в терапії гнійно-запальних процесів шкіри.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вивчення протизапальної активності мазі з амікацином на моделі скипидарного дерматиту у щурів / С. М. Дроговоз, О. В. Доровський, Я. О. Бутко, А. В. Гаркавчук // Ліки. – 2006. – № 3–4. – С. 43–45.
2. Звягинцева Т. В. Межклеточные взаимодействия заживления ран. Перспективы фармакологической коррекции раневого процесса / Т. В. Звягинцева // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – № 4. – С. 25–31.
3. Коньков Д. Г. Дослідження репаративної активності вінборової мазі за показниками тензіометрії в експерименті / Д. Г. Коньков // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 4. – С. 93–95.
4. Крыжановская Г. Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патогенетических процессов / Г. Н. Крыжановская // Архив патологии. – 2001. – № 6. – С. 31–49.
5. Пасичный Д. А. Метод измерения площади и оценки эффективности лечения ран / Д. А. Пасичный // Междунар. мед. журн. – 2001. – 7, № 3. – С. 117–120.
6. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – 133 с.
7. Хохленкова Н. В. Дослідження біодоступності мазей на основі фенольного гідрофобного препарату прополісу / Н. В. Хохленкова, О. І. Тихонов, Т. Г. Ярних // Вісн. фармації. – 2006. – № 2 (46). – С. 19–23.
8. Antimicrobial profilaxis in permatology / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // Cytotherapy. – 2006. – 8, № 4. – P. 315–317.
9. Atopic eczema: What's new? / M. Mohrenschlager, U. Darsou, C. Schnopp, I. King // I. Eur. Acad. Dermatol. Veneriol. – 2006. – 20 (5). – P. 503–513.
10. Kenney W. L. Decreased cutaneous vasodilatation in aged skin Mechanisms, consequents and interventions / W. L. Kenney // Thermal biology. – 2007. – 26, № 4–5. – P. 263–271.
11. Kolaczowska E. Cyclooxygenases / Role in inflammation / E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – 10, № 29. – P. 533–554.
12. Wang I. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective / I. Wang // Nat. Rev. Molecular Cell Biology. – 2002. – 3, № 6. – P. 430–440.

А.В. Березняков, С.Б. Попов

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МАЗИ “ГЛИТАЦИД” НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СКИПИДАРНОГО ДЕРМАТИТА У КРЫС

Резюме

Исследована противовоспалительная активность новой комбинированной мази с сухим экстрактом солодки на модели скипидарного дерматита у крыс. Установлено, что мазь с сухим экстрактом солодки обладает выраженным противовоспалительным действием (58,3 %) в отличие от референт-препарата – геля “Пантестин”-Дарница (33,3 %). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения новой комбинированной мази в терапии гнойно-воспалительных процессов кожи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сухой экстракт солодки, скипидарный дерматит, противовоспалительный эффект.**

A.V. Berezniakov, S.B. Popov

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

EFFICIENCY OF OINTMENT “HLITACID” ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF TURPINTINE-INDUCED DERMATITIS IN RATS

Summary

The anti-inflammatory effect of new complex ointment with licorice root extract in turpentine-induced dermatitis in rats was studied. It was determined, that ointment with licorice root extract manifests anti-inflammatory effect (58,3 %) in contrast to the drug of reference – “Pantestin” gel – 33,3 %. The results of experiment prove the perspective usage of new complex ointment for treatment of pyoinflammatory process.

KEY WORDS: **licorice root extract, turpentine-induced dermatitis, anti-inflammatory effect.**

Отримано 21.12.10

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

**СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ГОМОГЕНАТІ
ТКАНИН ПРИВУШНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ГОСТРОМУ СІАЛАДЕНІТІ**

На експериментальній моделі гострого сіаладеніту показано, що запальний процес, що розвивається у великій привушній залозі, викликає зростання активності ферментів антиоксидантної системи та кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів. Протизапальні властивості мексидолу при сіаладеніті реалізуються за рахунок підвищення активності супероксиддисмутази, каталази, дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий сіаладеніт, антиоксидантна система, ферменти, мексидол.

ВСТУП. Зміна активності ПОЛ проявляється практично при всіх реакціях організму на найрізноманітніші екстремальні впливи і стани: гіподинамією, гіпоксією, гіпер- і гіпотермією, впливом іонізуючої радіації, запальними захворюваннями. Вивчення процесів ПОЛ та ферментної ланки антиоксидантної системи (АОС) дозволяє судити про ступінь тяжкості патологічного процесу, а також ефективність проведеного лікування [2, 4, 5].

