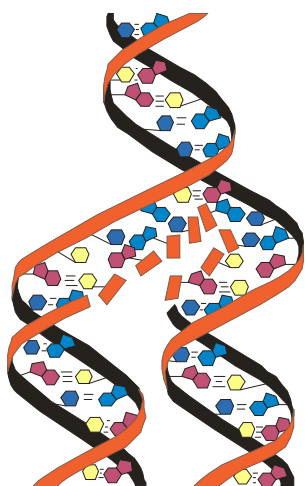


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

1(54) TOM 15
2013

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить 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 № 1-05/3 від 14.04.2010 р. журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних 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 МОЗ України" (протокол № 10 від 12 лютого 2013 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", 2013
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2013

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Герашченко І. І., Маркіна А. І., Горчев В. Ф.* (Київ)
ДОСЛІДЖЕННЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОЇ
СТРУКТУРИ ПРЕПАРАТУ "СКЛОПОДІБНЕ ТІЛО"
МЕТОДАМИ ІНФРАЧЕРВОНОЇ ТА ЛАЗЕРНОЇ
КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ 5
- Олещук О. М.* (Тернопіль) ВПЛИВ БЛОКАТОРА
СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ПЕЧІНКИ
ПРИ ВНУТРІШНЬОПЕЧІНКОВОМУ ХОЛЕСТАЗИ 10
- Гавриляк В. В., Сенцев Л. Ю., Шехович О. М.* (Львів)
СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЕРАТИНУ ВОЛОСА ЛЮДИНИ
ЗА НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЇ 16
- Мельник А. В., Заїчко Н. В., Волощук Н. І.* (Вінниця)
СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ
ГОМОЦИСТЕЇНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ 20
- Гембаровський М. В., Кліш І. М., Марущак М. І.*
(Тернопіль) ВПЛИВ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА
ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ
ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ
ПЕЧІНКИ ЩУРІВ 25
- Полякова В. В., Данченко Н. М., Весельський С. П.*
(Київ) ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ТАУРИНУ ТА ГЛІЦИНУ
НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ ЗА АЛОКСАНІНДУКОВАНОГО
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 30
- Криницька І. Я.* (Тернопіль) ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН
СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ
У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ГЕПАТОПУЛЬ-
МОНАЛЬНИМ СИНДРОМОМ 34
- Гоженко А. І., Гудима А. А., Борис Р. М.* (Одеса,
Тернопіль) ВІДХИЛЕННЯ ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИПЕРО-
ОКСИДНОЇ СИСТЕМИ В ДИНАМІЦІ ПЕРІОДУ
ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ 40
- Мерецький В. М., Корда М. М.* (Тернопіль)
ОСОБЛИВОСТІ ВУГЛЕВОДНОГО І БІЛКОВОГО
ОБМІНУ ЗА УМОВ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ
ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 45
- Вовк Т. Б., Кравченко Н. К., Остапченко Л. І.* (Київ)
ВПЛИВ Ig G СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА
СИСТЕМНИЙ ЧЕРВОНИЙ ВОВЧАК НА ПОТЕНЦІЙНУ
АКТИВНІСТЬ АНТИТРОМБІНУ III ТА ПЛАЗМІНОГЕНА 49
- Кліш І. М., Цимбалюк А. В.* (Тернопіль) СТАН ЕНДОГЕН-
НОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПОКАЗНИКІВ НЕСПЕЦИ-
ФІЧНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ПРИ
МІСЦЕВОМУ ВИКОРИСТАННІ ПОДРІБНЕНОГО
СУБСТРАТУ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМО-
ІМПЛАНТАТА ДЛЯ ЗАКРИТТЯ ІНФІКОВАНИХ
ОПІКОВИХ РАЙОНІВ III–IV СТУПЕНІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ 53
- Юрїїв К. Є., Бондаренко Ю. І.* (Тернопіль) РОЛЬ
СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ХОЛІНЕРГІЧНОЇ
РЕГУЛЯЦІЇ В МЕХАНІЗМАХ НЕКРОТИЧНОГО
ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ 59
- Савула М. М., Майовецька Н. С., Якимів І. С.,
Лопушанська О. І.* (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ
КОНЦЕНТРАЦІЇ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В ПЛАЗМІ
КРОВІ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ,
ЛІКОВАНИХ ПРЕПАРАТАМИ I І II РЯДІВ 63
- Ляхович Р. М.* (Тернопіль) ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ВНУТРІШ-
НЬОШЛУНКОВОЇ ОКСИГЕНАЦІЇ В ПОЄДНАННІ З
ТІОТРИАЗОЛІНОМ НА ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬ-
НОГО ІМУНІТЕТУ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ 68
- Степанець І. О., Кравченко Н. К., Остапченко Л. І.* (Київ)
ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОГЛО-
БУЛІНІВ КЛАСУ G ІЗ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ З
ХРОНІЧНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ 72

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Herashchenko I. I., Markina A. I., Horchev V. F.* (Kyiv)
STUDY OF MACROMOLECULAR STRUCTURE
OF VITREOUS HUMOR BY IR- AND LASER
CORRELATION SPECTROSCOPY METHODS 5
- Oleshchuk O. M.* (Ternopil) EFFECT OF NITRIC OXIDE
SYNTHESIS BLOCKER ON THE LIVER STATE
AT INTRAHEPATIC CHOLESTASIS 10
- Havrylyak V. V., Sentsev L. Yu., Shekhovych O. M.* (Lviv)
STRUCTURAL CHANGES OF HUMAN HAIR KERATINS
UNDER NORM AND PATHOLOGY 16
- Melnyk A. V., Zaichko N. V., Voloshchuk N. I.* (Vinnytsya)
SEX-RELATED DIFFERENCES OF HOMOCYSTEINE
METABOLISM IN RAT LIVER 20
- Hembarovskiy M. V., Klishch I. M., Marushchak M. I.*
(Ternopil) EFFECT OF FOOD DEPRIVATION ON LIPID
PEROXIDATION INDICES AND ANTIOXIDANT STATUS
IN RAT LIVER 25
- Poliakova V. V., Danchenko N. M., Veselskyi S. P.* (Kyiv)
FEATURES OF THE EFFECT OF TAURINE AND
GLYCINE IN THE BODY OF RATS WITH ALLOXAN-
INDUCED DIABETES MELLITUS 30
- Krynytska I. Ya.* (Ternopil) FUNCTIONAL ANTIOXIDANT
STATUS OF BLOOD DEFENSE IN RATS
WITH MODULATED HEPATOPULMONARY
SYNDROME 34
- Hozhenko A. I., Hudyma A. A., Borys R. M.* (Odessa, Ternopil)
DEVIATION OF GLUTATHIONE ANTIPEROXIDE SYSTEM
IN THE DYNAMICS OF AN ACUTE REACTION PERIOD
ON THE CRANIO-SKELETAL TRAUMA 40
- Meretskyi V. M., Korda M. M.* (Ternopil) PECULIARITIES
OF CARBOHYDRATE AND PROTEIN METABOLISM
IN THE CONDITIONS OF CRANIOCEREBRAL INJURY
AND EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS 45
- Vovk T. B., Kravchenko N. K., Ostapchenko L. I.* (Kyiv)
INVESTIGATION OF THE SYSTEMIC LUPUS ERYTHE-
MATOSUS SERUM Ig G EFFECT ON THE ACTIVATION
OF ANTITHROMBIN III AND PLASMINOGEN 49
- Klishch I. M., Tsybaliuk A. V.* (Ternopil) STATE
OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND INDICES
OF NON-SPECIFIC IMMUNE ORGANISM DEFENSE
AT LOCAL APPLICATION OF MORSELIZED
SUBSTRATE OF LIOPHILIZED XENOGRAFT
FOR CLOSING THE INFECTED BURN 53
- Yuriv K. Ye., Bondarenko Yu. I.* (Ternopil) ROLE OF NITRIC
OXIDE AND REGULATION IN CHOLINERGIC
MECHANISMS NECROTIC MYOCARDIAL INJURY
IN RATS OF DIFFERENT SEX 59
- Savula M. M., Mayovetska N. S., Yakymiv I. S.,
Lopushanska O. I.* (Ternopil) PECULIARITIES OF URIC ACID
CONCENTRATION IN BLOOD PLASMA IN PATIENTS
WITH LUNG TUBERCULOSIS TREATED WITH DRUGS
OF THE 1 AND 2 LINES 63
- Lyakhovych R. M.* (Ternopil) THE LONG-TERM
INTRAGASTRIC OXYGENATION COMBINED
WITH FIGURES ON THIOTRIASOLINE HUMORAL
IMMUNITY AND ENDOGENOUS INTOXICATION 68
- Stepanets I. O., Kravchenko N. K., Ostapchenko L. I.* (Kyiv)
PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF IMMUNO-
GLOBULINS OF G CLASS FROM THE BLOOD SERUM
OF RATS WITH CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION 72

Соколова Л. В. (Тернопіль) ЯКІСНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СУБЛІМОВАНОГО ПОРОШКУ АРОНІЇ	76	Sokolova L. V. (Ternopil) HIGH-QUALITY IDENTIFICATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF THE SUBLIMATED POWDER OF CHOKEBERRY
Бандрівський Ю. Л., Мрочко О. І., Бандрівська Н. Н. (Тернопіль, Львів) ВМІСТ ЦИТОКІНІВ ТА С-РЕАКТИВНОГО ПРОТЕЇНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРАЦІВНИКІВ СПИРТОВОГО ВИРОБНИЦТВА ІЗ ЗАПАЛЬНО-ДИСТРОФІЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ТКАНИН ПАРОДОНТА	81	Bandrivskiy Yu. L., Mrochko O. I., Bandrivska N. N. (Ternopil, Lviv) CYTOKINES AND C-REACTIVE PROTEIN CONTENTS IN BLOOD SERUM IN ALCOHOL PRODUCTION WORKERS WITH PARODONTIUM TISSUE DEGENERATIVE INFLAMMATORY DISEASE
Придруга С. М. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ	85	Prydruha S. M. (Ternopil) PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT DEFENSE AT THE PATHOGENESIS OF TRAUMATIC DISEASE MANIFESTATION AND THEIR CORRECTION
Колодницька Г. Б., Коропчук В. М., Корда М. М. (Тернопіль) ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ІНГІБУВАННЯ ІNOS ПРИ ЗАПАЛЕННІ ТКАНИН ПАРОДОНТА НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ	90	Kolodnytska H. B., Koropchuk V. M., Korda M. M. (Ternopil) PATHOGENETIC GROUNDING OF INOS INHIBITION EXPEDIENCY IN THE INFLAMMATION OF PARODONTAL TISSUES ON THE BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS
Децик О. І., Склярів О. Я. (Львів) МОДУЛЮВАННЯ АКТИВНОСТІ NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ У ШЛУНКУ ЗА УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ	95	Detsyk O. I., Sklyarov O. Ya. (Lvov) MODULATION OF NO-ERGIC SYSTEM ACTIVITY IN STOMACH UNDER THE CONDITIONS OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED HYPERGLYCAEMIA
Левків М. О., Шульгай А. Г. (Тернопіль) МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН ВНУТРІШНЬО-ЧАСТОЧКОВИХ ПРОТОК ТА АРТЕРІЙ ПРИВУШНОЇ СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ МЕХАНІЧНІЙ ЖОВТЯНИЦІ	100	Levkiv M. O., Shulhay A. H. (Ternopil) MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF STRUCTURAL CHANGES OF INTRA-LOBULAR DUCTS AND ARTERIES OF PAROTID GLAND AT OBSTRUCTIVE JAUNDICE
Ярема О. М. (Тернопіль) ЗМІНА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УРАЖЕННІ ОРГАНІЗМУ АЛЮМІНІЮ ХЛОРИДОМ	106	Yarema O. M. (Ternopil) MODIFICATION IN THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE SMALL INTESTINE AT EXPERIMENTAL LESION WITH ALUMINUM CHLORIDE
Мельник О. В., Корнійчук О. П., Воробець З. Д. (Львів) АКТИВНІСТЬ АРГІНАЗИ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ХВОРИХ НА РЕАКТИВНИЙ АРТРИТ	111	Melnyk O. V., Korniychuk O. P., Vorobets Z. D. (Lviv) ARGINASE ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH REACTIVE ARTHRITIS
Матолінець Т. М., Матолінець О. М. (Львів) КОРЕКЦІЯ ЗМІН СТАНУ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ТВАРИН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ	116	Matolinets T. M., Matolinets O. M. (Lviv) CORRECTION OF THE CHANGES IN THE STATE OF PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF ANIMALS WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS
Дзецюх Т. І. (Тернопіль) ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З ГОСТРИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ	120	Dzetsiukh T. I. (Ternopil) THE INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH AN ACUTE PARODONTITIS AGAINST THE BACKGROUND OF MERCAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM
Кліщ І. М., Хорощ В. Я. (Тернопіль) ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН ПРИ ХРОНІЧНОМУ ПРОСТАТИТІ Й ДОБРОЯКІСНИЙ ГІПЕРПЛАЗІЇ НА ФОНІ ОДНОЧАСНОГО ВПЛИВУ ТОКСИЧНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ	125	Klishch I. M., Khorosh V. Ya. (Ternopil) INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND HUMORAL IMMUNITY IN ANIMALS AT CHRONIC PROSTATITIS AND BENIGN HYPERPLASIA ON THE BACKGROUND OF SIMULTANEOUS INFLUENCE OF TOXIC XENODERMAL EXTRACT
Креховська-Лепявко О. М., Гудима А. А., Городецький В. Є. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ АМІНОКИСЛОТ L-ОРНІТИНУ ТА L-АРГІНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ	130	Krehovska-Lepyavko O. M., Hudyma A. A., Horodetskyi V. Ye. (Ternopil) THE PECULIARITIES OF AMINO ACIDS L-ORNITHINE AND L-ARGININE INFLUENCE ON RENAL FUNCTION IN RATS WITH AN ACUTE TOXIC HEPATITIS
Середницька К. Р., Конопельнюк В. В., Савчук О. М. (Київ) ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ СЕРОТОНІНУ В МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ	135	Serednytska K. R., Konopelniuk V. V., Savchuk O. M. (Kyiv) PECULIARITIES OF SEROTONIN SYNTHESIS IN THE BRAIN OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE 2 DIABETES MELLITUS
Корнійчук І. Ю. (Чернівці) ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОЗ ПЕЧІНКИ ТА СТЕАТОГЕПАТИТ У ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ АТОКСІЛОМ	140	Korniychuk I. Yu. (Chernivtsi) FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC LIVER STEATOSIS AND STEATOHEPATITIS IN THE DYNAMICS OF TREATMENT WITH ATOXIL
ОГЛЯД		REVIEW
Гнатів В. В., Демчак Х. С., Бабуленко О. М. (Тернопіль, Київ) АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ В ПАТОГЕНЕЗІ АНГІОПАТІЇ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 2-ГО ТИПУ	145	Hnativ V. V., Demchak Kh. S., Babulenko O. M. (Ternopil, Kyiv) REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE PATHOGENESIS OF ANGIOPATHY AT DIABETES MELLITUS OF TYPE 2

I. I. Геращенко, А. І. Маркіна, В. Ф. Горчев
ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМЕНІ О. О. ЧУЙКА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМЕНІ О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

ДОСЛІДЖЕННЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОЇ СТРУКТУРИ ПРЕПАРАТУ “СКЛОПОДІБНЕ ТІЛО” МЕТОДАМИ ІНФРАЧЕРВОНОЇ ТА ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

За даними хімічного та ІЧ-спектроскопічного методів аналізу, основними органічними компонентами склоподібного тіла є гіалуронан та колаген, загальний вміст яких складає близько 0,15 мас.%. На ЛКС-гістограмах склоподібного тіла спостерігається декілька фракцій розміром 30–900 нм і понад 10 мкм, які належать до набряклих ланцюгів гіалуронану і волокон колагену відповідно. Здатність гіалуронану структурувати воду є головним чинником стабільності біогідрогелю склоподібного тіла.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: склоподібне тіло, біогідрогель, гіалуронан (гіалуронова кислота), колаген, ІЧ-спектр, лазерна кореляційна спектроскопія.

ВСТУП. Одним з найбільш відомих і доступних на українському ринку препаратів з групи біогенних стимуляторів є “Склоподібне тіло”. Згідно з анотацією, препарат прискорює процеси регенерації, чинить неспецифічну стимулювальну, розм’якшувальну та розсмоктувальну дії. Для розуміння механізму дії склоподібного тіла, який досі вивчено недостатньо, необхідно поглиблене дослідження його молекулярної структури і біохімії.

Склоподібне тіло є біологічним гідрогелем, основна маса якого припадає на воду – 99 % і солі – 0,9 % [2, 11]. Решту 0,1 % ділять між собою білкова і полісахаридна складові, які представлені фібрилами високогідратованого колагену (II, V/XI та IX типів) і зарядженими ланцюгами гіалуронової кислоти відповідно.

Гіалуронову кислоту вперше виділили в 1934 р. К. Мейер і Дж. Палмер із склоподібного тіла великої рогатої худоби [8]. У 1986 р. Ендрю Балаш для позначення різних форм гіалуронової кислоти, присутніх в організмі, наприклад її солей, запропонував термін “гіалуронан”, який відповідає Міжнародній номенклатурі полісахаридів. Гіалуронан є полімером, що складається з дисахаридних ланок D-глюкуронової кислоти і D-N-ацетилглюкозаміну, © I. I. Геращенко, А. І. Маркіна, В. Ф. Горчев, 2013.

з’єднаних між собою β -1,4- та β -1,3-глікозидними зв’язками. Вторинна структура гіалуронану – лінійна, лівозакручена потрійна спіраль із середньою довжиною дисахариду близько 1 нм. У склоподібному тілі гіалуронан присутній у вигляді натрієвої солі з молекулярною масою близько $4 \cdot 10^6$ Да [4, 6, 12].