У зв'язку з цим, метою роботи було вивчення показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи щурів у гомогенаті тканини правої привушної залози при гострому сіаладеніті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти поставлено на 30 нелінійних білих щурах обох статей масою 220,0–240,0 г, поділених на три групи: 1-ша – інтактний контроль; 2-га – гострий сіаладеніт без лікування; 3-тя – хворі тварини, яким один раз на день внутрішньошлунково вводили мексидол у дозі 100 мг/кг (3). Показники ПОЛ та АОС реєстрували на піку запального процесу (через 3 год після введення 0,1 мл 1 % розчину карагеніну в праву привушну залозу) і через 10 днів після закінчення експерименту. Гострий сіаладеніт викли-

кали за удосконаленою нами методикою, яка описана [1, 7].

Усі больові маніпуляції виконували під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг, внутрішньочеревно). Експерименти проведено в ЦНДЛ НФаУ, сертифікованій ДФЦ МОЗ України (свідоцтво № 34 від 29.12.2005 р., завідувач – д-р фармац. наук, проф. Л.В. Яковлева).

Результати експериментів обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При визначенні показників ПОЛ та АОС у гомогенаті тканин правої привушної залози за умов гострого сіаладеніту було встановлено, що запальний процес (табл.) у великій привушній залозі, викликаний введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну, призводив до підвищення активності ПОЛ і АОС порівняно з інтактним контролем.

Введення щурам всередину мексидолу по 100 мг/кг [3] щодня призводило до підвищення активності ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази – на 32 %, каталази – на 35 % порівняно з групою гострого сіаладеніту без лікування) і зниження кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів – на 41 %, малонового діальдегіду – на 55 % відповідно).

Таблиця – Показники ПОЛ та АОС у гомогенаті тканин привушної залози щурів при гострому сіаладеніті (M±m)

Показник	Експериментальна група		
	інтактний контроль	гострий сіаладеніт без лікування	гострий сіаладеніт+мексидол
Дієнові кон'югати, ум. од.	0,19±0,01	0,26±0,01*	0,19±0,01**
МДА, мкмоль/г тканини	19,38±5,43	26,46±5,48*	21,48±3,92**
СОД, од. акт./мг білка	1,93±0,17	1,05±0,13*	1,53±0,14**
Каталаза, од. акт./мг білка	0,34±0,02	0,26±0,01*	0,34±0,84**

Примітка. * – p<0,05 відносно інтактного контролю; ** – p<0,05 відносно сіаладеніту без лікування; n=10.

© О.В. Волобуєва, 2011.

Результати проведеного експерименту узгоджуються з даними літератури про роль ферментів у патогенезі запальної реакції [4, 5, 8-10].

ВИСНОВКИ. 1. Гострий сіаладеніт без лікування викликає зростання активності фер-

ментів антиоксидантної системи та кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів.

2. Протизапальні властивості мексидолу при сіаладеніті реалізуються за рахунок підвищення активності супероксиддисмутази, каталази, дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко В. В. Зміни енергетичного метаболізму, вільнорадикального окислення ліпідів в слинних залозах при утворенні надлишкової кількості оксиду азоту з екзогенних та ендogenous попередників : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / В.В. Бондаренко. – К., 2001. – 16 с.

2. Губский Ю. И. Антиокислительная и антирадикальная активность антиоксидантов разных классов / Ю. И. Губский, Н. В. Литвинова, Э. В. Шнурко-Табаква // Клін. фармація. – 2007. – № 4. – С. 114–117.

3. Девяткина Т. А. Влияние мексидола на процессы гликолиза при остром стрессе / Т. А. Девяткина, Е. М. Важничая, Р. В. Луценко // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – 67, № 4. – С. 47–49.

4. Зв'ягнцєва Т. В. Вивчення перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові та тканині печінки у хворих на жовчнокам'яну хворобу / Т. В. Зв'ягнцєва, О. Ю. Бичкова // Клін. фармація. – 2000. – 4, № 3. – С. 25–27.

5. Зентов Н. К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н. К. Зен-

тов, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. – М. : Наука, 2001. – С. 340.

6. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – С. 133.

7. Щипский А. В. О патогенезе сиаденита и сиаденита по данным экспериментальных исследований / А. В. Щипский, В. В. Афанасьев, А. Б. Денисов // Пародонтология. – 2005. – № 3 (36). – С. 78–84.

8. Edmunds N. J. Does nitric oxide allow endothelial cells to sense hypoxia and mediate hypoxic vasodilatation / N. Edmunds, S. Moncada, J. M. Marschall // I. Physiol. – 2003. – 15, 564 (pt 2). – P. 521–527.

9. Effects of group II metal cations on catechol oxidation / A. V. Lebedev, M. V. Ivanova, A. A. Timoshin [et al.] // Chem. Phys. Chem. – 2007 – № 8 (12). – P. 1863-1869.

10. Mastaloudis A. Antioxidants did not prevent muscle in response to an ultramarathon run / A. Mastaloudis, M. G. Traber, K. Carstensen // Mod. Sci. Sports Exerc. – 2006. – 38, № 1. – P. 72–80.

О.В. Волобуева

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ГОМОГЕНАТЕ ТКАНЕЙ ОКОЛОУШНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОСТРОМ СИАЛАДЕНИТЕ

Резюме

На экспериментальной модели острого сиаденита показано, что воспалительный процесс, развивающийся в большой околоушной железе, вызывает возрастание активности ферментов антиоксидантной системы и количества продуктов перекисного окисления липидов. Противовоспалительные свойства мексидола при сиадените реализуются за счет повышения активности супероксиддисмутазы, каталазы, диєнових кон'югатів и малонового діальдегіда.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый сиаденит, антиоксидантная система, ферменты, мексидол.

O.V. Volobuyeva

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

STATUS OF LIPID PEROXIDATION TISSUE HOMOGENATE OF PAROTID GLAND IN ACUTE SIALADENITIS

Summary

In an experimental model of acute sialadenitis is shown that the inflammatory process that develops in the parotid gland causes large increase in the activity of antioxidant system and the amount of lipid peroxidation products. Anti-inflammatory properties mexidole with sialadenitis are realized by increasing the activity of superoxide dismutase, catalase, conjugated dienes and malondialdehyde.

KEY WORDS: acute sialadenitis, antioxidant system, enzymes, mexidol.

Отримано 16.12.10

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ ТРАВИ ПЕРСТАЧУ ГУСЯЧОГО (*POTENTILLA ANSERINA L.*)

Вивчено вміст полісахаридів у траві перстачу гусячого та встановлено мономерний склад водорозчинних полісахаридів (галактоза, арабіноза, рамноза) і пектинових речовин (арабіноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, сліди рамнози). У досліджуваній сировині визначено кількісний вміст водорозчинних полісахаридів, який становить 8,41 %, та пектинових речовин – 11,97 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перстач гусячий, трава, водорозчинні полісахариди, пектинові речовини.

ВСТУП. Полісахариди – складні вуглеводні, що містять моносахариди або близькі до них речовини. У фармацевтичній практиці полісахариди використовують як самостійні лікарські засоби та як допоміжні речовини при виготовленні ліків. Препарати полісахаридів мають пом'якшувальну, ранозагоювальну, противиразкову, обволікаючу, відхаркувальну, болезаспокійливу, послаблювальну, радіопротекторну та протизапальну дії [1, 3]. Екзогенні полісахариди при введенні в організм прискорюють репаративні процеси, впливають на ланки імунітету, гальмують ріст пухлин [5]. Пектини поліпшують травлення, пригнічують процеси гниття у кишечнику, знешкоджують отрути, які утворюються у кишечнику або потрапляють через стравохід, мають позитивний вплив на загоєння ран і опіків. Вони сприяють синтезу вітамінів мікрофлорою кишечника, прискорюють виведення надлишків холестерину з організму [4, 6].

У доступних джерелах літератури ми не знайшли даних щодо вивчення полісахаридів перстачу гусячого, тому метою наших досліджень було виявити, виділити і вивчити полісахариди трави досліджуваного виду перстачу.

Траву перстачу гусячого збирали на луках Тернопільської області (Бережанський район) у липні–серпні 2009 р.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Полісахариди екстрагували з очищеної сировини гарячою водою і виявляли за допомогою реакції осадження 96 % спиртом (з'являлися пластівчасті згустки, які випадали в осад) [7].

© О.Б. Амброзюк, С.М. Марчишин, 2011.

Кількісне визначення полісахаридів у досліджуваній сировині проводили гравіметричним методом.

30 г подрібненої трави перстачу гусячого поміщали у колбу зі шліфом місткістю 500 мл, додавали 350 мл гарячої води. Колбу приєднували до зворотного холодильника і кип'ятили на водяній бані протягом 30 хв, періодично помішуючи. Екстракцію проводили тричі. Екстракти охолоджували, проціджували і випарювали до об'єму, що дорівнює масі взятої сировини. Водорозчинні полісахариди з концентрованого екстракту осаджували 60 мл 96 % спирту. Осад відокремлювали, промивали невеликою кількістю 70 %, а потім 96 % спирту, висушували у сушильній шафі при температурі 50–55 °С і визначали вихід.