Колагенові фібрили склоподібного тіла на 75 % складаються з колагену II типу з діаметром волокон від 7 до 28 нм [12]. Згідно з даними [2, 8, 12], склоподібне тіло повністю розріджується під дією колагенази і лише згущується (зморщується) під впливом гіалуронідази. З огляду на це, можна припустити, що сітка колагенових фібрил відповідає за механічні властивості склоподібного тіла, тоді як гіалуронан відіграє пасивну роль, заповнюючи простір між фібрилами і перешкоджаючи їх агрегації (рис. 1). Досі немає узгодженої точки зору про характер зв’язку між цими полімерами. Компер і Лоран запропонували електростатичний механізм взаємодії між негативно зарядженими гіалуронаном і позитивно зарядженими ділянками колагену. Згідно з іншою версією, взаємодія між гіалуронаном і колагеном відбувається з участю молекул мінорних білків та глікозаміногліканів склоподібного тіла [5, 12]. Понад 90 % гіалуронової кислоти легко

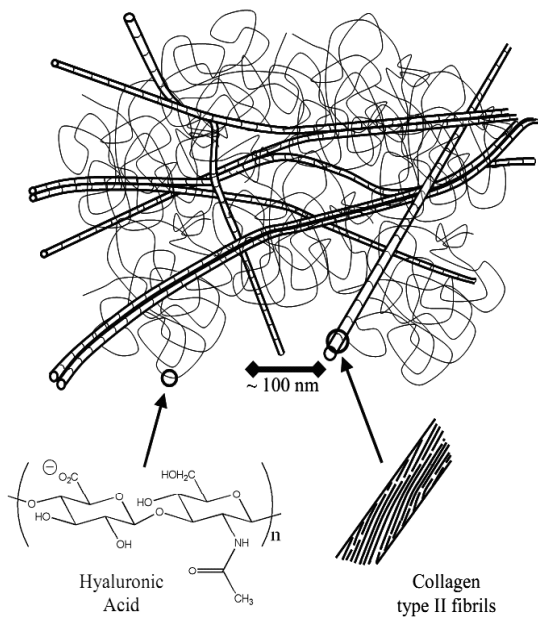


Рис. 1. Структура матриці склоподібного тіла згідно з [9].

відділяється від колагену при центрифугуванні, що вказує на відсутність між ними ковалентних зв'язків.

Основними функціями склоподібного тіла є заломлення світла, що потрапляє на сітківку, та забезпечення тургору тканин [11]. Крім цього, біогідрогель може слугувати селективним дифузійним бар'єром, який контролює обмін молекул між різними відділами ока: в експерименті виявлено здатність склоподібного тіла затримувати одні й вільно пропускати інші молекули барвників малих розмірів [7].

Метою даної роботи було одержати додаткові знання про макромолекулярну структуру склоподібного тіла за допомогою методів інфрачервоної (ІЧ) та лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС). Розуміння принципів взаємовідношення між основними компонентами склоподібного тіла може бути в нагоді під час пошуку нових сфер застосування цього препарату. Повідомляється, наприклад, про розробку синтетичних гідрогелів оптимальних складу і структури для використання в терапії захворювань міжхребцевих дисків [13]. Схожість складу і властивостей гідрогелів організму дає можливість використовувати їх як експериментальні моделі один одного. Ми, зокрема, пропонуємо склоподібне тіло як модель мукозного гідрогелю, що покриває епітелій гастроінтестинального тракту, для дослідження механізмів взаємодії з ним нанорозмірних ентросорбентів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували препарат "Склоподібне тіло" в ампулах по 2 мл

виробництва ЗАТ "Біофарма" (м. Київ), здобутий з очей великої рогатої худоби.

Вміст у препараті гіалуронану визначали карбазольним методом за Діше, колагену – фармакопейним методом Бенедикта, води і солей – за сухим залишком після висушування при 105 °С; рН склоподібного тіла вимірювали за допомогою універсального іономера ЭВ-74.

ІЧ-спектр сухого залишку препарату одержували на спектрофотометрі Specord M80 (Carl Zeiss, Jena, Germany) методом дисків з KBr у режимі пропускання в діапазоні частот 300–4000 см⁻¹.

Розмірні характеристики молекулярних агрегатів склоподібного тіла вивчали методом ЛКС. Даний метод дозволяє отримати інформацію про всі динамічні процеси в дисперсних системах, у тому числі про розподіл нанорозмірних частинок за їх рухливістю, що безпосередньо пов'язано з їх розмірами. Незабаром після запровадження методу ЛКС (синоніми – Photon Correlation Spectroscopy, PCS; Dynamic Light Scattering, DLS) у 1964 р. [10] його почали застосовувати для вивчення біооб'єктів. Спробу дослідження склоподібного тіла методом ЛКС з експериментальною і діагностичною метою описано в роботі [12].

Метод оснований на аналізі часової автокореляційної функції інтенсивності розсіяного випромінення. Частинки в рідкому середовищі, завдяки броуновському руху, викликають флуктуації інтенсивності розсіяного світла, причому рухливіші частинки характеризуються коротшим часом флуктуації. Вимірюючи інтенсивність сигналів флуктуації, цифровий корелятор обчислює автокореляційну функцію, яка для випромінення, розсіяного на частинках однакового розміру, експоненціально затухає з часом. За швидкістю затухання визначають коефіцієнт самодифузії частинок:

$$D = \Gamma/q^2, \quad (1)$$

де Γ – константа затухання; q – вектор розсіяного світла.

Потім за формулою Стокса–Ейнштейна обчислюють гідродинамічний радіус частинок:

$$R = \frac{kT}{6\pi\eta D}, \quad (2)$$

де k – константа Больцмана; T – температура, К; η – в'язкість середовища; D – коефіцієнт дифузії. Як видно з формули (2), рухливіші частинки з більшим коефіцієнтом дифузії мають менший гідродинамічний радіус. Якщо середовище містить частинки різного розміру, то за допомогою математичних алгоритмів можна розрахувати гістограму розподілу час-

тинок за розміром, що є кінцевим представленням результатів вимірювань.

Вимірювання виконували на приладі Zeta-sizer-3 (Malvern Instruments, UK), оснащеному гелій-неоновим лазером, при довжині хвилі 633 нм. Досліджували два зразки склоподібного тіла: вихідний гідрогель і після розведення водою 1:1. Вимірювання проводили в трьох повтореннях через кожні 10 хв. Результати розраховували у вигляді моно- і полімодального наблизень за допомогою програми "Contin". Мономодальне наблизення дозволяє отримати середній розмір всіх присутніх у препараті частинок, тоді як полімодальне показує середній розмір і кількість частинок кожного типу (фракцій) в полідисперсній суспензії.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати визначення основних компонентів склоподібного тіла (табл.) узгоджуються з літературними даними [2]. Сухий залишок, який становить 1,15 мас.%, складається переважно з мінеральних солей (хлоридів), що забезпечують загальний електролітний баланс і осмотичний тиск у склоподібному тілі. Лужна реакція, рН 8,9, підтверджує, що гіалуронан в склоподібному тілі присутній у вигляді натрієвої солі.

Таблиця – **Результати аналізу препарату "Склоподібне тіло"**

Компонент	Вміст, мас.%
Вода	~99
Сухий залишок	1,15
Колаген	0,11
іалуронан	0,05–0,08
рН	8,9

ІЧ-спектр (рис. 2) склоподібного тіла містить такі характеристичні смуги: 3600–3100 cm^{-1} належить до коливань O–H у молекулах води і карбоксильних групах, з'єднаних водневими зв'язками, й аміногруп у полісахаридах; 1650 cm^{-1} відповідає групі амід I (C=O амідної

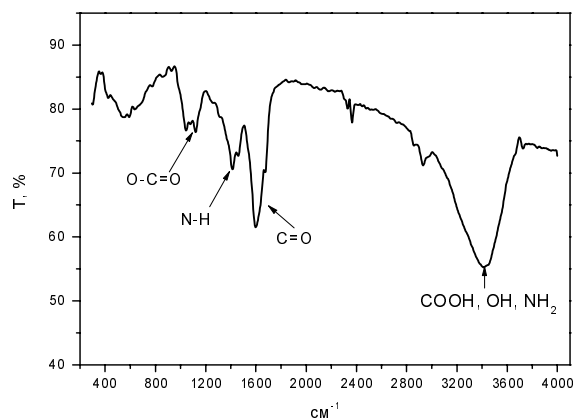


Рис. 2. ІЧ-спектр препарату "Склоподібне тіло".

групи); смуги поблизу 1590–1510 cm^{-1} характерні для антисиметричних коливань карбоксильних груп і N–H-зв'язку; поглинання в ділянці 1125–1040 cm^{-1} відносять до коливань піранозного циклу; 1030 cm^{-1} відповідає коливанням ефірного зв'язку. Даний спектр свідчить про те, що основними органічними компонентами склоподібного тіла є гіалуронан і колаген [13].

У ході випробувань методом ЛКС встановлено, що гідрогель склоподібного тіла є стабільним і однорідним, містить декілька фракцій (рис. 3). Перша фракція – це малі частинки розміром близько 30 нм, чисельно вони переважають, хоча масова частка складає всього 4,5 %. Друга фракція містить частинки близько 900 нм, їх число менше 0,1 %, а масова частка становить 7,5 %. Частинки першої і другої фракцій, очевидно, є молекулами гіалуронану. В препараті наявні також великі агрегати розміром близько 10 мкм – волокна колагену, число яких менше 0,1 %, а масова частка складає 88 %. Таке відображення на ЛКС-гістограмах можна пояснити тим, що склоподібне тіло за властивостями подібне до колоїдного розчину: отже, великі жорсткі фібрили колагену в такому

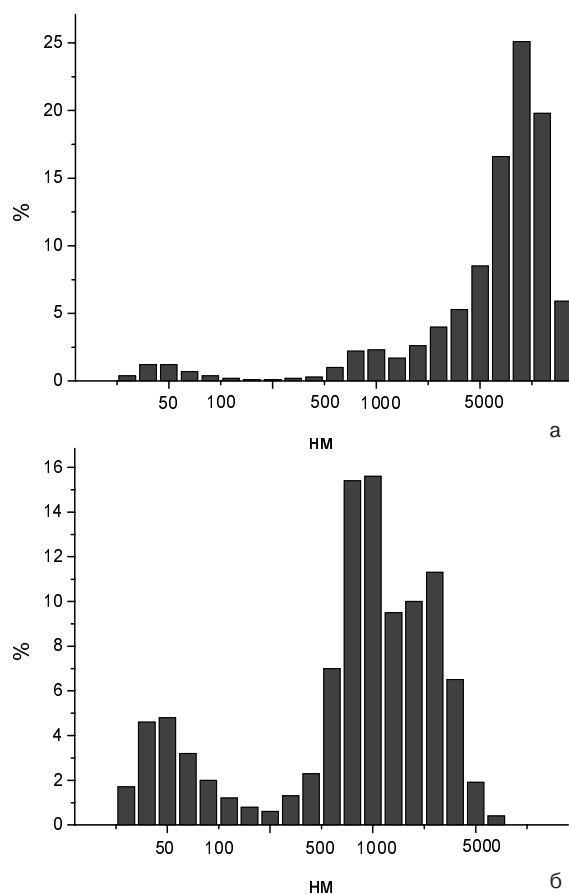


Рис. 3. Розподіл компонентів склоподібного тіла за розмірами: а – вихідний зразок; б – після розведення водою 1:1.

розчині рухаються повільніше і мають менший коефіцієнт дифузії, ніж гнучкіші молекули гіалуронану [12]. При розведенні склоподібного тіла водою (рис. 3) спостерігається збільшення маси малих і середніх частинок, відповідно до 17 і 47 %, за рахунок зменшення маси великих частинок, розміри частинок при цьому трохи зменшуються. Раніше методом ^1H ЯМР-спектроскопії ми показали [1], що в гідрогелі склоподібного тіла практично вся вода зв'язана з полімерною матрицею, тоді як на частку вільної води припадає лише близько 1 %. Отже, збільшення маси малих і середніх частинок можна пояснити здатністю гіалуронану структурувати воду. Саме ця властивість гіалуронану вважається головним чинником стабільності біогідрогелю.

ВИСНОВКИ. Основними органічними компонентами склоподібного тіла є гіалуронан та колаген, загальний вміст яких складає близько 0,15 мас.%. На ЛКС-гістограмах склоподібного тіла відзначають декілька фракцій розміром 30–900 нм і понад 10 мкм, які належать, відповідно, до набряклих ланцюгів гіалуронану і волокон колагену. Отже, склоподібне тіло за складом і структурою подібне до інших гідрогелів організму, тому його можна використовувати як модель слизистих секретів у дослідженнях *in vitro*.

Автори вдячні канд. хім. наук Є. М. Пахлову за допомогу під час проведення ІЧ-спектроскопічних досліджень та участь в обговоренні отриманих результатів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Геращенко І. І. Структура зв'язаної води в склоподібному тілі за даними ^1H -ЯМР-спектроскопії / І. І. Геращенко, А. І. Маркіна, В. В. Туров // Мед. хімія. – 2011. – **13**, № 2. – С. 102–106.
2. Bishop P. N. Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel / P. N. Bishop // Progress in Retinal and Eye Research. – 2000. – **19**, № 3. – P. 323–344.
3. Collagen fibril organisation in mammalian vitreous by freeze etch/rotary shadowing electron microscopy / K. J. Bos, D. F. Holmes, R. S. Meadows [et al.] // Micron. – 2001. – **32**, № 3. – P. 301–306.
4. Cowman M. K. Experimental approaches to hyaluronan structure / M. K. Cowman, S. Matsuoka // Carbohydrate Research. – 2005. – **340**. – P. 791–809.
5. Hellman U. About Hyaluronan in the Hypertrophic Heart / U. Hellman. – Media Umee, Sweden, 2010. – 55 p.
6. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review / J. Necas, L. Bartosikova, P. Brauner, J. Kolar // Veterinarni Medicina. – 2008. – **53**, № 8. – P. 397–411.
7. Lieleg O. Biological hydrogels as selective diffusion barriers / O. Lieleg, K. Ribbeck // Trends in Cell Biology. – 2011. – **21**, № 9. – P. 543–551.
8. Meyer K. The polysaccharide of the vitreous humor / K. Meyer, J. W. Palmer // J. Biol. Chem. – 1934. – **107**. – P. 629–634.
9. Nickerson C. S. Engineering the mechanical properties of ocular tissues / C. S. Nickerson. Thesis... Doctor of Philosophy. – California, 2006. – 184 p.
10. Pecora R. Dynamic light scattering: application of photon correlation spectroscopy / R. Pecora, editor. – New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003. – 436 p.
11. Rheology of the vitreous gel: Effects of macromolecule organization on the viscoelastic properties / P. Sharif-Kashani, J. P. Hubschman, D. Sassoon, H. P. Kavehpour // J. Biomechanics. – 2011. – **44**. – P. 419–423.
12. Sebag J. Molecular Biology of Pharmacologic Vitreolysis / J. Sebag // Trans. Am. Ophthalmol. Soc. – 2005. – **103**. – P. 473–494.
13. Type II Collagen-hyaluronan hydrogel – a step towards a scaffold for Intervertebral Disc Tissue Engineering / L. Calderon, E. Collin, D. Velasco-Bayon [et al.] // European Cells and Materials. – 2010. – **20**. – P. 134–148.

И. И. Геращенко, А. И. Маркина, В. Ф. Горчев
ИНСТИТУТ ХИМИИ ПОВЕРХНОСТИ ИМЕНИ А. А. ЧУЙКО НАН УКРАИНЫ, КИЕВ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ПРЕПАРАТА “СТЕКЛОВИДНОЕ ТЕЛО” МЕТОДАМИ ИНФРАКРАСНОЙ- И ЛАЗЕРНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Резюме

По данным химического и ИК-спектроскопического методов анализа, основными органическими компонентами стекловидного тела являются гиалуронан и коллаген, общее содержание которых составляет около 0,15 мас.%. На ЛКС-гистограммах стекловидного тела наблюдается несколько фракций размером 30–900 нм и более 10 мкм, которые относятся к набухшим цепям гиалуронана и волокнам коллагена соответственно. Способность гиалуронана структурировать воду является главным фактором стабильности биогидрогеля стекловидного тела.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стекловидное тело, биогидрогель, гиалуронан (гиалуроновая кислота), коллаген, лазерная корреляционная спектроскопия.

I. I. Herashchenko, A. I. Markina, V. F. Horchev
O. O. CHUIKO INSTITUTE OF SURFACE CHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE, KYIV
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE, KYIV

STUDY OF MACROMOLECULAR STRUCTURE OF VITREOUS HUMOR BY IR- AND LASER CORRELATION SPECTROSCOPY METHODS

Summary

As shown by the chemical analysis and IR-spectroscopy measurements, the main organic components of the vitreous humor are the hyaluronan and collagen, general contents of which is about 0,15 mass %. On the LCS histograms of vitreous humor there are a few fractions by the size of 30–900 nm and more than 10 mm, which behave to the dropsical chains of hyaluronan and fibres of collagen, accordingly. An ability of hyaluronan to put in order the water is considered as the basic factor of stability of the humor hydrogel.

KEY WORDS: vitreous humor, biohydrogel, hyaluronan (hyaluronic acid), collagen, Laser correlation spectroscopy, IR-spectrum.

Отримано 19.12.12

Адреса для листування: *I. I. Геращенко, вул. Драгоманова, 5, кв. 223, Київ, 02068, Україна, e-mail: igorgera@mail.ru.*

ВПЛИВ БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ВНУТРІШНЬОПЕЧІНКОВОМУ ХОЛЕСТАЗІ

Встановлено, що блокування ферментативного синтезу оксиду азоту шляхом введення інгібітора NO-синтази N-нітро-L-аргініну при АНІТ-індукованому внутрішньопечінковому холестази призводить до прогресування патологічних змін, що проявляється подальшим наростанням процесів холестазу та цитолізу гепатоцитів, збільшенням вмісту компонентів жовчі в крові, дисбалансом системи прооксиданти–антиоксиданти, порушеннями активності дихального ланцюга мітохондрій, мікросомальної ферментної системи та вуглеводного обміну печінки, процесів жовчовиділення. Все це відбувається на тлі пригнічення синтезу оксиду азоту, на що вказує зменшення концентрації його метаболітів – нітрит- і нітрат-аніонів, сечовини, експресії ендотеліальної та індукцибельної NO-синтаз і рівня прозапальних цитокінів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез оксиду азоту, N-нітро-L-аргінін, внутрішньопечінковий холестаз, нітрит- і нітрат-аніони, сечовина, NO-синтази, прозапальні цитокіни.

ВСТУП. Внутрішньопечінковий холестаз є наслідком ряду хронічних і гострих захворювань печінки, а також може виникати під час вагітності та менопаузи [12]. Незалежно від походження, пусковим механізмом цього процесу вважають порушення процесів утворення та відтоку жовчі, в результаті чого вміст її компонентів у печінці, а потім і сироватці крові істотно зростає, що, у свою чергу, призводить до формування окисного стресу, в розвитку якого оксид азоту відіграє провідну роль [20]. Відомо, що NO бере участь у процесах синтезу та виділення жовчі [15, 18].