Із шроту, що залишився після вилучення водорозчинних полісахаридів, сумішшю 0,5 % розчинів оксалатної кислоти та амонію оксалату (1:1) у співвідношенні 1:20 при температурі 80–85 °С протягом 2 год виділяли пектинові речовини (екстрагування проводили двічі). Об'єднані екстракти осаджували двома об'ємами 96 % спирту, осад відокремлювали, промивали невеликою кількістю 96 % спирту, висушували у сушильній шафі при температурі 105 °С до постійної маси і зважували [2, 5].

Визначення мономерного складу водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин проводили після кислотного гідролізу 10 % сульфатною кислотою. Якісний мономерний склад полісахаридів встановлювали методом паперової хроматографії, використовуючи папір Filtrak FN № 4. Хроматографування проводили у системі розчинників н-бутанол–піри-

дин–вода (6:4:3). Використовували стандартні зразки моноцукрів (глюкози, галактози, манози, фруктози, ксилози, арабінози і рамнози), які виявляли, обробляючи хроматографи розчином анілін-фталату. Температура плавлення – 100 °С, тривалість проявлення – 10 хв. Моноцукри проявлялись у вигляді червоно-вато-коричневих плям.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень показали, що трава перстачу гусячого містить 8,41 % водорозчинних полісахаридів та 11,97 % пектинових речовин.

Водорозчинні полісахариди трави перстачу гусячого мають вигляд аморфного порошку темно-коричневого кольору, який розчиняється у воді та не розчиняється в органічних розчинниках. Пектинові речовини – це аморфний порошок світло-коричневого кольору, який у воді утворює в'язкий розчин.

Методом хроматографії на папері порівняли з достовірними зразками цукрів у гідролізатах водорозчинних полісахаридів трави перстачу гусячого ідентифіковано галактозу, арабінозу і рамнозу. В гідролізатах пектинових речовин досліджуваної трави виявлено галактозу, глюкозу, арабінозу, ксилозу та сліди рамнози (рис. 1).

ВИСНОВКИ. 1. З трави перстачу гусячого виділено полісахаридний комплекс, який розділено на водорозчинні полісахариди і пектинові речовини, кількісний вміст яких становить 8,41 і 11,97 % відповідно.

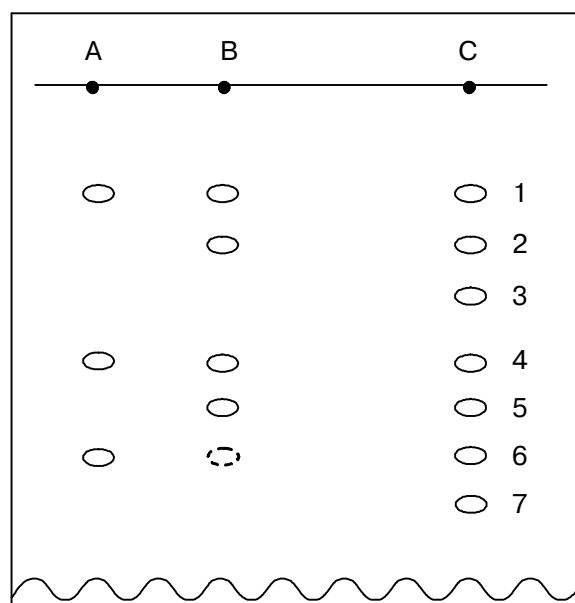


Рис. 1. Схема паперової хроматографії трави перстачу гусячого:

А – гідролізат полісахаридного комплексу; В – гідролізат пектинових речовин; С – вільні цукри: 1 – галактоза; 2 – глюкоза; 3 – фруктоза; 4 – арабіноза; 5 – ксилоза; 6 – рамноза; 7 – маноза.

2. Встановлено мономерний склад полісахаридного комплексу трави перстачу гусячого. До складу водорозчинних полісахаридів входять галактоза, арабіноза і рамноза. Мономерний склад пектинових речовин досліджуваної трави перстачу гусячого представлений арабінозою, галактозою, глюкозою, ксилозою; виявлено сліди рамнози.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Грицик А. Р. Виділення та вивчення полісахаридного комплексу рослин роду Тирлич / А. Р. Грицик // Фармац. журн. – 2005. – № 6. – С. 79–82.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Харків : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Калушка О. Б. Полісахаридний комплекс підземних і надземних органів пирію повзучого (*Agropyron repens* (L.)) / О. Б. Калушка, С. М. Марчишин // Фармац. журн. – 2009. – № 3. – С. 22–24.
4. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині : навч. посіб. / А. Я. Кобзар. – К. : Медицина, 2007. – 544 с.

5. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова; за ред. В. М. Ковальова. – Харків : Вид-во НФаУ : Прапор, 2000. – 703 с.

6. Лікування соками рослин : посібник-фітодовідник / Л. В. Бензель, П. В. Олійник, А. Р. Грицик, О. М. Долинська. – Івано-Франківськ : Видавництво ІФДМА, 2003. – 180 с.

7. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посібник з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Вид-во НФАУ : Золоті сторінки, 2001. – 408 с.

О.Б. Амброзюк, С.М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА ТРАВЫ ЛАПЧАТКИ ГУСИНОЙ (POTENTILLA ANSERINA L.)

Резюме

Изучено содержание полисахаридов в траве лапчатки гусиной и установлено мономерный состав водорастворимых полисахаридов (галактоза, арабиноза, рамноза) и пектиновых веществ (арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, следы рамнозы). В исследуемом сырье определено количественное содержание водорастворимых полисахаридов, который составляет 8,41 %, и пектиновых веществ – 11,97 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лапчатка гусиная, трава, водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества.

О.В. Ambroziuk, S.M. Marchyshyn

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH OF POLYSACCHARIDE COMPLEX GRASS OF SILVERWEED CINGUEFOIL (POTENTILLA ANSERINA L.)

Summary

Leaves content of polysaccharides in the herb Silverweed cinguefoil and set monomer composition of water-soluble polysaccharides (galactose, arabinose, ramnoza) and pectic substances (arabinose, galactose, glucose, xylose, ramnozy traces) have been studied. In the samples of raw material quantitative content of soluble polysaccharides has been determined, which is 8,41 %, and pectic substances – 11,97 %.

KEY WORDS: silverweed cinguefoil, grass, water-soluble polysaccharides, pectic.

Отримано 06.12.10

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

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН ІЗ ЗАПАЛЕННЯМ У ПАРОДОНТІ ЗА ЗМІНЕНОЇ РЕАКТИВНОСТІ

Зміни реактивності організму призводять до розвитку запалення в тканинах пародонта, розвивається синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчить динаміка маркерів ендогенної інтоксикації – середньомолекулярних пептидів (СМП) та сорбційної здатності еритроцитів (СЗЕ). На 7-му добу експерименту кількість СМП була найменшою в гіпоергічній групі, водночас СЗЕ зростала в обох групах спостереження і була більшою також в гіпоергічній групі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ендогенна інтоксикація, гіпо- і гіперергічний перебіг запальної реакції, тканини пародонта.

ВСТУП. Проблема патогенезу імунних порушень при розвитку запально-дистрофічних уражень пародонта за зміненої реактивності організму залишається актуальною і потребує подальшого вивчення [1].

Значний вплив на стан імунного гомеостазу за цих умов справляє розвиток синдрому ендогенної інтоксикації (ЕІ). Поняття “ендогенна інтоксикація” широко використовують як один з критеріїв оцінки стану організму за нагромадження кінцевих продуктів метаболізму білків, ліпідів та інших речовин, що має місце при гострій та хронічній патології, яка супроводжується посиленням катаболічних процесів [2]. Зважаючи на це, становило інтерес дослідити особливості змін показників ендогенної інтоксикації у тварин зі зміненою реактивністю, на основі якої розвинувся запальний процес у пародонті [1].

Характер імунної відповіді за розвитку патології певною мірою залежить від вираження ендогенної токсемії, вмісту в крові середньомолекулярних пептидів (СМП). Крім того, відомо, що СМП характеризуються мембрано-деструктивною дією [3]. Тому з'ясування особливостей перебігу синдрому ендогенної інтоксикації у тварин при розвитку запалення в пародонті за зміненої реактивності, можливо, дасть новий поступ в розумінні механізмів ураження пародонта, встановить залежність його від типу запальної реакції організму. Це й стало метою даної роботи.

© О.В. Авдєєв, А.Б. Бойків, 2011.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 50 білих різностатевих нелінійних щурах масою 180–200 г, яких поділили на три групи: 1-ша група – 20 білих щурів із гіпоергічною реакцією; 2-га група – 20 білих щурів із гіперергічною реакцією; контрольна група – 10 білих щурів, яким не вводили жоден препарат. Гіпоергічну реакцію моделювали шляхом внутрішньом'язового введення алкілуючого цитостатика циклофосфану протягом 7 днів щоденно з розрахунку 10 мг/кг маси тіла [5], гіперергічну реакцію – шляхом внутрішньом'язового введення імуностимулятора полісахаридної природи – пірогеналу протягом 7 днів щоденно з розрахунку на одну тварину 10 МПД на фізіологічному розчині [1].