З огляду на вищенаведене, метою даного дослідження було вивчити функціональний стан і метаболічні процеси в печінці при внутрішньопечінковому холестази та на фоні застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 72 білих щурах-самцях масою 170–210 г. Тварини перебували у виварії з контрольованим температурним режимом, на стандартному раціоні з вільним доступом до їжі та води і 12-годинним циклом день–ніч. Роботу зі щурами виконували відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [17]. Холестатичне ураження печінки моделювали шляхом внутріш-

ньошлункового введення α -нафтилізотіоціанату (АНІТ) одноразово в дозі 0,1 г/кг [9]. Дослідження проводили на 3 і 5 доби експерименту, що відповідало періоду розпалу та початку періоду регенерації [19]. Неселективний блокатор NO-синтази N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME) (“Oldrich. Chem. Co.”, Англія) вводили по 10 мг/кг маси щура у вигляді 1 % водного розчину [10].

В гомогенатах печінки визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК) [1], гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [2], кількість відновленого глутатіону (GSH) [16], стабільних метаболітів NO^{\cdot} – NO_2^- та NO_3^- [5, 14], молочної (лактат) та піровиноградної (піруват) кислот [8], активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази (КАТ) [13], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [7], цитохромоксидази (ЦХО) [3], N-деметилазу і р-гідроксилазу активність мікросом [4]. У сироватці крові – активність аланін- і аспартат-амінотрансферази (АлАТ, АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) (за допомогою стандартних наборів реактивів “Фелісіт”), КАТ [13], кількість ТБК [1], церулоплазміну [6], стабільних метаболітів NO^{\cdot} – NO_2^- та NO_3^- [5, 14], сечовини (за допомогою стандартних наборів реактивів “Фелісіт”), вміст молекул середньої маси [11].

Імуноферментним методом за допомогою тест-систем фірми USCN Life Science Inc. в гепатоцитах та сироватці крові визначали експресію ендотеліальної (eNOS) та індукцибельної (iNOS) NO-синтаз. Цим методом за допомогою

адапованих до виду піддослідних тварин тест-систем фірми USCN Life Science Inc. у сироватці крові щурів визначали рівень прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-1 β (IL-1 β), інтерлейкіну-6 (IL-6) та фактора некрозу пухлин- α (TNF- α).

Статистичну обробку одержаних даних виконували за допомогою програм "Origin 7.5" (OriginLab Corp., США) та "Microsoft Excel XP". Порівнювали отримані величини з використанням t-критерію Стюдента та методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні біохімічних показників, які є маркерами ураження печінки, встановлено такі закономірності. У щурів з АНІТ-індукованим ураженням вміст у крові АЛАТ був вищим у 3,8 та 3,5 рази на 3 і 5 дні експерименту порівняно з контролем, АсАТ – у 2,7 та 2,2 рази, лужної фосфатази – в 3,1 та 2,7 рази відповідно, що підтверджувало розвиток явищ цитолізу і холестази. Концентрація сечовини, метаболіту L-аргініну в аргіназному циклі, який синтезується тільки у печінці, знижувалась на 38,9 та 29,5 % відповідно у перший і другий терміни дослідження.

Про розвиток холестатичного ураження при введенні АНІТ свідчило значне зростання вмісту компонентів жовчі у сироватці крові. Так, концентрація загального білірубину була вищою від контрольних значень у перший термін дослідження на 250,9 %, жовчних кислот – на 634,0 %, а холестерину – на 359,5 %, у другий – загального білірубину на 188,5 %, а холестерину та жовчних кислот на 218,2 і 496,8 % відповідно.

Як свідчать результати досліджень, у тварин з АНІТ-холестазом відмічали активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів. На це вказувало значне зростання вмісту ТБК у сироватці крові – на 51,8 та 36,6 %, у печінці – на 70,2 і 64,3 % відповідно до термінів дослідження та порівняно з контрольною групою піддослідних тварин. Рівень ГПЛ в ураженому органі збільшувався на 72,6 та 68,2 % відповідно (рис. 1).

Одночасно відзначали компенсаторну зміну активності антиоксидантних ферментів. Так, у сироватці крові спостерігали підвищення активності каталази на 44,5 та 38,2 %, тоді як у печінці цей показник знижувався на 48,7 і 33,6 %. Концентрація мідьвмісного антиоксидантного білка сироватки крові церулоплазміну зростала на 165,8 та 87,8 % порівняно з тваринами без ураження. Рівень GSH збільшувався на 39,6 та 32,9 % з одночасним зниженням активності СОД у печінці на 77,8 і 60,0 % (рис. 1). За даними R. A. Roth, L. J. Dahm (1997), саме зростання вмісту GSH може бути однією з причин токсичності α -нафтилізотіоціанату та розвитку внутрішньопечінкового стазу жовчі [21].

Встановлено, що за даних патологічних умов змінюється вміст кінцевих метаболітів оксиду азоту. На 3 день експерименту вміст NO₂ у сироватці крові збільшувався на 75,2 %, а в печінці зменшувався на 22,9 %. Рівень NO₃ знижувався у крові (на 8,9 %) та печінці (на 22,4 %) відносно контрольної групи. В другий термін дослідження рівень нітрит- та нітрат-аніонів у сироватці крові зростав на 76,0 і 11,0 %, а в печінці зменшувався на 21,9 та 22,1%. Такі результати в цілому можна оцінити як відносну недостатність оксиду азоту в

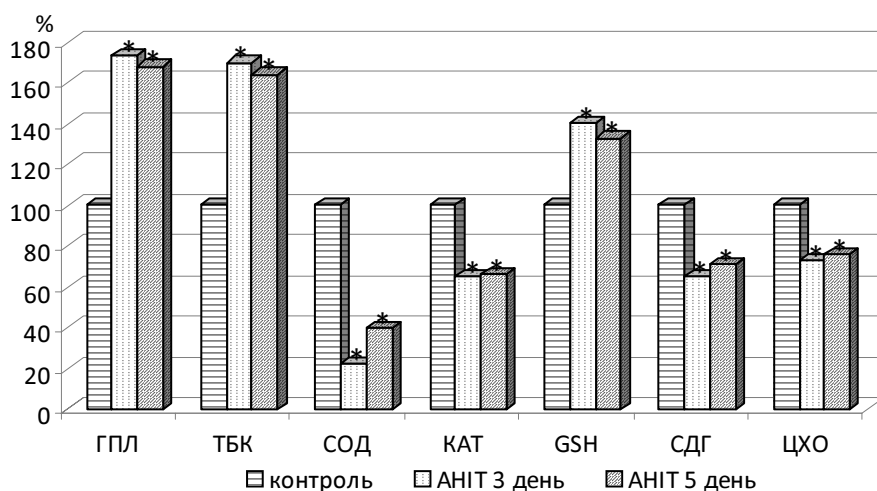


Рис.1. Зміни показників системи прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці при АНІТ-холестазі (* – достовірність відносно контролю).

печінці за умов гострого ураження АНІТ. Це відбувалося на фоні зниження на 53,6 % на 3 день досліджу вмісту конститутивної eNOS та незначного (на 24,4 %) зростання iNOS у пошкодженому органі, а в сироватці крові активність ендотеліальної форми ферменту вірогідно не змінювалась, а індукційної – підвищувалась у 4,7 раза.

Результати імуноферментного дослідження показали значне зростання рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові. Так, вміст IL-1 β , IL-6 та TNF- α у вказаний термін дослідження збільшувався у 18,4, 2,8 і 10,1 раза відповідно порівняно з контролем. Про важливу роль інтерлейкінів в активації системи оксиду азоту свідчила наявність тісного прямого кореляційного зв'язку між вмістом NO $_2$ та рівнем IL-1 β при АНІТ-холестази ($r=0,92$).

Активність мітохондріальних ферментів СДГ та ЦХО у гомогенатах печінки знижувалась на 35,3 та 29,5 % і на 27,5 та 23,8 % відповідно порівняно з інтактними тваринами, що свідчило про порушення функцій електронно-транспортного ланцюга мітохондрій (рис. 1). Деградація енергетичних ресурсів у печінці шурів із холестазом супроводжувалась активацією процесу анаеробного гліколізу, на що вказували підвищення в печінці концентрації молочної кислоти у групі тварин з АНІТ-холестазом на 50,0 і 46,9 % та зниження концентрації піровиноградної кислоти на 49,2 і 44,4 % відповідно до термінів експерименту. Це призвело до значного зростання співвідношення лактат/піруват – на 196,7 % на 3 день дослідження та на 164,8 % на 5 день, що свідчило про розвиток метаболічного ацидозу у ураженому органі.

Результати проведених нами досліджень також показали, що при внутрішньопечінковому холестазі, викликаному введенням АНІТ, погіршувалась детоксикаційна функція печінки. Про це свідчило зменшення, порівняно з показниками контрольної групи тварин, швидкості процесів деметилювання та гідроксилювання на 3 (на 18,2 і 21,7 %) та 5 (на 16,5 і 16,4 %) дні експерименту.

Ми вивчали стан екскреторної функції печінки за умов ураження печінки, викликаного введенням АНІТ. Встановлено, що при експериментальному холестазі відбувалося зменшення швидкості жовчовиділення (на 63,6 і 60,9 % відповідно до термінів дослідження), що супроводжувалося зниженням у жовчі концентрації та вмісту основних компонентів. Так, вірогідно зменшувалась абсолютна кількість загального (на 66,1 і 61,0 %) та кон'югованого білірубину (на 71,7 і 63,7 % відповідно).

Про порушення глюкуронокон'югуючої функції печінки при ураженні АНІТ свідчило підвищення на 53,3 та 49,1 % вмісту вільної фракції пігменту в жовчі. Показник відсоткової частки кон'югованої форми білірубину при холестазі становив $65,24 \pm 1,09$ порівняно з $78,89 \pm 2,78$ у тварин контрольної групи в перший термін дослідження, а в другий – хоча він і був дещо нижчим, все ж вірогідно не відрізнявся від контролю. Концентрація (г/л) та абсолютна кількість (мг/(кг·год)) холестерину зменшувались, відповідно, на 43,7 і 47,6 % у перший термін дослідження, а в другий – на 48,9 та 31,1 %. Вміст жовчних кислот (мг/(кг·год)) знижувався на 66,4 і 64,9 % відповідно до термінів дослідження та порівняно з тваринами контрольної групи. Про порушення літогенних властивостей жовчі свідчило також достовірне зменшення холато/холестеринового коефіцієнта – на 35,5 та 30,5 %.

У результаті проведених досліджень встановлено, що застосування неселективного інгібітора NO-синтази L-NAME при холестатичному ураженні печінки, викликаному введенням АНІТ, призвело до ще більшого поглиблення патологічного процесу. Під час аналізу змін маркерних показників цитолізу та холестазу в сироватці крові під впливом N-нітро-L-аргініну з'ясовано, що рівень їх активності значно перевищував показники контролю і був більшим АлАТ – на 38,3 та 63,3 %, АсАТ – на 40,6 і 101,6 %, ЛФ – на 27,2 та 5,2 % порівняно з аналогічними показниками у групі тварин з АНІТ-ураженням. Вміст сечовини за умов введення даного коригувального агента у сироватці крові вірогідно не змінювався, але спостерігали тенденцію до його подальшого зниження, що може вказувати на пригнічення її синтезу в печінці. Вміст компонентів жовчі у сироватці крові в основному залишався на рівні ураження, хоча відмічали незначне зниження концентрації жовчних кислот (на 21,6 % на 3 день експерименту) та зростання холестерину (на 20,6 % на 5 день), що може бути результатом порушення бар'єрної функції плазматичної мембрани гепатоцитів на фоні вираженого цитолізу.

Повне блокування ферментативного синтезу оксиду азоту призводило до подальшої активації процесів ліпопероксидації. Так, у перший термін дослідження вміст ТБК зростав у сироватці крові (на 27,0 %) та печінці (на 29,9 %), а рівень ГПЛ залишався на рівні ураження. На 5 день експерименту концентрація ГПЛ та ТБК у печінці перевищувала показники групи тварин без корекції на 18,3 і 41,3 %. Вміст ТБК-активних продуктів ліпопероксидації в

сироватці крові був на 41,1 % більшим порівняно з АНІТ-холестаазом.

При застосуванні N-нітро-L-аргініну активність КАТ у тканині печінки була нижчою на 35,6 і 45,3 % відповідно до термінів дослідження та порівняно з аналогічними показниками у щурів з АНІТ-холестаазом (рис. 1). Активність іншого антиоксидантного ферменту СОД та вміст GSH в обидва терміни дослідження залишались на рівні ураження, як і каталазна активність крові. Вміст церулоплазміну зростав і на 5 день експерименту становив $538,12 \pm 7,73$ проти $427,29 \pm 8,36$ ($p < 0,001$) при АНІТ-холестазі.

Як свідчать отримані результати, N-нітро-L-аргінін при АНІТ-індукованому холестази спричиняв гальмування синтезу оксиду азоту. Цей вплив підтверджувався зменшенням у гомогенатах органа концентрації стабільного метаболіту NO – нітрит-аніона на 28,5 та 31,6 % відповідно до термінів дослідження (рис. 2), концентрація нітрат-аніона достовірно знижувалася на 12,2 % лише на 5 день дослідю. Вміст NO_2 і NO_3 у сироватці крові знижувався, відповідно, на 68,5 та 8,5 % у перший термін експерименту і на 67,7 та 25,2 % у другий порівняно з групою тварин з ураженням.

Результати проведених нами імуноферментних досліджень показали, що на 3 день експерименту вміст ендотеліальної форми NO-синтази в крові та печінці при застосуванні N-нітро-L-аргініну зменшувався на 59,1 та 51,3 % і становив усього 35,5 і 22,6 % відповідно від показників контролю. Концентрація індукцйбельної форми ферменту знижувалася на 82,7 та 76,9 % порівняно з ураженням і також була достовірно меншою за контрольні значення на 18,9 та 71,3 % відповідно. При цьому вміст прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6 та TNF- α у сироватці крові залишався на рівні ураження і перевищував показники контролю в 17,2, 2,9 та 11,2 раза відповідно.

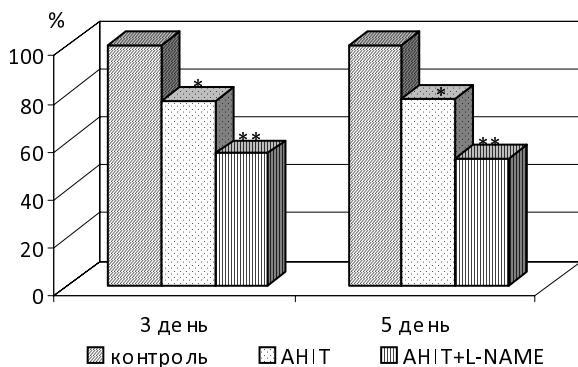


Рис. 2. Зміни вмісту NO_2^- в печінці під впливом L-NAME при АНІТ-холестази (* – достовірність відносно контролю, ** – достовірність відносно ураження).

За умов повного блокування утворення NO синтазним шляхом спостерігали подальше порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій, на що вказувало зниження, порівняно з ураженням на 5 день експерименту, активності СДГ та ЦХО на 21,6 і 14,8 %.

Про порушення енергетичного забезпечення в печінці щурів з АНІТ-індукованим холестаазом на фоні блокування синтезу оксиду азоту свідчив високий вміст у печінці молочної кислоти (на 56,2 та 51,0 % порівняно з контролем) при низькій концентрації пірвіноградної. Наявність тенденції до аналогічних змін вказаних показників анаеробного гліколізу порівняно з групою тварин без корекції призвела до зростання на 17,6 % співвідношення лактат/піруват на 5 день експерименту.

Активність ферментів мікросомальної ферментної системи при блокуванні ізоформ NOS залишалась на рівні ураження, а N-деметилазна активність на 5 день експерименту навіть вірогідно була на 9,9 % нижчою, ніж у групі тварин із холестаазом.

При вивченні впливу неселективного блокатора NO-синтази на процеси жовчовиділення встановлено, що інтенсивність секреції жовчі вірогідно не змінювалась, однак спостерігали тенденцію до її зменшення. Не зазнавали достовірних змін, порівняно з АНІТ-холестаазом, вміст та концентрація таких компонентів жовчі, як білірубін, його фракції, жовчні кислоти та холестерин, разом із тим, вказані показники залишалися вірогідно нижчими за контрольні значення.

ВИСНОВКИ. 1. У патогенезі внутрішньопечінкового холестази, викликаного АНІТ, відіграє роль активація пероксидного окиснення ліпідів, яка супроводжується компенсаторною зміною активності ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи, зменшенням активності мітохондріальних ферментів, порушенням процесів детоксикації і наростанням проявів метаболічного ацидозу в печінці, зниженням інтенсивності виділення жовчі та вмісту її компонентів. Усе це відбувається на фоні підвищеного синтезу прозапальних цитокінів, зниження вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в печінці й підвищення їх концентрації в печінці, зменшення вмісту ендотеліальної NO-синтази в пошкодженому органі та зростання експресії індукцйбельної форми ферменту як у печінці, так і в сироватці крові.

2. Застосування неселективного інгібітора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну при АНІТ-холестази призводить до прогресування

патологічних змін, що проявляється подальшим наростанням процесів холестаза, цитолізу, збільшенням вмісту компонентів жовчі в крові, дисбалансом системи прооксиданти–антиоксиданти, порушеннями активності дихального ланцюга мітохондрій, мікросомальної ферментної системи та вуглеводного обміну

печінки, процесів жовчовиділення, що відбувається на тлі пригнічення синтезу оксиду азоту, про що свідчить зменшення концентрації його метаболітів – нітрит- і нітрат-аніонів, сечовини, вмісту ендотеліальної та індукбельної NO-синтаз і рівня прозапальних цитокінів.

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. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
3. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–212.
4. Карузина И. И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем / И. И. Карузина, А. И. Арчаков // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 49–62.
5. Кіселик І. О. Особливості визначення нітратів та нітритів в периферичній крові у хворих на вірусні гепатити та при синдромі жовтяниці іншої етіології / І. О. Кіселик, М. Д. Луцик, Л. Ю. Шевченко // Лаб. діагностика. – 2001. – № 3. – С. 43–45.
6. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М. И. Прохоровой. – Л., 1982. – 272 с.
9. Одынец А. Г. Методологические аспекты скрининга гепатопротекторов с использованием моделей поражения печени четыреххлористым углеродом, Д-галактозамином и α -нафтилизотиоцианатом / А. Г. Одынец, Д. А. Берзиня, А. Н. Кожухов // Успехи гепатологии. – Рига, 1988. – В. 14. – С. 255–237.
10. Посохова К. А. Вплив L-аргініну та N-нітро-L-аргініну на деякі показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу за умов гострої циркуляторно-гемічної гіпоксії / К. А. Посохова, В. В. Буковська // Буковин. мед. вісник. – 2002. – 6, № 3. – С. 185–190.
11. Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах / Р. И. Лифшиц, Б. М. Вальдман, И. А. Волчегорский, А. С. Лужевский // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1986. – 101, № 3. – С. 280–282.
12. Семак И. В. Влияние мелатонина на патобиохимические проявления внепеченочного холестаза в печени крыс с перерезанным желчным протоком / И. В. Семак, М. В. Антонова, Е. О. Корик // Труды Белорусского государственного университета, Серия: Физиол., биохим. и молекул. основы функц. биосистем. – 2006. – Т. 1, Ч. 1. – С. 138–146.
13. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–684.
14. Analysis of nitrate, nitrite and [^{15}N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. Davie, J. Glogowski [et al.] // *Analyt. Biochem.* – 1982. – 126, № 1. – P. 131–138.
15. Dufour J. F. Nitric oxide blocks bile canalicular contraction by inhibiting inositol triphosphate-dependent calcium mobilization / J. F. Dufour, T. Turner, I. M. Arias // *Gastroenterology.* – 1995. – 108. – P. 841–849.
16. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – № 82. – P. 70–77.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
18. Nitric Oxide Donors Stimulate Bile Flow and Glutathione Disulfide Excretion Independent of Guanosine 3,5-Cyclic Monophosphate in the Isolated Perfused Rat Liver / M. Trauner, M. H. Nathanson, A. Mennone [et al.] // *Hepatology.* – 1997. – 25, № 2. – P. 263–269.
19. Plaa G. L. Functional Aspects of the Cholestatic Response Induced by α -Naphthylisothiocyanate in Mice and Rats / G. L. Plaa // *Agents action.* – 1969. – № 1. – P. 22–27.
20. Rodrigues-Garay E. A. Cholestasis: human disease and experimental models / E. A. Rodrigues-Garay // *Ann. of Hepatology.* – 2004. – 2 (4). – P. 150–158.
21. Roth R. A. Neutrophil- and glutathione-mediated hepatotoxicity of α -naphthylisothiocyanate / R. A. Roth, L. J. Dahm // *Drug Metab. Rev.* – 1997. – 29. – P. 153–165.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОМ ХОЛЕСТАЗЕ

Резюме

Установлено, что блокирование ферментативного синтеза оксида азота путем введения ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинина при АНИТ-индуцированном внутripеченочном холестаза приводит к прогрессированию патологических изменений, что проявляется дальнейшим нарастанием процессов холестаза и цитолиза гепатоцитов, увеличением содержания компонентов желчи в крови, дисбалансом системы прооксиданты–антиоксиданты, нарушениями активности дыхательной цепи митохондрий, микросомальной ферментной системы и углеводного обмена печени, процессов желчевыделения. Все это происходит на фоне угнетения синтеза оксида азота, на что указывает уменьшение концентрации его метаболитов – нитрит- и нитрат-анионов, мочевины, экспрессии эндотелиальной и индуцибельной NO-синтаз и уровня провоспалительных цитокинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез оксида азота, N-нитро-L-аргинин, внутripеченочный холестаз, нитрит- и нитрат-анионы, мочевина, NO-синтазы, провоспалительные цитокины.

O. M. Oleshchuk
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BLOCKER ON THE LIVER STATE AT INTRAHEPATIC CHOLESTASIS

Summary

Blocking of the enzymatic nitric oxide synthesis by the introduction of NO-synthase inhibitor N-nitro-L-arginine at ANIT-induced intrahepatic cholestasis causes progression of pathological changes. It's shown in further intensification of cholestasis processes and cytolysis of hepatocytes, in an increased content of bile components in the blood, an imbalance of pro-oxidant-antioxidant, impaired activity of mitochondrial respiratory chain, microsomal enzyme systems and carbohydrate metabolism in liver, cholestasis. All these occurs on the background of nitric oxide synthesis inhibition, it is indicated in an decreased concentration of metabolites – nitrite- and nitrate anions, urea, expression of endothelial and inducible NO-synthase and the level of proinflammatory cytokines.

KEY WORDS: nitric oxide synthesis, N-nitro-L-arginine, intrahepatic cholestasis, nitrite- and nitrate anions, urea, NO-synthase, proinflammatory cytokines.

Отримано 09.01.13

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

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЕРАТИНУ ВОЛОСА ЛЮДИНИ ЗА НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЇ

У статті наведено дані стосовно співвідношення різних груп білків-кератинів волоса людини за норми і патології. Показано, що патологічні зміни у волоссі супроводжуються перерозподілом фракцій кератину, зокрема зменшенням вмісту низькомолекулярних матриксних білків, які характеризуються високим вмістом сірки та збільшенням частки високомолекулярних білків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: волос людини, трихограми, структура, кератози, матрикс, мікрофібрили, кутикула.

ВСТУП. Волосяний фолікул (ВФ) і на сьогодні залишається предметом пильної уваги дослідників різних галузей. Цей інтерес зумовлений необхідністю отримання інформації щодо розуміння механізмів формування волосяного покриву в ссавців, що, у свою чергу, необхідно для ефективної селекційної роботи з тваринами – продуцентами руна з різними технологічними властивостями.

Волосяний фолікул займає у дерматології особливе місце як основний компонент шкірного покриву людини, що підпадає під ряд специфічних патологій та відображає загальний стан організму людини.

Значні успіхи в косметології та дерматології протягом останніх десятиліть є результатом досягнень у біології волоса в цілому, розуміння закономірностей формування волосяного фолікула, клітинних механізмів процесів кератинізації. Проте, незважаючи на певні досягнення, деякі аспекти функціонування ВФ, особливо ті, що лежать в основі його порушень, поки-що залишаються малоз'ясованими.

Варто зазначити, що вміст протеїнів у таких кератинізованих структурах, як волос людини і тварин, нігті, роги, перо тощо, становить близько 80 % від їх загальної маси. Відомі дві великі групи цих білків: тверді α -кератини, з яких утворюються макро- і мікрофібрили та білки, що формують нефіламентний матрикс, і кератинасоційовані протеїни [8]. Дослідження даних білків ускладнюється труднощами отри-

мання їх у нативному стані через утворення міцних дисульфідних зв'язків між мікрофібрилярними та матриксними білками.

На сьогодні існують два різні підходи до розділення білків стержня волоса, а саме: окиснення за допомогою надкислот та відновлення за присутності аніонних детергентів [10].

Метою даної роботи було оцінити функціональну діяльність ВФ за параметрами продукту кінцевої диференціації кератиноцитів – стержня волоса та вивчити структурні зміни білків-кератинів за норми і патології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використали зразки людського волосся, отримані на умовах анонімності від пацієнтів обласного шкірно-венерологічного диспансеру. Співвідношення різних фаз циклу росту волоса оцінювали методом трихограм [9], на основі аналізу яких було сформовано дві групи: контрольну (норма), де співвідношення волосся в стадії анаген/телоген становило 8,2:1,8, та дослідну (патологія) зі співвідношенням 5,4:4,6.

Білки волоса фракціонували шляхом окиснення надмурашиною кислотою з наступним розчиненням у лузі за Asquit et al. [7], а також шляхом відновлення за допомогою постадійної екстракції їх із застосуванням розчину 2-меркаптоетанолу (2-ME) різних концентрацій за присутності денатурувальних агентів [5].

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням середнього арифметичного і стандартної похибки ($M \pm m$) та до-

стовірного інтервалу для оцінки ступеня вірогідності (p) за допомогою критерію Стьюдента (t). Розбіжності вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження трихограм, які дозволяють відстежити співвідношення волоса у різні фази його росту, наведено в таблиці 1. При перегляді зразків ми враховували і такі форми волосся, як дистрофічне та диспластичне [9]. Цифрові дані таблиці свідчать про те, що в пацієнтів, яких ми відносили до групи з патологією (дослідна група), кількість волосся у фазу фелогену збільшилася у 2,2 раза. Так, при нормальному співвідношенні у трихограмах волосся в стадії анаген/телоген (7,9:2,1) у дослідній групі цей показник становив 5,5:4,5. Збільшення у трихограмах кількості волосся у телогенову фазу може бути наслідком атрофії волосяних фолікулів і призводити до стоншення та порідіння волосся [1]. Про стоншення свідчила також велика кількість диспластичного волосся.

Для з'ясування змін, що виникають у стержні волоса, ми використали метод фракціонування кератинів після їх попереднього окиснення надмурашиною кислотою. Результати цих досліджень наведено у таблиці 2. У своїх попередніх роботах [2, 3] ми вказували на те, що виділені білкові фракції – кератози відповідають певним структурним елементам волоса. Зокрема, альфа-кератоза відповідає білкам макро- і мікрофібрил кіркового шару, бета-кератоза – мембранам клітин кортексу, залишків клітинних ядер та фрагментів кутикули, а гамма-кератоза характеризує матрикс, або міжклітинний цемент волоса.

Таблиця 1 – Співвідношення фаз росту волоса

Фаза росту	Норма, % (n=5)	Патологія, % (n=5)
Анаген	79	45
Катаген	0	6
Телоген	18	40
Диспластичне волосся	3	5
Дистрофічне волосся	–	4

Таблиця 2 – Структура волоса, % ($M \pm m$, n=5)

і нст, амсВ	Компнент тВ	
	ано тВ	. т%дне9В
α Суот%, тВ	хйїзлзйшВ	ххйїзлзйїз1В
β Суот%, тВ	з5йг лийшВ	зкйї0±ийбиВ
γ Суот%, тВ	50йшклзйшкВ	5кй клзйшкВ

Примітка. У цій і наступній таблицях: * – статистично вірогідна різниця між порівнюваними показниками ($p \leq 0,05-0,001$).

Проведені дослідження показали, що існують певні відмінності у структурній організації волоса при патологічних порушеннях, і стосуються вони, головним чином, двох основних груп білків волоса. Так, частка білків макро- і мікрофібрил зросла на 9 % ($p < 0,05$) у дослідній групі порівняно з контролем, тоді як вміст матриксних протеїнів мав лише тенденцію до зменшення. Вміст нерозчинного залишку волоса практично однаковий в обох групах.

Подібні результати були отримані Р. М. Юсуфовим [4], який вказував на зміни у співвідношенні кератоз у бік зменшення частки гамма-кератози та збільшення двох інших фракцій (альфа- і бета-кератози) при деяких хворобах волоса.

Отже, основні білки волоса можна розділити за молекулярною масою, яка для матриксних протеїнів коливається у діапазоні 10–30 кДа, тоді як молекулярна маса білків мікрофібрил становить 45–55 кДа [6]. При використанні для екстракції основних білків волоса аніонних детергентів у поєднанні з відновником встановлено, що кількість екстрагованих білків залежить від концентрації відновника. Матриксні білки екстрагуються за 2 М концентрації 2-МЕ, тоді як білки мікрофібрил можна виділити за допомогою 0,4 М 2-МЕ. При використанні дитіотреїтолу (ДТТ), сильнішого відновника, ніж 2-МЕ, ми отримали фракцію з молекулярною масою в межах 100 кДа, яку віднесли до високомолекулярних білків. Отже, оскільки 2-МЕ і ДТТ мають у своїх молекулах спиртову групу -ОН, то денатурувальна ефективність сурфактанта послаблюється при високій концентрації відновників. Це пояснює той факт, що матриксні білки можна виділити лише при високих концентраціях 2-МЕ [5].

Отже, фракціонування кератину волосся шляхом відновлення за допомогою різних концентрацій 2-МЕ дозволило нам отримати 4 групи білків, співвідношення яких наведено в таблиці 3. Як свідчать цифрові дані таблиці, кортикальні білки волоса становлять понад 70 % від його маси, тоді як вміст протеїнів матриксу – до 30 %. Таким чином, після постадійної екстракції цих груп білків залишається кутикулярний залишок, вміст якого коливається у межах 20 %.

Наведені дані свідчать про те, що вміст матриксних білків при патологічних змінах у волоссі зменшується на 7,5 %. Аналогічні зміни стосуються і фракції мікрофібрилярних білків, частка яких знижується на 6,6 %. Натомість спостерігають збільшення фракцій високомолекулярних білків та кутикули.

Таблиця 3 – Структура волоса, % (M±m, n=5)

Стан волоса	Структурний елемент волоса			
	білки матриксу	білки мікрофібрил	високомолекулярні білки	кутикулярний залишок
Норма	29,71±0,38	44,76±1,10	9,00±0,42	16,54±1,22
Lim (min-max)	28,58–30,57	42,09–48,28	7,87–10,09	14,01–20,18
Патологія	27,49±0,32	41,81±0,49	10,12±0,47	20,58±0,39
	p≤0,01	p≤0,05	p≥0,1	p≤0,01
Lim (min-max)	26,70–28,35	40,52–43,47	8,95–11,36	19,79–21,96

ВИСНОВКИ. Встановлено, що патологічні зміни волосся, які характеризуються його пошкідженням, супроводжуються певними відмінностями у співвідношенні різних груп білків кератину. Запропоновані методи

фракціонування волоса можуть бути використані як для оцінювання ступеня його пошкодження, так і для тестування різноманітних фармакологічних та косметологічних препаратів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адашкевич В. П. Алопеция / В. П. Адашкевич. – Нижний Новгород : Издательство НГМА, 2000. – С. 99–126.
2. Гавриляк В. В. Морфоструктурні та хімічні зміни вовняного волокна в нормі та патології / В. В. Гавриляк // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2012. – № 17 (252). – С. 31–37.
3. Гавриляк В. В. Порівняльна характеристика кератинів людського волоса та вовняного волокна / В. В. Гавриляк, Г. М. Седіло // Біологія тварин. – 2012. – **14**, № 1–2. – С. 69–74.
4. Юсуфов Р. М. Болезни волос в судебно-медицинском отношении : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук / Р. М. Юсуфов. – М., 1985. – 18 с.
5. Analysis of damaged components of permed hair using biochemical technique / R. Kon, A. Nakamura, N. Hirabayashi, K. Takeuchi // J. of Cosmetic Sciences. – 1998. – **49**. – P. 13–22.
6. A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species / A. Nakamura, M. Arimoto, K. Takeuchi, T. Fudjii // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – **25**. – P. 569–572.
7. Asquith R. S. The morphological origin and reactions of some keratin fractures / R. S. Asquith, D. C. Parkinson // Textile Research Journal. – 1966. – **36**. – P. 1064–1071.
8. Gillespie J. M. The structural protein of hair: isolation, characterization and regulation of biosynthesis. In: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin [Text] Ed. L. Goldsmith / J. M. Gillespie. – Oxford : Oxford University Press, 1991. – **1**. – 659 p.
9. Kostanecki W. Choroby wlosow [Text] / W. Kostanecki. – Warszawa : Panstwowy Zaklad Wydawnictw Lekarskich, Wyd. II., 1979. – 180 s.
10. Powell B. C. Formation and structure of Human Hair / Powell B. C., Rogers G. E.; ed. P. Jones, H. Zahn – Hocker-Birhanser Verlag Basel – Switzerland. – 1997. – P. 148.

В. В. Гавриляк¹, Л. Ю. Сенцев², О. М. Шехович²

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ НААН УКРАИНЫ¹, ЛЬВОВ
ОБЛАСТНОЙ КОММУНАЛЬНЫЙ КОЖНО-ВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ДИСПАНСЕР², ЛЬВОВ

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЕРАТИНА ВОЛОСА ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Резюме

В статье приведены данные о соотношении различных групп белков-кератинов волоса человека в норме и при патологии. Показано, что патологические изменения в волосе сопровождаются перерас-

пределением фракций кератина, в частности уменьшением содержания низкомолекулярных матричных белков, характеризующихся высоким содержанием серы и увеличением доли высокомолекулярных белков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **волос человека, трихограммы, структура, кератозы, матрикс, микрофибриллы, кутикула.**

V. V. Havrylyak¹, L. Yu. Sentsev², O. M. Shekhovych²
*INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF NAAS OF UKRAINE¹, LVIV
REGIONAL MUNICIPAL DERMATOVENEROLOGIC CLINICS², LVIV*

STRUCTURAL CHANGES OF HUMAN HAIR KERATINS UNDER NORM AND PATHOLOGY

Summary

The data about the ratio of different groups of human hair keratins under norm and pathology are presented. It was shown that pathological changes in human hair are accompanied by the redistribution of keratin fractions, including a decrease of low-molecular matrix proteins, which are characterized by a high sulfur content and increasing the high molecular weight protein.

KEY WORDS: human hair, trichogramma, structure, keratoses, matrix microfibrils, cuticle.

Отримано 22.01.13

Адреса для листування: В. В. Гавриляк, Інститут біології тварин НААН України, вул. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.

**СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ ГОМОЦИСТЕЇНУ
В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ**

У роботі досліджено вплив статі й різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на вміст гомоцистеїну в сироватці крові та активність ензимів, які беруть участь у його метаболізмі в печінці. Показано, що в самців вміст гомоцистеїну в сироватці крові достовірно вищий, а активність ензимів метилування та транссульфування гомоцистеїну в печінці є вірогідно меншою, ніж у самок. Гонадектомія знижує вираження статевих відмінностей метаболізму гомоцистеїну в печінці, тоді як проведення замісної гормонотерапії відновлює гендерний диморфізм в обміні цієї сірковмісної амінокислоти у щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **стать, печінка, гомоцистеїн, ензими метилування та транссульфування, щури.**

ВСТУП. Синдром гіпергомоцистеїнемії є відомим фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань. Механізми впливу надлишку гомоцистеїну (ГЦ) на стан серцево-судинної системи різноманітні й реалізуються через гіпометилування, оксидативний стрес, порушення синтезу факторів гемокоагуляції, гальмування продукування нітроген монооксиду (NO), гідроген сульфїду тощо [1, 2]. Останнім часом з'являються дані про наявність гендерних відмінностей вмісту ГЦ у сироватці крові [6]: рівень ГЦ у жінок репродуктивного віку є вірогідно меншим, ніж у чоловіків того ж віку, що певною мірою пояснює більшу чутливість чоловічого організму до розвитку серцево-судинної патології. На сьогодні залишається нез'ясованим питання щодо молекулярних механізмів, які лежать в основі статевих відмінностей метаболізму ГЦ. Тому метою даного дослідження було оцінити вплив статі й різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на вміст ГЦ у сироватці крові та активність ГЦ-метаболізуючих ензимів у печінці.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 90 білих безпородних щурах з індивідуальною масою 250–270 г, які перебували на стандартному раціоні віварію з водним режимом ad libitum та 12-годинним світловим режимом день/ніч. Дослідження виконували згідно з міжнародними вимогами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, © А. В. Мельник, Н. В. Заїчко, Н. І. Волощук, 2013.