Забій з дотриманням правил евтаназії і забір крові проводили через 1 добу і через 7 днів від початку експерименту. Ступінь вираження ендогенного токсичного синдрому оцінювали за вмістом у сироватці крові СМП, тяжкість ЕІ визначали за величиною сорбційної здатності еритроцитів (СЗЕ) згідно з рекомендаціями проф. М.А. Андрейчина і співавт. (1998) [4]. Кількісні показники обробляли методом варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці, вміст СМП (ланцюгові та ароматичні амінокислоти у середньомолекулярних пептидах і продукти їх розпаду) в сироватці крові щурів усіх груп спостереження зменшився. Так, через 1 добу від початку даного експерименту спостерігалось зниження вмісту СМП у гіпо-

ергічній групі спостереження з $(0,316 \pm 0,088)$ до $(0,255 \pm 0,012)$ ум. од., тобто на 19,3 %, через 7 діб зменшення сягало 35,1 % від показника контрольної групи і склало $(0,205 \pm 0,006)$ ум. од. Різниця вмісту СМП на 1 і 7 доби була статистично достовірною ($p < 0,002$).

В гіперергічній групі спостереження через 1 добу від початку експерименту вміст СМП зменшився на 13,6 % і становив $(0,273 \pm 0,056)$ ум. од., через 7 діб показник знизився на 19 % і дорівнював $(0,213 \pm 0,007)$ ум. од., що склало 67,4 % показника контрольної групи.

При порівнюванні вмісту СМП між групами спостереження в різні терміни спостереження відхилення показника було достовірним ($p < 0,01$) (рис. 1).

Окрім змін рівня СМП, про зміни EI свідчать також величини сорбційної здатності еритроцитів. Результати, наведені в таблиці та на рисунку 2, показали, що у всіх групах спостереження через 1 добу від початку експерименту

менту рівень СЗЕ підвищувався. У гіпоергічній групі показник СЗЕ становив $(13,44 \pm 0,12)$ % (% сорбції метиленового синього), тобто був на 7,2 % (в 1,07 раза) вищим, ніж в контрольній групі щурів; у гіперергічній групі показник зріс до $(12,89 \pm 0,62)$ %, тобто на 2,8 %.

Через 7 діб від початку експерименту в групах спостереження реєстрували суттєве збільшення СЗЕ від показника контрольної групи: в гіпоергічній групі зростання досягло $(17,39 \pm 1,55)$ %, тобто на 38,7 % (в 1,39 раза) ($p < 0,05$); в гіперергічній групі показник дорівнював $(15,43 \pm 0,91)$ %, тобто на 23,1 % (в 1,23 раза) ($p < 0,05$). Слід вказати, що від показників попереднього терміну спостереження в групах спостереження різниця була статистично достовірною ($p < 0,002$).

При порівнюванні величин СЗЕ між групами спостереження в різні терміни спостереження відхилення показника було достовірним ($p < 0,01$).

Таблиця – Динаміка вмісту СМП (ум. од.) та СЗЕ (%) в крові піддослідних груп тварин ($M \pm m$)

Показник	Інтактні тварини	Гіпоергічний тип		Гіперергічний тип	
		1 доба	7 діб	1 доба	7 діб
Кількість тварин	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
СМП, ум. од.	$0,316 \pm 0,088$	$0,255 \pm 0,012$	$0,205 \pm 0,006^{**}$	$0,273 \pm 0,056$	$0,213 \pm 0,007^{***}$
СЗЕ, %	$12,54 \pm 0,98$	$13,44 \pm 0,12^{**}$	$17,39 \pm 1,55^{*, ***}$	$12,89 \pm 0,62^{**}$	$15,43 \pm 0,91^{*, ***}$

Примітка. * – відхилення показника достовірне відносно інтактних тварин ($p < 0,05$); ** – відхилення показника достовірне в межах групи в різні терміни спостереження ($p < 0,002$); *** – відхилення показника достовірне між групами в різні терміни спостереження ($p < 0,01$).