що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин, затвердженими комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 13 від 7 жовтня 2010 р.).

Експериментальне моделювання дефіциту статевих гормонів у щурів проводили шляхом кастрації (оваріоектомія і тастектомія, відповідно, самкам та самцям) під кетаміновим наркозом (10 мг/кг) хірургічним методом через серединний розтин передньої черевної стінки згідно із загальноприйнятими методиками. Дослідження проводили через 21 день після кастрації [4, 11]. У контрольних тварин розтинали передню черевну стінку з наступним пошаровим зашиванням рани (псевдооперовані). Замісну гормонотерапію (ЗГТ) у самців і самок кастрованих щурів відтворювали шляхом введення тестостерону пропіонату (завод ООО "Фармадон", м. Ростов-на-Дону), 1 мг/кг підшкірно 1 раз на день; естрадіолу гемігідрату ("Естримакс", АО Гедеон Рихтер), 150 мг/кг внутрішньошлунково протягом 14 днів [3]. Ефект замісної терапії в щурів обох статей оцінювали за рівнем статевих гормонів у сироватці крові, а в самок ще і за допомогою вагінальних мазків.

Біохімічні дослідження виконано в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, сертифікованій МОЗ України (свідоцтво про переатес-

тацію № 002/10 від 11 січня 2010 р.). Кров для досліджень у щурів брали із серця після анестезії кетаміном (10 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно). Забір крові здійснювали за допомогою вакутейнерів у стерильні пластикові пробірки Vacuette (Greiner Bio-One, Австрія). Сироватку та ЕДТА-плазму отримували шляхом центрифугування крові при 1500 g 15 хв за 18–22 °С. Для біохімічних досліджень аліквоти сироватки та плазми відбирали в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °С.

Печінку перфузували холодним 1,15 % розчином калію хлориду і гомогенізували при 3000 об./хв (тефлон-скло) в середовищі 1,15 % калію хлориду (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували впродовж 30 хв при 600 g, аліквоти пост'ядерного супернатанту відбирали в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °С.

Рівень загального ГЦ в ЕДТА-плазмі крові визначали методом ІФА за допомогою набору "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Англія) на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Вміст естрадіолу і тестостерону в сироватці крові тварин визначали імуноферментним методом стандартними наборами DRG Estradiol ELISA фірми DRG (США) та DSLACTIVE Testosterone фірми DSL (США) згідно з інструкціями фірм-виробників.

Цистатіоназну активність цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1) визначали за утворенням цистеїну в реакції розщеплення цистатіоніну [10], а цистатіонінсинтазну активність цистатіонін- β -синтази (ЦБС, КФ 4.2.1.22) – за утворенням цистатіоніну в реакції конденсації гомоцистеїну із серином [9]. S-аденозилгомоцистеїнгідролазну активність (АГГ, КФ 3.3.1.1) визначали в реакції гідролізу S-аденозилгомоцистеїну за приростом сульфгідрильних груп [12]. Активність метіонінаденозилтрансферази (МАТ, КФ 2.5.1.6) визначали за приростом неорганічного фосфату [5], а бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (БГМТ, КФ 2.1.1.5) – за зниженням сульфгідрильних груп [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Спершу ми оцінили вплив статі й різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на вміст ГЦ у сироватці крові (рис.). Було виявлено, що у самок контрольної групи вміст цієї сірковмісної амінокислоти в сироватці крові достовірно менший (на 18,5 %), ніж у самців. Кастрація тварин обох статей викликала різноспрямовані зміни вмісту ГЦ у сироватці крові. Зокрема, оваріоектомія самок супроводжувалась вірогідним збільшенням (на 16,9 %)

цього показника у сироватці крові, тоді як гонадектомія самців, навпаки, призводила до його зниження на 13,9 %. При цьому в кастрованих самок рівень ГЦ у крові був достовірно вищим, ніж у кастрованих тварин протилежної статі. Замісна гормонотерапія викликала в гонадектомованих щурів відновлення характеру гендерних відмінностей рівня ГЦ у крові. Так, замісне введення кастрованим самкам естрогенів супроводжувалося достовірним зменшенням (на 13,5 %) рівня цієї сірковмісної амінокислоти в крові, її вміст наближався до такого у псевдооперованих тварин. Натомість замісне введення гонадектомованим самцям тестостерону призводило до статистично вірогідного зростання вмісту ГЦ (на 15,0 %), причому рівень цього показника достовірно не відрізнявся від контролю.

На наступному етапі ми оцінили активність ензимів метилування (БГМТ, МАТ, АГГ) і транссульфування (ЦБС, ЦГЛ) ГЦ у печінці щурів обох статей та її зміни за умов різного рівня насиченості організму тварин статевими гормонами (табл.). З'ясовано, що у самок контрольної групи інтенсивність метаболізму ГЦ у реакціях метилування і транссульфування значно перевищувала таку в самців. Так, активність ензимів БГМТ, МАТ, АГГ, ЦБС та ЦГЛ у псевдооперованих самок була, відповідно, на 23,3; 21,5; 17,9; 25,0; 28,0 % вищою, ніж у самців. Гонадектомія щурів обох статей чинила протилежний вплив на активність процесів метилування і транссульфування в печінці тварин. Так, оваріоектомія самок супроводжувалась достовірним зменшенням активності БГМТ, МАТ, АГГ, ЦБС та ЦГЛ, відповідно, на 16,2; 14,6; 13,3; 16,8; 18,4 %, тоді

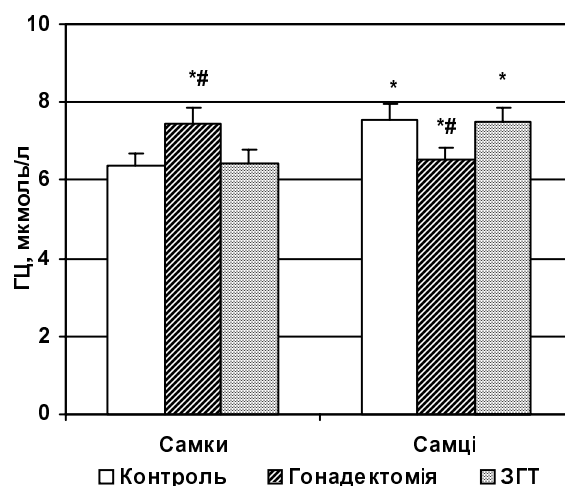


Рис. Вплив статі й різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на вміст ГЦ у сироватці крові (* – $p < 0,05$ між самцями та самками у відповідних групах; # – $p < 0,05$ відносно відповідної групи контролю).

Таблиця – Вплив статі й різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на активність ензимів метилування і транссульфування ГЦ у печінці ($M \pm m$, $n=15$)

Вті с, наї . е % д мкс-е м9С ухс е оемійзл9і %шке	Компне			Комт е		
	т9, і л9С. е	й9, о1%і 9м5е	г 0 е	т9, і л9С. е	й9, о1%і 9м5е	г 0 е
p0- е	8+16±0-06е	(~) 0±0-и0#е	8-6) ±0-08е	(~8, ±0-0, -е	8-68±0-0. -#е	(~) Н±0-0Н-е
- В е) ~ 0±0-и0е	8~) и±0-ии#е) ~ (±0-иНе	8~) 8±0-и8-е) ~80±0-и(-#е	8~) 8±0-и(-е
В00е	8+Н) ±0-и) е	(~ии±0-ии#е	8+Н8±0-и8е	(~иН±0-и(-е	8-60±0-и8-#е	(~и6±0-и) -е
/ рКе	и(-8±0~ 6е	и. ~8±0-6. #е	иН) ±0~. , е	и8+Н±0-8и-е	иН(- ±0~ 8-#е	и8-и±0-8Н-е
/ 00е	иН~ ±0-8иe	и, ~8±0-80#е	и6~) ±0~(0е) 0-и±0~) (-е	и6~) ±0-88-#е	и, ~Н±0-86-е

Примітки:

- 1) * – $p < 0,05$ відносно відповідної групи тварин протилежної статі;
- 2) # – $p < 0,05$ відносно відповідної групи контролю.

як тестектомія самців викликала підвищення їх активності на 18,0; 18,9; 16,8; 20,3; 22,9 % відносно групи псевдооперованих щурів. За цих умов у печінці кастрованих самок реєстрували достовірно нижчу активність ГЦ-метаболізуючих ензимів порівняно з групою гонадектомованих самців. Проведення замісної гормонотерапії кастрованим тваринам обох статей відновлювало гендерні відмінності метаболізму ГЦ у печінці щурів. При цьому активність процесів метилування і транссульфування в печінці самців і самок статистично достовірно не відрізнялася від такої у відповідній групі контролю.

Таким чином, у ході досліджень встановлено, що в організмі тварин обох статей існували достовірні відмінності метаболізму ГЦ. Виявлено, що в самок вміст ГЦ у сироватці крові та активність ГЦ-метаболізуючих ензимів у печінці були достовірно вищими, ніж у самців. Показано, що важливим чинником, який забезпечує реалізацію статевих відмінностей метаболізму ГЦ у печінці щурів, є рівень статевих гормонів. Так, високий вміст естрогенів і низький рівень тестостерону асоціювалися з низьким рівнем гомоцистеїну та високою активністю ензимних систем метилування і транссульфування, тоді як високий рівень тестостерону та дефіцит естрогенів – з високим рівнем гомоцистеїну та низькою активністю ГЦ-метаболізуючих ензимів.

Виникає питання щодо молекулярних механізмів, які лежать в основі регуляторного впливу статевих гормонів на активність ензимів метаболізму ГЦ. Важливе місце в регуляції метаболізму ГЦ у печінці належить S-аденозилметіоніну, який утворюється з метіоніну в реакції, каталізованій МАТ. Відомо, що цей метаболіт є негативним алостеричним ефектором метилентетрагідрофолатредуктази та позитивним модулятором цистатіонін-β-синтази [2, 8]. Ми показали, що за умов дефіциту естрогенів та надлишку тестостерону знижувалась активність МАТ, що призводило до нако-

пичення S-аденозилметіоніну, зменшення активності ЦБС і катаболізму ГЦ у шляху транссульфування. Оскільки в реакціях транссульфування відбувається утилізація приблизно 70–80 % усього ГЦ [2, 8], можна стверджувати, що пригнічення їх активності є однією з важливих причин підвищення рівня ГЦ у сироватці крові щурів.

Відомо, що деякі ферменти обміну ГЦ (а саме БГМТ, ЦБС) є редокс-чутливими [8, 15], тобто їх активність регулюється на посттрансляційному рівні шляхом модифікації сульфгідрильних груп їх активних центрів реакційно-здатними формами кисню чи іншими тіолами. За умов надлишку тестостерону чи дефіциту естрогенів створюються умови для накопичення активних кисневих радикалів, які можуть ковалентно модифікувати вказані ензими і тому пригнічувати метаболізм ГЦ у шляхах транссульфування та метилування.

Можливо, депримує дія надлишку тестостерону та дефіциту естрогенів на активність ГЦ-метаболізуючих ензимів є наслідком їх регуляторного впливу на експресію відповідних генів [13, 14], адже відомо, що стероїдні гормони реалізують деякі зі своїх біологічних ефектів через цитозольні рецептори шляхом впливу на транскрипцію певних генів і, відповідно, синтезу білків.

ВИСНОВКИ. 1. У самок щурів контрольної групи вміст ГЦ у сироватці крові на 18,5 % менший, тоді як активність ензимів метилування і транссульфування ГЦ у печінці на 18–28 % вища, ніж у самців.

2. Гонадектомія тварин обох статей змінює вектор статевих відмінностей метаболізму ГЦ: у кастрованих самок реєструють достовірно вищий вміст ГЦ у сироватці крові та вірогідно нижчу активність ГЦ-метаболізуючих ензимів у печінці порівняно з кастрованими самцями.

3. Замісна гормонотерапія, проведена кастрованим тваринам, відновлює характер статевих відмінностей процесів транссульфу-

вання і метилування ГЦ; рівень ГЦ у сироватці крові та активність ГЦ-метаболізуючих ензимів

достовірно не відрізняються від таких у контрольній групі тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив гострої метіонінової гіпергомоцистеїнемії на утворення гідроген сульфід у органах щурів та його корекція комплексом вітамінів B₆, B₉, B₁₂ / Н. В. Заїчко, І. І. Андрушко, А. В. Мельник, О. І. Штатко // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2009. – № 4. – С. 29–35.
2. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, І. І. Андрушко, К. П. Постовітенко // Укр. біохім. журн. – 2003. – 75, № 1. – С. 5–17.
3. Ali B. H. Sex difference in the susceptibility of rats to gentamicin nephrotoxicity: influence of gonadectomy and hormonal replacement therapy / B. H. Ali, T. H. Ben Ismail, A. A. Basir // Indian Journal of Pharmacology. – 2001. – 33. – P. 369–373.
4. Aloisi A. M. Gonadectomy affects hormonal and behavioral responses to repetitive nociceptive stimulation in male rats / A. M. Aloisi, I. Ceccarelli, P. Fiorenzani // Ann. N Y. Acad. Sci. – 2003. – 1007. – P. 232–237.
5. Chiang P. K. Activation of methionine for transmethylation. Purification of the S-adenosylmethionine synthetase of bakers' yeast and its separation into two forms / P. K. Chiang, G. L. Cantoni // J. Biol. Chem. – 1977. – 252, №13. – P. 4506–4513.
6. Endogenous sex steroids and circulating homocysteine in healthy Greek postmenopausal women [Text] / G. E. Christodoulakos, I. V. Lambrinouadaki, D. A. Rizos [et al.] // Hormones. – 2006. – 5. – P. 35–41.
7. Ericson L. E. Betaine-homocysteine methyltransferases. III. The methyl donor specificity of the transferase isolated from pig liver / L. E. Ericson // Acta. Chem. Scand. – 1960. – 14. – P. 2127–2134.
8. Finkelstein J. D. Homocysteine: A History in Progress / J. D. Finkelstein // Nutrition Reviews. – 2000. – 58, № 7. – P. 193–204.
9. Goldstein J. L. Cystathionine synthase activity in human lymphocytes: induction by phytohemagglutinin / J. L. Goldstein, B. K. Campbell, S. M. Gartler // J. Clin. Invest. – 1972. – 51, №4. – P. 1034–1037.
10. Heinonen K. Studies on cystathionase activity in rat liver and brain during development. Effects of hormones and amino acids in vivo / K. Heinonen // Biochem. J. – 1973. – 136, № 4. – P. 1011–10155.
11. Involvement of calcitonin gene-related peptide in elevation of skin temperature in castrated male rats / M. Yuzurihara, Y. Ikarashi, M. Noguchi, Y. Kase // Urology. – 2003. – 62, № 5. – P. 947–951.
12. Isa Y. Effect of vitamin B6 deficiency on S-adenosylhomocysteine hydrolase activity as a target point for methionine metabolic regulation / Y. Isa, H. Tsuge, T. Hayakawa // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2006. – 52, № 5. – P. 302–306.
13. Khalil R. A. Sex Hormones as Potential Modulators of Vascular Function in Hypertension / R. A. Khalil // Hypertension. – 2005. – 46. – P. 249–253.
14. Kienitz T. Testosterone and blood pressure regulation / T. Kienitz, M. Quinkler // Kidney Blood Press Res. – 2008. – 31, № 2. – P. 71–79.
15. Millian N. S. Human betaine-homocysteine methyltransferase is a zinc metalloenzyme / N. S. Millian, T. A. Garrow // Arch. Biochem. Biophys. – 1998. – 356, № 1. – P. 93–98.

А. В. Мельник, Н. В. Заїчко, Н. І. Волощук
ВИННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ Н. І. ПИРОГОВА

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕТАБОЛИЗМА ГОМОЦИСТЕИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС

Резюме

В работе исследовано влияние пола и разного уровня насыщенности организма крыс половыми гормонами на содержание гомоцистеина в сыворотке крови и активность энзимов, принимающих участие в его метаболизме в печени. Показано, что у самцов содержание гомоцистеина в сыворотке крови достоверно выше, а активность энзимов метилирования и транссульфурирования гомоцистеина в печени достоверно меньше, чем у самок. Гонадэктомия снижает выраженность половых различий метаболизма гомоцистеина

в печени, в то время как проведение заместительной гормонотерапии восстанавливает гендерный диморфизм в обмене этой серосодержащей аминокислоты у крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пол, гомоцистеин, энзимы транссульфурирования и метилирования, печень, крысы.

A. V. Melnyk, N. V. Zaichko, N. I. Voloshchuk
M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

SEX-RELATED DIFFERENCES OF HOMOCYSTEINE METABOLISM IN RAT LIVER

Summary

Sex-related differences in enzymes activity of homocysteine hepatic metabolism and plasma homocysteine concentrations of rats at modulation of sex hormones saturation in organism were investigated. It was shown that plasma homocysteine concentrations was significantly higher but activity of methylation and transsulfuration hepatic enzymes was significantly lower in male rats than in female rats. Gonadectomy decreased sex-related differences of homocysteine hepatic metabolism but hormone replacement therapy restored gender dimorphism of homocysteine metabolism in rat.

KEY WORDS: **gender, liver, homocysteine, methylation and transsulfuration enzymes, rats.**

Отримано 11.12.12

Адреса для листування: А. В. Мельник, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ВПЛИВ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Активізація пероксидного окиснення ліпідів на фоні харчової депривації на 5-ту добу експерименту в щурів призводить до зміни активності ферментної ланки системи антиоксидантного захисту, що проявляється напруженням захисних механізмів протягом перших трьох діб та виснаженням антиоксидантних резервів у крові й гомогенаті печінки через 5 діб аліментарного голодування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: харчова депривація, пероксидне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту.

ВСТУП. Реакція організму тварини на харчову депривацію значною мірою залежить від ступеня метаболічних процесів у тканинах й органах, які спрямовані на забезпечення гомеостазу та адаптації при дії екстремального фактора. Неминучими є зміни у функціонуванні органів і тканин при аліментарному голодуванні, які викликають перебудову метаболізму клітини. Аналіз літератури показав, що при харчовій депривації відбувається порушення білкового обміну, яке проявляється достовірним зниженням вмісту загального білка в тканині печінки, серця і м'язів, порушенням вуглеводного метаболізму, що характеризується зменшенням рівня глікогену, глюкози, активності ферментів пентозофосфатного шляху, гліколізу, гліоксилатного циклу та рядом інших порушень [2, 5]. Враховуючи те, що зміни у харчовому статусі потребують відносно швидкої адаптації метаболізму, важливим є дослідження регуляторних механізмів. При цьому печінка відіграє головну роль у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу. Дослідження, проведені іншими авторами, вказують на те, що зменшення калорійності їжі на 30–40 % сприяє зниженню оксидативного стресу в експериментальних тварин [10–13], проте є лише окремі дані щодо розвитку оксидативного дисбалансу за умов повного харчового голодування при достатньому доступі до води, що зумовлює актуальність цього дослідження.

Тому метою даного дослідження було вивчити вплив харчової депривації на показ-

ники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в плазмі крові та гомогенаті печінки у динаміці.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 38 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Тварин поділили на шість груп: 1-ша – контрольна; 2-га – харчова депривація тривалістю 24 год; 3-тя – харчова депривація тривалістю 2 доби; 4-та – харчова депривація тривалістю 3 доби; 5-та – харчова депривація тривалістю 5 діб; 6-та – харчова депривація тривалістю 7 діб. Харчову депривацію у тварин викликали шляхом їх утримання в умовах повного харчового голодування при достатньому доступі до води [2, 5].

Через 24 год, 2, 3, 5 та 7 діб проводили евтаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Кров для дослідження брали з порожнини серця. Визначали в гомогенатах тканин печінки та плазмі крові концентрацію дієнових (ДК) і триєнових кон'югатів (ТК), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) пероксидного окиснення ліпідів [1], активність супероксиддисмутази (СОД) [3] і каталази [4].

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що моделювання харчової депривації у щурів змінює прооксидантно-антиоксидантний баланс у сторону розвитку оксидативного стресу. Встановлено, що на фоні аліментарного голодування протягом перших трьох діб рівень ПОЛ практично не відрізнявся від такого в контрольній групі, тоді як у 5-й експериментальній групі рівень первинних і вторинних продуктів ПОЛ перевищував дані контролю ($p < 0,01$) та показники попередньої групи: ДК – у середньому на 14,1 %, ТК – на 38,6 %, ТБК-АП – на 11,9 % ($p < 0,05$). Через 7 діб моделювання у тварин харчової депривації встановлено максимально високі результати порівняно з іншими дослідними групами. Так, рівень ДК у середньому перевищував дані контрольної групи ($p < 0,001$) на 57 %, ТК – на 78 % та вміст ТБК-АП – на 35 %. Порівнюючи отримані результати у 5-й і 6-й експериментальних групах, ми встановили достовірне зростання в плазмі крові через 7 діб ДК до $(1,67 \pm 0,04)$ мкмоль/л, ТК – до $(1,83 \pm 0,05)$ мкмоль/л та ТБК-АП – до $(4,92 \pm 0,16)$ мкмоль/л порівняно з даними на 5-ту добу ($p < 0,05$).

При зіставленні динаміки первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі крові виявлено односпрямовані їх зміни, що проявлялися зростанням ПОЛ у 5-й групі та продовженням поглиблення оксидативного стресу до кінця 7-ї доби у тварин при моделюванні харчової депривації (рис. 1).

Потрібно зауважити значиміше зростання первинних продуктів ПОЛ, порівняно з ТБК-АП, у плазмі крові експериментальних тварин при аліментарному голодуванні.

Дані, отримані на експериментальній моделі харчової депривації, вказують на те, що

активація ПОЛ у плазмі крові залежить від тривалості аліментарного голодування.

Проведений аналіз досліджуваних показників ПОЛ у гомогенаті печінки показав таку ж тенденцію, що й у плазмі крові. При цьому відмічали достовірне зростання у гомогенаті печінки щурів при харчовій депривації в 5-й дослідній групі стосовно отриманих результатів попередньої групи і даних контролю. Так, рівень ДК був більшим на 43 %, ТК – на 45 % і ТБК-АП – на 10 % відносно показників попередніх груп дослідження ($p < 0,05-0,001$). Через 7 діб моделювання у тварин харчової депривації встановлено максимально високі результати в гомогенаті печінки порівняно з іншими дослідними групами. Так, рівень ДК у середньому перевищував дані контрольної групи ($p < 0,001$) на 62 %, ТК – на 61 % та вміст ТБК-АП – на 21 %. Порівнюючи отримані результати у 5-й і 6-й експериментальних групах, ми встановили достовірне зростання в гомогенаті печінки через 7 діб ДК до $(2,35 \pm 0,06)$ мкмоль/л, ТК – до $(2,53 \pm 0,05)$ мкмоль/л та ТБК-АП – до $(6,49 \pm 0,05)$ мкмоль/л порівняно з даними на 5-ту добу ($p < 0,05$).

При зіставленні динаміки первинних і вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки виявлено односпрямовані їх зміни, що проявлялися зростанням оксидативного стресу через 5 діб експерименту, який досягав максимуму в 5-й дослідній групі тварин при моделюванні харчової депривації (рис. 2).

Потрібно зауважити, що рівень досліджуваних показників ПОЛ як у контрольній, так і в дослідних групах був достовірно вищим у гомогенаті печінки на відміну від плазми крові.

Активація ПОЛ у печінці може бути зумовлена розвитком стресорної реакції. Стрес є відображенням усіх адаптаційних реакцій

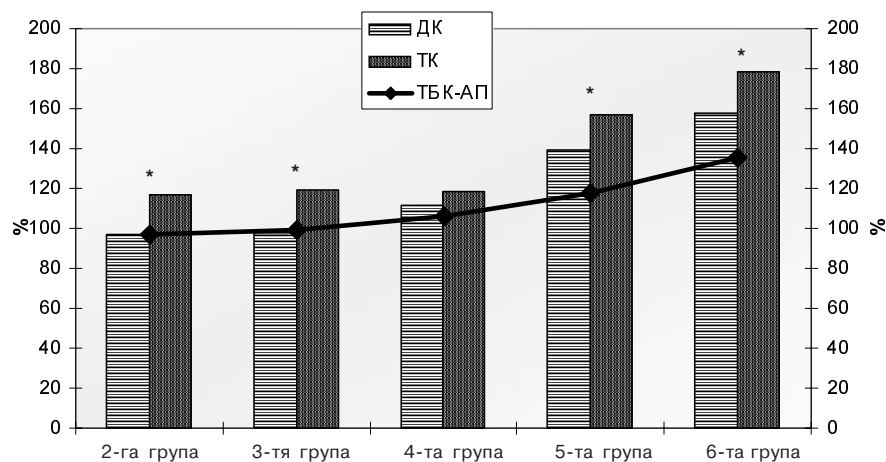


Рис. 1. Динаміка первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між первинними і вторинними продуктами ПОЛ у межах однієї групи, $p < 0,05$).

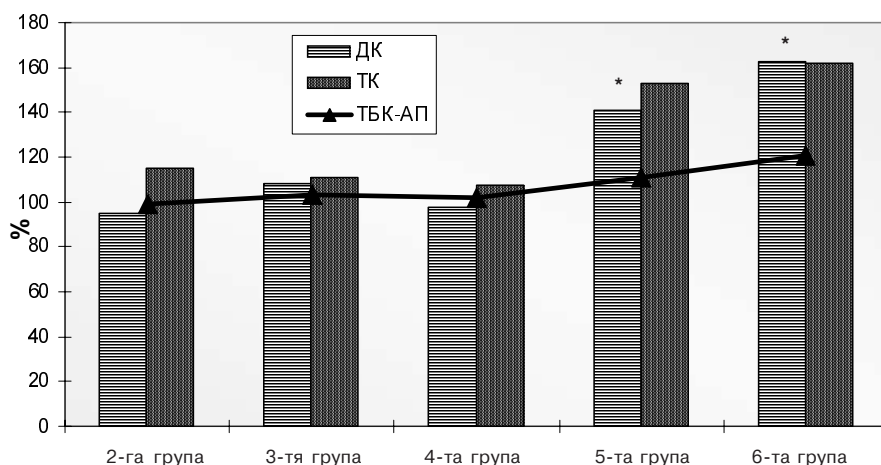


Рис. 2. Динаміка первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті печінки щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між первинними і вторинними продуктами ПОЛ у межах однієї групи, $p < 0,05$).

організму, що виникають у відповідь на певний подразник (у нашому дослідженні це харчова депривація), та направлений на реалізацію пристосувальних механізмів [7]. При цьому стресова реакція проявляється зростанням катехоламінів, які активують ПОЛ [6]. З іншого боку, зменшення доставки кисню до органів шлунково-кишкового тракту, в тому числі й до печінки, зумовлює розвиток гіпоксії, при якій теж відбувається активація ПОЛ.

Відомо також, що за умов харчової депривації порушується гомеостаз глюкози, внаслідок чого знижується рівень інсуліну та підвищується рівень глюкагону. Зменшений рівень інсуліну призводить до зниження регуляції глюконеогенезу, а зменшений рівень глюкагону стимулює розпад глікогену та зростання рівня глюкози [8, 9]. Відомо, що підвищення рівня глюкози викликає збільшення продукції активних форм кисню та активацію вільнорадикального окиснення.

Активация ПОЛ на фоні харчової депривації в щурів може зумовлювати зміну активності ферментної ланки системи АОЗ, що було наступним етапом нашого дослідження. Встановлено, що у плазмі крові відбувалася активація СОД і каталази з максимумом на 3-тю добу, коли активність СОД досягала ($54,23 \pm 0,62$) ум. од., а каталази – ($54,30 \pm 0,76$) мкат/л. Дані величини достовірно відрізнялись від таких у попередній ($p < 0,05$) і контрольній експериментальних групах ($p < 0,001$). У 5-й дослідній групі відмічали вірогідне зниження активності досліджуваних ферментів у плазмі крові щурів на фоні харчової депривації ($p < 0,001$). Так, активність СОД зменшилася через 5 днів на 11,5 %, каталази – на 18,9 % відносно аналогічних показників на 3-тю добу. При дослідженні ферментної ланки АОЗ через 7 днів експерименту

виявлено найнижчі параметри серед усіх груп спостереження. При цьому активність СОД становила ($44,28 \pm 0,59$) ум. од., що на 9,0 % менше, ніж у попередній групі ($p < 0,001$). Активність каталази в 6-й дослідній групі складала ($41,92 \pm 0,91$) мкат/л, що на 10,2 % менше від аналогічного показника на 5-ту добу ($p < 0,01$). Варто також зазначити, що активність каталази в 3–6 експериментальних групах достовірно перевищувала активність СОД ($p < 0,05$) (рис. 3).

При дослідженні ферментної ланки системи АОЗ у гомогенаті печінки щурів на фоні харчової депривації виявлено таку ж тенденцію, як у плазмі крові. Встановлено достовірне зростання досліджуваних показників протягом перших трьох діб експерименту, коли активність СОД перевищувала дані контролю на 25,8 %, каталази – на 60,9 %. Проте вже через 5 діб харчової депривації відбувалося достовірне зниження активності досліджуваних ферментів, зокрема СОД досягала ($50,48 \pm 1,14$) ум. од., а каталаза – ($38,88 \pm 0,61$) мкат/кг. Дані, отримані на моделі харчової депривації, показали, що в щурів протягом 7-ми діб за умов повного голодування виснажувались антиоксидантні резерви, при цьому активність СОД і каталази у гомогенаті печінки була найнижчою. Потрібно зауважити, що активність каталази у всіх групах моделювання харчової депривації була достовірно вищою від активності СОД ($p < 0,05$) (рис. 3).

За умов харчової депривації, завдяки змінам функціональної активності печінки, збільшується антиоксидантний потенціал плазми крові за рахунок СОД і каталази. Це, у свою чергу, сприятливо впливає на функціональний стан печінки завдяки збереженню киснетранспортної функції крові, зменшенню ступеня мікроциркуляторних порушень та рівня

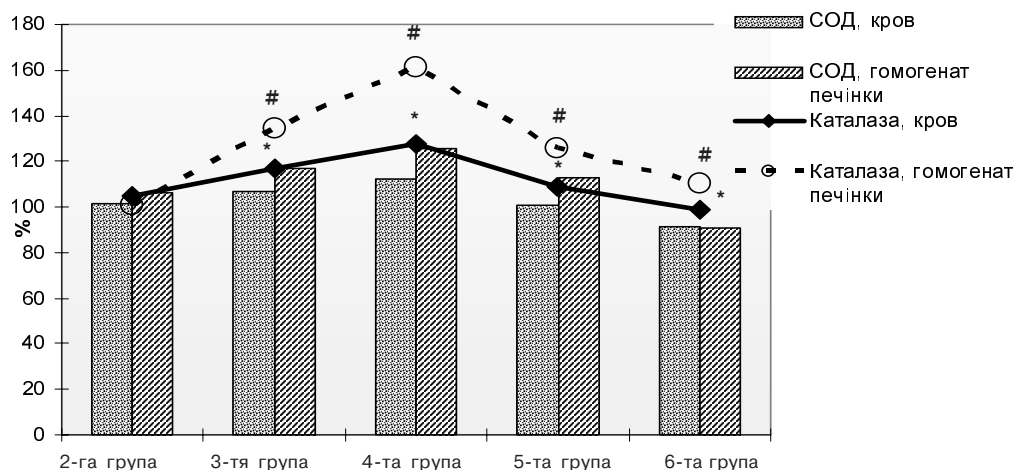


Рис. 3. Динаміка показників ферментної ланки антиоксидантного захисту в плазмі крові й гомогенаті печінки щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між супероксиддисмутазою і каталазою у межах однієї групи в плазмі крові; # – достовірність різниці між супероксиддисмутазою і каталазою у межах однієї групи в гомогенаті печінки, $p < 0,05$).

тканинної гіпоксії печінки. Подібні позитивні зміни компонентів антиоксидантного захисту сприяють адаптації і виживанню клітин у несприятливих умовах протягом перших трьох діб, проте через 5 діб аліментарного голодування відбувається виснаження антиоксидантних резервів у крові та гомогенаті печінки.

ВИСНОВКИ. 1. За умов харчової депривації у щурів через 5 діб моделювання активується вільнорадикальне окиснення, що проявляється достовірним зростанням первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові та гомогенаті печінки.

2. Активація пероксидного окиснення ліпідів на фоні харчової депривації у щурів зумовлює зміну активності ферментної ланки системи антиоксидантного захисту, що проявляється напруженням захисних механізмів протягом перших трьох діб та виснаженням антиоксидантних резервів у крові й гомогенаті печінки через 5 діб аліментарного голодування.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується дослідити механізми дії медикаментозних середників на пероксидне окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту за умов харчової депривації.

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. Влияние пищевой депривации на углеводный метаболизм в органах и тканях крыс / Т. А. Косматых, М. Ю. Шевченко, В. Н. Попов, А. Т. Епринцев // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология. – 2001. – № 2. – С. 118–120.
3. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – 280 с.
4. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Марчишин С. М. Дослідження анаболічної дії екстракту пірію повзучого на моделі харчової депривації / С. М. Марчишин // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 4. – С. 85–87.
6. Нестеров Ю. В. Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободнорадикальные процессы в легких и печени белых крыс / Ю. В. Нестеров, А. С. Чумакова, Н. В. Турченко // Естественные науки. – 2010. – № 3. – С. 122–126.
7. Чумакова А. С. Изменение свободнорадикальных процессов в различных органах крыс разного возраста при остром стрессе / А. С. Чумакова, Д. Л. Теплый, Ю. В. Нестерова // Биологические исследования. – 2009. – № 4. – С. 34–37.
8. Authier F. Glucagon receptors / F. Authier, B. Desbuquois // Cell Mol. Life Sci. – 2008. – 65 (12). – P. 1880–1899.
9. Behavioral and biochemical effects of various food-restriction regimens in the rats / P. Marinković, V. Pesić, N. Loncarević [et al.] // Physiol. Behav. – 2007. – 92 (3). – P. 492–499.
10. Caloric Restriction decreases mitochondrial free

radical generation at complex I and lowers oxidative damage to mitochondrial DNA in the rat heart / R. Gredilla, A. Sanz, M. Lopez-Torres, G. Barja // FASEB J. – 2001. – 15 (9). – P. 1589–1591.

11. Calorie restriction improves cardiovascular risk factors via reduction of mitochondrial reactive oxygen species in type 2 diabetic rats / Y. Minamiyama, Y. Bito, S. Takemura [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 2007. – 320 (2). – P. 535–543.

12. Dietary restriction at old age lowers mitochondrial oxygen radical production and leak at complex I and oxidative DNA damage in rat brain / A. Sanz, P. Caro, J. Ibanez [et al.] // J. Bioenerg. Biomembr. – 2005. – 37 (2). – P. 83–90.

13. Zheng J. Calorie restriction delays lipid oxidative damage in *Drosophila melanogaster* / J. Zheng, R. Mutcherson II, S. L. Helfand // Aging Cell. – 2005. – 4 (4). – P. 209–216.

Н. В. Гембаровский, И. Н. Клищ, М. И. Марущак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Резюме

Активация пероксидного окисления липидов на фоне пищевой депривации на 5 сутки эксперимента у крыс приводит к изменению активности ферментного звена системы антиоксидантной защиты, что проявляется напряжением защитных механизмов на протяжении первых трех суток и истощением антиоксидантных резервов в крови и гомогенате печени через 5 суток алиментарного голодания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пищевая депривация, пероксидное окисление липидов, система антиоксидантной защиты.

M. V. Hembarovsky, I. M. Klishch, M. I. Marushchak
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF FOOD DEPRIVATION ON LIPID PEROXIDATION INDICES AND ANTIOXIDANT STATUS IN RAT LIVER

Summary

Activation of lipid peroxidation in rats with food deprivation on the 5th day of the experiment leads to the change of the enzyme antioxidant activity level, which is manifested stress defense mechanisms during the first three days, and the depletion of antioxidant reserves in the blood and liver homogenate after 5 days of nutritional starvation.

KEY WORDS: food deprivation, lipid peroxidation, antioxidant status.

Отримано 24.01.13

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

**ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ТАУРИНУ ТА ГЛІЦИНУ НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ
ЗА АЛОКСАНІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

Досліджено вплив таурину та гліцину на основні біохімічні показники крові щурів за алоксаніндукованого цукрового діабету. Обидві амінокислоти сприяли зниженню проявів негативних наслідків метаболічних змін, що були викликані алоксаном: суттєво зменшували підвищений рівень глюкози у сироватці крові, тригліцеридів та холестерину, впливали на співвідношення ліпопротеїнів, приводили до зниження рівня холестерину ліпопротеїнів низької щільності, рівня сечовини і креатиніну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет, алоксан, таурин, гліцин.