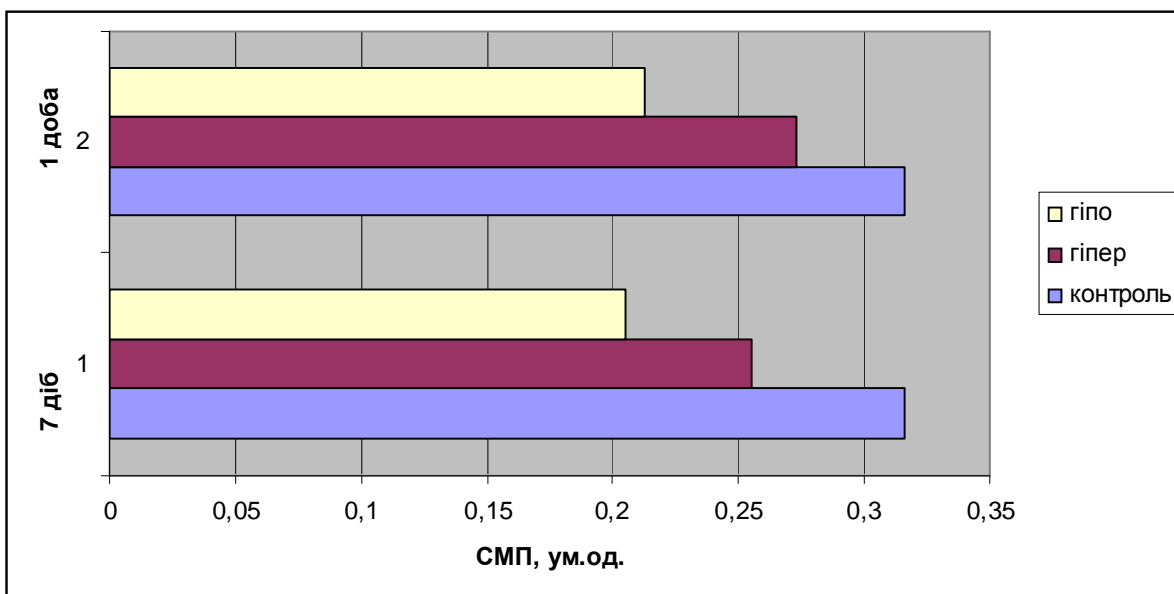


Рис. 1. Графічна характеристика змін рівня СМП у крові піддослідних груп тварин.

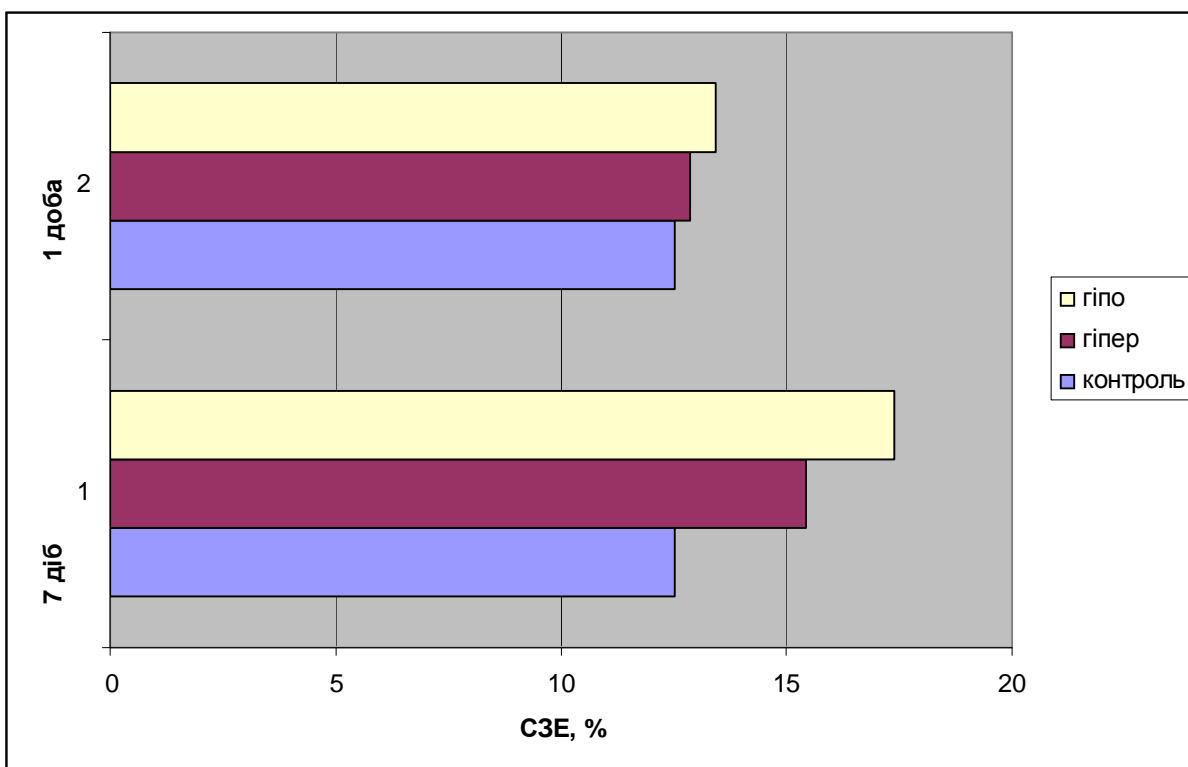


Рис. 2. Графічна характеристика змін рівня СЗЕ крові піддослідних груп тварин.

Отже, особливості змін СЗЕ та вмісту СМП у крові тварин з різною реактивністю, залежно від терміну, який минув від початку експерименту, були близькими між собою за спрямованістю в групах спостереження.

У даному напрямку перспективним буде дослідити зміни в імунній системі при розвитку запального процесу в пародонті за зміненої реактивності організму.

ВИСНОВКИ. 1. Через 1 і 7 днів після моделювання гіпо- і гіперреактивності вміст СМП (ланцюгові та ароматичні амінокислоти у середньомолекулярних пептидах і продукти їх розпаду) в гіпоергічній групі зменшився від аналогічного контрольного на 19,3 і 35,1 %; в гіперергічній групі показник знизився на 13,6 і 19 % відповідно.

2. Через 1 добу після моделювання гіпо- і гіперреактивності рівень СЗЕ зріс у гіпоергічній групі на 7,2 %, в гіперергічній групі цей показник був вищим за контрольну величину на 2,8 %. Через 7 днів від початку експерименту в гіпоергічній групі показник був більшим за контрольну величину на 38,7 % (в 1,39 раза) ($p < 0,05$), в гіперергічній групі – на 23,1 % (в 1,23 раза) ($p < 0,05$).

3. За розвитку запального процесу в пародонті на основі змін реактивності організму на 7 добу змінюються показники ендогенної інтоксикації. Зменшення вмісту середньомолекулярних пептидів у піддослідних групах тварин можна пояснити зменшенням метаболічних процесів в організмі в гіпоергічній групі та активацією елімінаційної функції печінки в гіперергічній. Достовірне зростання СЗЕ свідчить про наявність інтоксикації внаслідок запального процесу та розпаду білка.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдєєв О. В. Флогогенний вплив імунотропного препарату на тканини пародонта в експерименті / О. В. Авдєєв // Вісник наук. досліджень. – 2010. – № 3 (56). – С. 104–106.

2. Бакалюк О. Й. Синдром ендогенної інтоксикації, механізм виникнення, методи ідентифікації / О. Й. Бакалюк, Н. Я. Панчишин, С. В. Дзига // Вісник наук. досліджень. – 2000. – № 1. – С. 11–13.

3. Застосування вобензиму для корекції порушень перекисного окислення ліпідів і синдрому ендогенної інтоксикації при автоімунних ускладненнях гострого інфаркту міокарда / М. І. Швед, І. П. Тофан, Л. В. Радецька [та ін.] // Вісник наук. досліджень. – 2006. – № 4. – С. 107–110.

4. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: методичні рекомендації / Андрейчин М. А., Бех М. Д., Дем'яненко В. В. та ін. – К., 1998. – 31 с.

5. Реєстраційний номер заявки на корисну модель "Спосіб моделювання пародонтиту" у 2010 10071. Дата подачі 16.08.2010.

А.В. Авдеев, А.Б. Бойків

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЖИВОТНЫХ С ВОСПАЛЕНИЕМ В ПАРОДОНТЕ ПРИ ИЗМЕНЕННОЙ РЕАКТИВНОСТИ

Резюме

Изменения реактивности организма приводят к развитию воспаления в тканях пародонта, развивается синдром эндогенной интоксикации, о чём свидетельствует динамика маркеров эндогенной интоксикации – среднемолекулярных пептидов (СМП) и сорбционной возможности эритроцитов (СВЭ). На 7 сутки эксперимента количество СМП было наименьшим в гипоэргической группе, в то же время СВЭ увеличивалась в обеих группах наблюдения и была большей также в гипоэргической группе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эндогенная интоксикация, гипо- и гиперэргическое течение воспалительной реакции, ткани пародонта.

O.V. Avdieyev, A.B. Boykiv

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN ANIMALS WITH INFLAMMATION IN A PERIODONTITIS AT THE CHANGED REACTIVITY

Summary

The changes of reactivity of organism lead to development of inflammation in tissues of periodontitis, the syndrome of endogenous intoxication develops, and it affirms the dynamics of markers of endogenous intoxication – middle molecular peptides (MMP) and adsorption possibility of erythrocytes (APE). On the seventh day of experiment an amount of MMP was the smallest in a hypoergic group, at the same time APE grew in both groups of observations and was greater in the hypoergic group.

KEY WORDS: endogenous intoxication, hypoergic, hyperergic ran of inflammatory reaction, fabrics of periodontitis.

Отримано 22.11.10

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

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