ВСТУП. Цукровий діабет (ЦД) – одна з найголовніших проблем медицини і належить до трійки захворювань, які найчастіше є причиною ранньої інвалідності й летальності серед населення практично у всіх країнах світу. ЦД супроводжується порушенням вуглеводного, ліпідного та білкового обміну, що призводить до формування цілої низки різноманітних ускладнень [1, 2, 4]. З огляду на мультифакторність патогенезу ЦД, найбільш доцільним вважають патогенетичний підхід до лікування цього захворювання, що передбачає застосування антидіабетичних засобів з різними механізмами дії. Проте, незважаючи на досить широкий арсенал сучасних антидіабетичних засобів, проблема реальної компенсації ЦД залишається невирішеною, що обґрунтовує пошук та створення ефективних і водночас малотоксичних антидіабетичних засобів.

З огляду на це, викликають інтерес таурин і гліцин, які інтенсивно використовуються поліферментними системами клітин печінки в процесах кон'югації з усіма наявними жовчаними кислотами і мають свій спектр впливу на організм тварин та людей [3, 6, 8, 10]. Зокрема, встановлено, що таурин в певних дозах може ефективно знижувати майже на третину рівень глюкози в крові піддослідних тварин [7, 9, 15], що важливо за умов захворювання на ЦД.

Обидві вищезгадані амінокислоти відіграють роль медіаторів у центральній нервовій системі та можуть бути задіяні як чинники нейрогуморальної регуляції зовнішньосекреторних функцій окремих органів тварин і людей.

© В. В. Полякова, Н. М. Данченко, С. П. Весельський, 2013.

Окрім цього, виявлено факт підвищеної втрати із сечею таурину організмом людини за умов захворювання на ЦД. У цілому це вказує на непрості регуляторні й метаболічні взаємозв'язки таурину та гліцину (синтез останнього тісно пов'язаний з вуглеводним обміном), зокрема при ЦД, і потребує подальшого експериментального дослідження.

З огляду на це, метою даної роботи було дослідити вплив таурину і гліцину на основні біохімічні показники крові щурів за умов індукованого алоксаном цукрового діабету.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на статевозрілих білих нелінійних щурах масою 200–220 г. Тварин утримували у виварії згідно із санітарними нормами і на стандартному харчовому раціоні. Всі експерименти виконували відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Модель експериментального цукрового діабету створювали шляхом одноразового підшкірного введення алоксану моногідрату в 5 % розчині ацетатного буфера з розрахунку 150 мг/кг маси тварин після попереднього 24-годинного голодування та з вільним доступом до води [5]. Щурів попередньо було поділено на чотири експериментальні групи: 1-ша – контрольна (інтактні); 2-га – тварини, які отримували навантаження алоксаном; 3-тя – тварини, які, крім навантаження алоксаном, отримували 1 раз на добу аліментарно per os таурин з розрахунку 1,4 мг/кг маси щурів; 4-та – тварини, які отримували гліцин з розрахунку

4,86 мг/кг маси щурів щодобово відразу після індукції діабету. На 9-ту добу щурів евтонізували методом декапітації.

У сироватці крові щурів визначали загальні біохімічні показники (вміст глюкози, сечовини, креатиніну) за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора "Flexor XL" ("Vital Scientifi", Нідерланди). Стан ліпідного обміну оцінювали за вмістом тригліцеридів (ТГ), загального холестерину (ЗХС), ліпопротеїнів високої, низької та дуже низької щільності (ЛПВЩ, ЛПНЩ і ЛПДНЩ).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм "Statistica 6.0", використовуючи критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Метаболічні порушення, що виникають при розвитку діабету, зумовлені інсуліновою недостатністю (цукровий діабет 1-го типу) або зміною механізму взаємодії інсуліну з клітинами організму (цукровий діабет 2-го типу) з наступним порушенням процесів утилізації глюкози і стійким збільшенням її рівня у крові [1].

Поширеною моделлю ЦД є алоксановий діабет. Алоксан вибірково уражає β -клітини підшлункової залози, що призводить до розвитку інсулінової недостатності різної тяжкості [5]. Внаслідок дефіциту інсуліну в організмі знижується проникність клітинних мембран для глюкози, спостерігаються гальмування процесу фосфорилювання глюкози (зменшення активності ферменту гексокінази) та її окиснення, уповільнення переходу вуглеводів у жири, надлишкова продукція їх у печінці (посилення гліконеогенезу з білка), підвищене виділення їх з печінки в кров (зростання активності ферменту глюкозо-6-фосфатази). Усі ці зміни призводять до неповної утилізації вуглеводів тканинами і зумовлюють появу гіперглікемії.

У результаті досліджень при визначенні вмісту глюкози в сироватці крові щурів з алоксаніндукованим ЦД ми встановили збільшення її рівня в 5,6 раза відносно показників інтактних тварин, що свідчить про виражену гіперглікемію після навантаження організму щурів алоксаном в апробованій дозі (табл.).

За умов розвитку діабету при недостатності інсуліну, незважаючи на високу концентрацію глюкози в крові, вона не проникає в клітини тканин (за винятком інсулінонезалежних органів), що спричиняє розвиток енергетичного дефіциту на клітинному рівні, й, усупереч наявності великої кількості енергетичних субстратів, виникає клітинне голодування. Саме це й активує резервні механізми енергозабезпечення. Послаблення гліколітичних процесів викликає переключення енергетики на ліпіди та білки, пригнічення циклу Кребса, посилення розпаду білків, зміни катаболізму ліпідів тощо.

Визначення біохімічних показників ліпідного обміну показало, що в крові тварин із моделлю алоксанового ЦД усі досліджені показники значно перевищували такі в інтактних тварин. Так, вміст ТГ збільшувався на 108,9 %, концентрація загального холестерину зростала на 46,8 %, холестерину ЛПНЩ – на 131,5 %, ЛПДНЩ – на 145 %. Гіперхолестеринемія, що розвивається при недостатності інсуліну, пояснюється надлишковим утворенням попередників для синтезу холестерину – ацетооцтової кислоти й ацетил-КоА внаслідок порушення ресинтезу їх у жирні кислоти та окиснення в циклі Кребса, а також, імовірно, його недостатнім розпадом. Порушення, які виникали на фоні інсулінової недостатності й пов'язані з підвищеним розпадом білка, що інтенсивно використовується у процесах гліконеогенезу, проявилися збільшенням рівня сечовини на 153 % та креатиніну – на 68 %.

Таблиця – Біохімічні показники крові алоксандіабетичних щурів за умов введення таурину та гліцину (n=5)

Показник	Контроль	ЦД	ЦД+таурин	ЦД+гліцин
Глюкоза, ммоль/л	6,28±0,31	35,78±2,87*	15,33±8,82 [#]	16,47±5,45*. [#]
Сечовина, ммоль/л	7,54±0,09	16,09±2,83*	10,50±1,02*. [#]	10,11±1,41 [#]
Креатинін, од/л	57,80±1,35	97,26±11,30*	68,63±9,55	59,27±2,63 [#]
Тригліцериди, ммоль/л	1,12±0,94	2,34±0,90*	1,86±0,66	1,09±0,16 [#]
Холестерин загальний, ммоль/л	1,39±0,03	2,04±0,18*	2,00±0,26	1,67±0,10
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	0,86±0,12	0,89±0,13	1,09±0,16	1,14±0,25
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	0,16±0,04	0,45±0,10*	0,20±0,11 [#]	0,10±0,01 [#]
Холестерин ЛПДНЩ, ммоль/л	0,51±0,04	1,25±0,07*	0,54±0,04	0,58±0,09

Примітки:

- 1) $p < 0,05$;
- 2) * – відносно контролю;
- 3) [#] – відносно моделі алоксанового діабету.

Для корекції метаболічних порушень за умов розвитку алоксаніндукованого цукрового діабету в наших дослідженнях було застосовано таурин і гліцин, які пов'язані з функцією печінки і беруть активну участь у кон'югації жовчних кислот, за рахунок чого можуть сприяти виведенню холестерину [10]. Таурин (внутрішньоклітинний метаболіт, продукт обміну сірковмісних амінокислот) відносять до речовин, які підвищують чутливість тканин до інсуліну і таким чином можуть впливати на обмін вуглеводів та ліпідів; пригнічуючи процеси пероксидного окиснення ліпідів, він проявляє мембраностабілізуючу дію, покращує енергетичні процеси в гепатоцитах [6, 9, 14].

У результаті досліджень за умов введення таурину і гліцину ми встановили, що в групах тварин із моделлю ЦД, які протягом 9-ти діб одержували амінокислоти, рівень глюкози знижувався, відповідно, на 57 та 54 % відносно показників групи щурів з алоксановим діабетом. Значення базальної глікемії при введенні речовин експериментальним тваринам хоча і були нижчими від показників у щурів з індукованим ЦД, але за зазначений термін експерименту не досягали рівня інтактних тварин.

Зміни показників ліпідного і білкового обміну також мали позитивну динаміку (табл.). При введенні гліцину рівень ТГ знижувався вдвічі, холестерину ЛПНЩ – у 4,5 раза, вміст сечовини за даних умов зменшувався на 38 %, а ЗХС – досягав значень інтактного контролю, при цьому спостерігалась тенденція до зростання холестерину ЛПВЩ порівняно з показниками у тварин із ЦД. Виявлений пози-

тивний вплив гліцину на деякі ланки ліпідного обміну, зокрема зниження рівня ТГ і холестерину ЛПНЩ, може бути одним з механізмів у реалізації його антигіперглікемічних властивостей.

За умов введення тваринам таурину протягом 9-ти діб після індукції діабету спостерігалась тенденція до зниження в сироватці крові концентрації ТГ, холестерину ЛПНЩ і ЛПДНЩ із незначним підвищенням вмісту холестерину ЛПВЩ, при цьому відбувалося зменшення вмісту загального креатиніну і сечовини на 30 та 35 % відповідно. Здатність таурину зменшувати рівень холестерину в крові й печінці щурів пояснюється його супресуючим ефектом на секрецію ТГ із печінки, що було показано при високохолестериновій дієті [12, 13]. Гепатопротекторні властивості таурину, здатність активувати метаболічні процеси в печінці, підвищувати її функціональну активність було встановлено за різних патологічних станів [6, 7, 12]. Механізм протекторної дії таурину пов'язують з його спроможністю спричиняти вплив на мембрану клітин [9].

ВИСНОВОК. Результати дослідження ефектів дії таурину та гліцину свідчать про те, що препарати загалом позитивно впливають на патогенез модельованого ЦД, сприяють зниженню проявів негативних наслідків метаболічних змін у піддослідних тварин, викликаних алоксаном, зменшують вміст глюкози в сироватці крові, впливають на певні ланки вуглеводного та ліпідного обміну в разі порушень обмінних процесів в організмі за умов ЦД.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаболкин М.И. Диагностика и классификация сахарного диабета / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская // Сахарный диабет. – 1999. – № 3. – <http://www.diabet.ru/Sdiabet/1999-03/3.htm>.
2. Дедов И. И. Сахарный диабет / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Универсум паблишинг, 2003. – 455 с.
3. Ощепкова О. М. Роль глицинэнергической стресслимитирующей системы в предупреждении стрессорных повреждений / О. М. Ощепкова, И. Ж. Семинский // Естествознание и гуманизм. – 2007. – 4, вып. 1. – С. 25–37.
4. Питер Дж. Уоткинс. Сахарный диабет=ABC of Diabetes / Питер Дж. Уоткинс ; пер. М. И. Балаболкина. – М. : Бином, 2006. – 134 с.
5. Розенберг П. А. Химические методы исследования биологических субстратов в профпатологии / П. А. Розенберг, Н. К. Бялко. – М. : Медицина, 1969. – С. 28–31.
6. Шейбак Л. Н. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих / Л. Н. Шейбак, В. М. Шейбак // Здоровоохранение. – 1996. – № 2. – С. 39–41.
7. Hansen S. H. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications / S. H. Hansen // Diabetes Metab. Res. Rev. – 2001. – 17. – P. 330–346.
8. Huxtable R. J. Physiological actions of taurin / R. J. Huxtable // Physiol. Rev. – 1992. – 72. – P. 101–163.
9. Ito Takashi. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications / Ito Takashi, S. W. Schaffer, J. Azuma // Amino Acids. – 2012. – 42(5). – P. 1529–1539.

10. Matern S. // Metabolism and conjugation of bile acids in man / S. Matern, H. Marschall. – Munich. – 1995. – P. 128–135.

11. Nakaya Y. Taurine improves insulin sensitivity in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous type 2 diabetes / Y. Nakaya, A. Minami, N. Harada // Amer. J. Clin. Nutr. – 2000. – **71**. – P. 54–58.

12. Nanami K. Antihypercholesterolemic action of taurine on streptozotocin-diabetic rats or on rats fed a high cholesterol diet / K. Nanami, H. Oda, H. Yokogoshi // Adv. Exp. Med. Biol. – 1996. – **403**. – P. 561–568.

13. Park T. Dietary taurine supplementation reduces plasma and liver cholesterol and triglyceride levels in rats fed a high-cholesterol or a cholesterol-free diet / T. Park, K. Lee // Adv. Exp. Med. Biol. – 1998. – **442**. – P. 319–325.

14. Schaffer S. W. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes / S. W. Schaffer, J. Azuma, M. Mozaffari // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2009. – **87**. – P. 91–99.

15. Taurine supplementation and diabetes mellitus / F. Franconi, A. Loizzo, G. Ghirlanda, G. Seghieri // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2006. – **9**. – P. 32–36.

В. В. Полякова, Н. Н. Данченко, С. П. Весельский
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТАУРИНА И ГЛИЦИНА НА ОРГАНИЗМ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНИНДУЦИРОВАННОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Резюме

Исследовано влияние таурина и глицина на основные биохимические показатели крови крыс при индуцированном аллоксаном сахарном диабете. Обе аминокислоты способствовали снижению проявлений негативных последствий метаболических изменений, вызванных аллоксаном: существенно уменьшали повышенный уровень глюкозы в сыворотке крови, триглицеридов и холестерина, оказывали влияние на соотношение липопротеинов, приводили к снижению уровня холестерина липопротеинов низкой плотности, мочевины и креатинина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, аллоксан, таурин, глицин.

V. V. Poliakova, N. M. Danchenko, S. P. Veselskyi
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

FEATURES OF THE EFFECT OF TAURINE AND GLYCINE IN THE BODY OF RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Summary

The effect of taurine and glycine on the basic biochemical parameters blood of rats with alloxan-induced diabetes was investigated. Both amino acids contributed to the reduction of adverse metabolic changes that were called alloxan: reduced the elevated levels of serum glucose, of urea and creatinine, triglycerides and cholesterol levels, to influence the ratio of lipoproteins, by lowering LDL.

KEY WORDS: diabetes mellitus, alloxan, taurine, glycine.

Отримано 07.12.12

Адреса для листування: В. В. Полякова, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, проспект академіка Глушкова, 2, корп. 12, Київ, 03022, Україна, e-mail: litika@ukr.net.

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНИМ СИНДРОМОМ

Досліджено вплив двох експериментальних моделей гепатопульмонального синдрому на показники системи антиоксидантного захисту крові у щурів. Встановлено істотні порушення стану ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи у тварин обох експериментальних груп, що вказує на виснаження антиоксидантного потенціалу крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гепатопульмональний синдром, антиоксидантна система, кров.

ВСТУП. Хронічні дифузні захворювання печінки є однією з актуальних проблем сучасної медицини. За даними ВООЗ, 40–60 % хронічних захворювань печінки асоційовані з вірусним гепатитом С, 10–15 % – з вірусним гепатитом В; 57 % випадків цирозу печінки і 78 % випадків первинного раку печінки зумовлені хронічними вірусними гепатитами. Кількість випадків захворювання на вірусний гепатит С за останні десять років збільшилась на 92 %, а смертність при хронічних дифузних захворюваннях печінки зросла за цей період на 126 % [1, 5, 9, 21].

Прогресивно зростає також кількість ускладнень хронічних дифузних захворювань печінки, в тому числі й з боку дихальної системи, які проявляються артеріальною гіпоксемією, що було названо гепатопульмональним синдромом (ГПС) [30]. Тому збільшується актуальність ціленаправлених експериментальних досліджень патогенетичних механізмів розвитку захворювань печінки та їх ускладнень.

Дослідження зарубіжних авторів [24, 31] та наші власні дослідження патогенетичних ланок ГПС [14] вказують на достовірну інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків.

Для нейтралізації надлишкового ПОЛ і підтримання стаціонарної внутрішньоклітинної концентрації вільних радикалів та ліпопероксидів у організмі існують ферментні й неферментні системи антиоксидантного захисту

(АОЗ) [8, 11]. Перша представлена супероксиддисмутазою, каталазою, глутатіонпероксидазою. До другої належать церулоплазмін, каротин, гістидин, α -токоферол, вітаміни К, С, Р, тіолові сполуки, стеарини, трансфери, ендогенний етанол, метанол. Крім того, виділяють три ступені АОЗ: антикисневу, антирадикальну й антипероксидну. Антикисневий ступінь відбувається за рахунок активності дихальних ферментів та спеціальної групи сполук, які депонують надмірний кисень. У цьому етапі захисту насамперед беруть участь ферменти дихального ланцюга, які конкурують за кисень. Друга лінія захисту – антирадикальна – здійснюється завдяки супероксиддисмутазі (СОД), глутатіонредуктазі, α -токоферолу, церулоплазмину, вітамінам А і С. Антипероксидну функцію виконують каталаза і глутатіонпероксидаза, що розщеплюють гідро- і ліпоперокси, які утворюються в надлишку, запобігаючи автокаталітичному посиленню процесів ПОЛ [8].

Тому метою даного дослідження було вивчити функціональний стан системи АОЗ у крові щурів за умови модельованого гепатопульмонального синдрому.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 48 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. Першу експериментальну модель гепатопульмонального синдрому ми створювали шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчовивідну протоку і подальшого її пересічення скальпелем [25]. Тварин анестезували внутрішньочеревним введенням

ням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Виконавши розріз під мечоподібним відростком, загальну жовчовивідну протоку відділяли від розташованих поруч тканин, наклали подвійну лігатуру вище і нижче місця планованого перетину. Потім загальну жовчовивідну протоку пересікали скальпелем. У тварин контрольної групи № 1 загальну жовчовивідну протоку відділили від тканин, але не пересікали. Післяопераційну рану пошарово наглухо зашивали. На 31-шу добу після операції тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Другу експериментальну модель ГПС було створено шляхом восьмитижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину CCl_4 (400 г на 1 л) в дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварини в перший день експерименту, 0,3 мл на 100 г на третій день експерименту, 0,3 мл на 100 г кожного третього дня до закінчення експерименту. Додатково в раціон щурів було введено суміш кукурудзяної муки, смальцю і холестеролу та розчин алкоголю. Тварини контрольної групи № 2 перебували на стандартному раціоні віварію та отримували внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [29].

Утримували тварин та проводили експерименти відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [27].

Дослідженню підлягали плазма крові та супернатант гемолізатів еритроцитів.

Для вивчення системи АОЗ було використано біохімічні методи визначення СОД [20], каталази [15], церулоплазміну [3], сульфгідрильних груп (SH-груп) [26]. Загальну антиоксидантну активність плазми крові (ЗААП) визначали за методом J. Stock [23]. Розраховували співвідношення СОД/каталаза, яке дає кількісну характеристику збалансованості антиоксидантних процесів [6]. Обчислювали інтегративний індекс Ф як співвідношення $(СОД \times \text{каталаза}) / \text{ТБК-активні продукти}$, який характеризує співвідношення прооксидантних та антиоксидантних властивостей крові [19].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Еритроцити, тісно контактуючи з усіма тканинами і вступаючи з ними в морфологічну взаємодію, власною якісною та кількісною перебуваючою відображають фізіологічні й патологічні зміни, які відбуваються в організмі. Поліфунк-

ціональна роль еритроцитів у механізмах адаптації і компенсації за умов гіпоксії, газотранспортних процесах і здійсненні інших життєво важливих функцій пояснює високу інформативність результатів вивчення функціональних змін у цих клітинах [10]. Це спонукало нас дослідити показники ферментної ланки АОЗ у супернатанті гемолізатів еритроцитів.

Головною і першорядною перешкодою на шляху утворення активних форм кисню є СОД, що містить у своєму активному центрі мідь, цинк або марганець. Цей фермент каталізує реакцію дисмутації, тобто взаємодію двох супероксидних радикалів кисню між собою, в результаті чого утворюються менш токсичний гідроген пероксид і кисень. За фізіологічних умов гідроген пероксид, що утворився, використовується для синтезу гіпохлориту, який має антибактеріальні властивості, а надлишок H_2O_2 розкладається каталазою і глутатіонпероксидазою. Крім того, захоплюючи супероксид-аніон і зменшуючи тим самим його концентрацію, СОД перешкоджає взаємодії супероксиду з оксидом азоту й утворенню токсичного пероксинітриду [4, 7].

У щурів першої експериментальної групи (на 31-шу добу після перев'язування загальної жовчовивідної протоки) ми зафіксували зниження активності СОД в супернатанті гемолізатів еритроцитів на 60,2 % ($p < 0,001$) відносно тварин контрольної групи № 1 (табл), у щурів другої експериментальної групи (після восьмитижневого введення тетрахлорметану) – на 51 % ($p < 0,001$) стосовно тварин контрольної групи № 2. При порівнянні активності вищевказаного ензиму в супернатанті гемолізатів еритроцитів тварин обох експериментальних груп ми встановили її переважання на 8,9 % ($p < 0,05$) у щурів після восьмитижневого введення тетрахлорметану.

Оскільки підвищення в клітині концентрації H_2O_2 , що утворився в результаті супероксид-дисмутаційної і ряду інших реакцій, становить для клітини не меншу небезпеку, ніж збільшення супероксид-аніонів, необхідна його постійна інактивація в реакції, що каталізується каталазою. Особливістю ферменту є те, що він володіє як каталазою, так і пероксидазою активністю. Каталаза міститься практично у всіх тканинах, особливо багато її в клітинах печінки, нирок та еритроцитах [7].

У щурів першої експериментальної групи ми зафіксували зниження активності каталази в супернатанті гемолізатів еритроцитів на 42 % ($p < 0,001$) відносно тварин контрольної групи № 1, у щурів другої експериментальної групи – на 35 % ($p < 0,001$) стосовно тварин контроль-

Таблиця – Показники системи антиоксидантного захисту крові у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом ($M \pm m$)

Дослідна група	Контрольна група № 1 (n=12)	Експериментальна група № 1 (n=12)	Контрольна група № 2 (n=12)	Експериментальна група № 2 (n=12)
Супернатант гемолізатів еритроцитів				
СОД, ум. од.	67,48±2,10	26,91±1,24 $p_1 < 0,001$	65,26±2,45	32,0±1,57 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Каталаза, кат/л	57,16±1,71	33,20±1,42 $p_1 < 0,001$	56±2,06	36,40±1,29 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
СОД/каталаза	1,18±0,01	0,81±0,04 $p_1 < 0,001$	1,16±0,01	0,87±0,01 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
SH-групи, ммоль/л	75,22±1,13	54,92±0,95 $p_1 < 0,001$	72,95±1,48	57,50±1,26 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Плазма крові				
Церулоплазмін, г/л	0,332±0,013	0,226±0,010 $p_1 < 0,001$	0,360±0,017	0,269±0,011 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$
ЗААП, %	48,92±0,70	23,55±0,74 $p_1 < 0,001$	48,42±0,84	26±0,82 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Інтегративний індекс Ф	1579,67±125,04	140,33±9,87 $p_1 < 0,001$	1502,65±137,14	231,03±16,92 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітки:

- 1) p_1 – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами;
- 2) p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

ної групи № 2. При порівнянні активності вищевказаного ензиму в супернатанті гемолізатів еритроцитів тварин обох експериментальних груп достовірних змін не виявлено ($p > 0,05$).

Співвідношення СОД/каталаза у щурів першої експериментальної групи зменшилось на 31,4 % ($p < 0,001$), а в щурів другої експериментальної групи – на 25 % ($p < 0,001$). Це свідчить про порушення узгодженості в роботі антиоксидантних ферментів і зниження рівня антирадикального захисту тканин [6]. При порівнянні співвідношення СОД/каталаза у тварин обох експериментальних груп достовірних змін не виявлено ($p > 0,05$).

Оскільки рівень ензиму залежить як від його синтезу, так і від деградації, то зменшення активності може бути наслідком зниження синтезу СОД за умов цирозу печінки або підвищення деградації молекул СОД. В інактивації та деградації СОД можуть також брати участь активні форми кисню: гідроксильні радикали та гідроген пероксид.

Зниження активності СОД може бути зумовлене збільшенням у клітинах концентрації гідроген пероксиду та інактивацією ензимів, які його розщеплюють, зокрема каталази [12]. Це підтверджує зменшення активності каталази

у крові щурів першої та другої експериментальної груп порівняно з тваринами контрольних груп № 1 і № 2.

Доведено, що активність СОД прогресивно зменшується відповідно до підвищення ступеня тяжкості пошкодження клітин і розвитку гіпоксії. Можливо, активність СОД пригнічується за механізмом зворотного зв'язку – інгібування надлишком субстрату, що, у свою чергу, є продуктом ксантинооксидазної і пероксидазної реакцій. До таких субстратів належать супероксидний аніон-радикал і гідроген пероксид [17].

Значне зниження активності СОД і каталази можна пояснити не лише використанням ферментів у процесі інактивації високореакційних форм кисню. Слід зазначити, що металовмісні ферменти (СОД, глутатіонпероксидаза, каталаза) також підлягають окиснювальній модифікації з втратою іонів металів, утворенням фрагментів пептидів і подальшим руйнуванням внутрішньоклітинними протеазами [13, 28].

Подібно до супероксиддисмутази реакцію дисмутації каталізує інший мідьвмісний білок – церулоплазмін (фероксидаза). На відміну від СОД, що захищає внутрішньоклітинні структури,

церулоплазмін функціонує в крові й перехоплює активні форми кисню, запобігаючи ПОЛ клітинних мембран. Однак ефективність церулоплазміну у зв'язуванні супероксиданіона приблизно в 100 разів нижча, ніж СОД. Незважаючи на це, в даний час церулоплазмін розглядають як основний антиоксидант плазми крові. Особливістю цього білка є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов інтенсивної генерації активних форм кисню [7, 16].

У щурів першої експериментальної групи ми зафіксували зниження вмісту церулоплазміну в плазмі крові на 31,9 % ($p < 0,001$) відносно тварин контрольної групи № 1, у щурів другої експериментальної групи – на 25,3 % ($p < 0,001$) стосовно тварин контрольної групи № 2. При порівнянні вмісту церулоплазміну в плазмі крові тварин обох експериментальних груп виявлено його переважання на 19 % ($p < 0,02$) у щурів після восьмижиттєвого введення тетрахлорметану.

Важливим складником АОЗ є біомолекули, що містять сульфгідрильні групи. Основний мобільний фонд SH-груп являє собою глутатіон, який міститься майже у всіх клітинах і бере участь в усуненні вільних радикалів, знешкодженні чужорідних органічних сполук, транспортуванні амінокислот [22].

У щурів першої експериментальної групи ми зафіксували зниження вмісту SH-груп у супернатанті гемолізатів еритроцитів на 27 % ($p < 0,001$) відносно тварин контрольної групи № 1, у щурів другої експериментальної групи – на 21,2 % ($p < 0,001$) стосовно тварин контрольної групи № 2. При порівнянні вмісту SH-груп у супернатанті гемолізатів еритроцитів тварин обох експериментальних груп достовірних змін не виявлено ($p > 0,05$).

Відомо, що SH-групи (зокрема цистеїнових і метіонінових фрагментів білкових молекул) найлегше окиснюються активними формами кисню з утворенням зворотних та незворотних (сульфоксиди і сульфонів групи) модифікацій. Цей вид модифікацій призводить до зменшення фонду транспортних тіольних мо-

лекул для перенесення оксиду азоту, тим самим знижується його біодоступність, що є одним із механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції. Окиснення SH-груп у білкових молекулах призводить до порушення чи модифікації їх функції [2, 18].

Зниження вмісту SH-груп за умов ГПС може бути пов'язане як з інтенсифікацією вільнорадикальних процесів, так і з підсиленням катаболізму глутатіону.

ЗААП у щурів першої експериментальної групи знижувалась на 51,9 % ($p < 0,001$), у щурів другої експериментальної групи – на 46,3 % ($p < 0,001$). При порівнянні загальної антиоксидантної активності в плазмі крові тварин обох експериментальних груп ми виявили її переважання на 10,4 % ($p < 0,05$) у щурів після восьмижиттєвого введення тетрахлорметану.

Інтегративний індекс Ф у щурів першої експериментальної групи зменшився в 11,2 раза ($p < 0,001$), у щурів другої експериментальної групи – в 6,5 раза ($p < 0,001$). При порівнянні інтегративного індексу Ф у тварин обох експериментальних груп ми виявили його переважання на 64,6 % ($p < 0,001$) у щурів після восьмижиттєвого введення тетрахлорметану.

ВИСНОВКИ. 1. Встановлено достовірне зменшення показників системи антиоксидантного захисту в гемолізатах еритроцитів та плазмі щурів з експериментальними моделями цирозіндукованого ГПС, що свідчить про виснаження антиоксидантного потенціалу крові.

2. Перев'язування і подальше пересічення загальної жовчовивідної протоки у щурів викликає більш виражені зміни ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи порівняно з тривалим введенням тетрахлорметану.

Перспективи подальших досліджень.

У перспективі наші дослідження буде продовжено шляхом вивчення показників системи антиоксидантного захисту в бронхоальвеолярному змиві, а також за умов застосування коригувальних чинників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева И. В. Динамика изменения гидратации паренхимы печени животных при моделировании портальной гипертензии / И. В. Андреева, О. А. Виноградов, Т. Н. Абросимова // Укр. морфол. альманах. – 2007. – 5, № 1. – С. 4–6.

2. Белковые тиол-дисульфиды плазмы: роль в

атерогенезе / И. И. Паталах, Л. П. Урвант, И. Н. Евстратова [и др.] // Лаб. диагностика. – 2008. – № 4 (46). – С. 11–15.

3. Биохимические методы исследования в клинике / под ред. А. А. Покровского. – М. : Медицина, 1969. – С. 450–452.

4. Веремейчик А. П. Влияние лазеротерапии на активность ферментов антиоксидантной системы при экспериментальном аллергическом дерматозе. – Режим доступа : http://www.bsmu.by/index.php?option=com_content&view=article&id=3469:2010-05-20-08-16-00&catid=165:22003&Itemid=52
5. Вірусні гепатити і рак печінки / М. А. Андрейчин, В. І. Дрижак, О. В. Рябоконт, В. С. Копча. – Тернопіль : ТДМУ, 2010. – 187 с.
6. Вплив яктону на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу за гіпоксичних станів / О. О. Гончар, І. Ю. Яковлева, С. А. Олійник [та ін.] // Спортивна медицина. – 2005. – № 2. – С. 110–117.
7. Горожанская Э. Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях / Э. Г. Горожанская // Клин. лаб. диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28–44.
8. Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Суч. гастроентерологія. – 2005. – № 5 (25). – С. 80–83.
9. Денисюк Я. С. Сучасні погляди на проблему алкогольної хвороби печінки (етіологія, патогенетичні механізми, клінічні прояви, принципи діагностики) / Я. С. Денисюк, М. А. Бичков // Гепатологія. – 2009. – № 4. – С. 4–15.
10. Доценко О. И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации / О. И. Доценко, В. А. Доценко, А. М. Мищенко // Физика живого. – 2010. – **18**, № 1. – С. 107–113.
11. Зограб'ян Р. О. Стан вільнорадикального окислення у реципієнтів ниркового алотрансплантату в ранньому післятрансплантаційному періоді / Р. О. Зограб'ян, Л. В. Король, В. П. Закордоньць // Світ медицини та біології. – 2007. – № 1. – С. 28–33.
12. Іскра Р. Я. Активність антиоксидантної системи в організмі кролика за дії сполук хрому / Р. Я. Іскра // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. – 2012. – **6**, № 1. – С. 77–86.
13. Квасницька О. Б. Морфологічні властивості еритроцитів, окиснювальна модифікація білків та вільнорадикальне окиснення ліпідів плазми у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки / О. Б. Квасницька // Буковин. мед. вісник. – 2002. – **6**, № 2–3. – С. 55–59.
14. Криницька І. Я. Показники перекисного окиснення ліпідів у щурів за умови експериментального гепатопульмонального синдрому / І. Я. Криницька // Здобутки клініч. і експерим. мед. – 2011. – № 1. – С. 66–70.
15. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
16. “Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов” / Н. В. Садовников, Н. Д. Придыбайло, Н. А. Верещак, А. С. Заслонова. – Екатеринбург – Санкт-Петербург : УРГСХА – НПП “Авивак”, 2009. – 85 с.
17. Системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты как индикаторы активности пролиферации кератиноцитов при псориазе / Р. А. Грашин, В. Г. Антонов, А. И. Карпищенко, В. Р. Хайрутдинов // Клин. лаб. диагностика. – 2010. – № 1. – С. 18–24.
18. Создание ангиоангиальных аритмических средств фиксированных комбинаций с антиоксидантами. Пример тиодарона / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. В. Павлов [и др.] // Новости медицины и фармации. – 2008. – № 16 (255). – С. 16–18.
19. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
20. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
21. Чимпой К. А. Роль про- та антиоксидантної систем плазми крові в порушенні тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки // Буковин. мед. вісник. – 2010. – **14**, № 1 (53). – С. 95–97.
22. Юревич О. Ю. Відновлювальний потенціал глутатіонової системи крові хворих на вікову макулодистрофію / О. Ю. Юревич, Н. Х. Козлова // Медицина транспорту України. – 2005. – № 2. – С. 15–17.
23. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // *Clin. Sci. and Mol. Med.* – 1974. – **47**, № 3. – P. 215–222.
24. Burhan A. Effects of methylene blue in reducing cholestatic oxidative stress and hepatic damage after bile-duct ligation in rats / A. Burhan // *Acta. Histochemica*. – 2010. – **112**(3). – P. 259–269.
25. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon, G. A. Abrams, J. W. McGrath [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1997. – **272**. – P. 779–784.
26. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82**. – P. 70–77.
27. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
28. Li P. F. Oxidative modification of bovine erythrocyte superoxide dismutase by hydrogen peroxide and ascorbate-Fe (III) / P. F. Li, Y. Z. Fang, X. Lu // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1993. – **29**, № 5. – P. 929–937.
29. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Zhong-Fu Zhao [et al.] // *World J. Gastroenterology*. – 2007. – **13** (25). – P. 3500–3507.
30. Rodriguez-Roisin R. Hepatopulmonary syndrome — a liver-induced lung vascular disorder / R. Rodriguez-Roisin, M. J. Krowka // *The New England Journal of Medicine*. – 2008. – **358**, № 22. – P. 2378–2387.
31. Tieppo J. Quercetin administration ameliorates pulmonary complications of cirrhosis in rats / J. Tieppo, M. J. Cuevas, R. Vercelino // *The Journal of nutrition*. – 2009. – **139**. – P. 1339–1346.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ

Резюме

Исследовано влияние двух экспериментальных моделей гепатопульмонального синдрома на показатели системы антиоксидантной защиты крови у крыс. Установлено существенные нарушения состояния ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы у животных обеих экспериментальных групп, что указывает на истощение антиоксидантного потенциала крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гепатопульмональный синдром, антиоксидантная система, кровь.

I. Ya. Krynytska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

FUNCTIONAL ANTIOXIDANT STATUS OF BLOOD DEFENSE IN RATS WITH MODULATED HEPATOPULMONARY SYNDROME

Summary

In experiments on rats with modulated hepatopulmonary syndrome the changes in the indices of antioxidant status in blood were studied. It was found out the significant violations of the enzyme and non-enzyme links of the antioxidant system in animals of both experimental groups, indicating the depletion of antioxidant capacity of blood.

KEY WORDS: hepatopulmonary syndrome, antioxidant system, blood.

Отримано 29.01.13

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

**ВІДХИЛЕННЯ ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИПЕРОКСИДНОЇ СИСТЕМИ
В ДИНАМІЦІ ПЕРІОДУ ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ**

За умов моделювання краніоскелетної травми у тканині печінки вже через 2 год істотно знижуються показники глутатіонової антипероксидної системи: активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону. На тлі додаткової кровотечі виснаження активності глутатіонпероксидази та вмісту відновленого глутатіону є більшим. Активність глутатіонредуктази знижується через 12 год після травмування з наступною стабілізацією і не залежить від додаткової кровотечі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: краніоскелетна травма, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, відновлений глутатіон.

ВСТУП. Глутатіонова антипероксидна система є важливою ланкою антиоксидантного захисту [10]. До неї належить глутатіонпероксидаза, яка володіє у 1000 разів більшою спорідненістю до гідрогену пероксиду, ніж каталаза, та нейтралізує його за допомогою відновленого глутатіону в мітохондріях і цитоплазмі клітин. Останній, крім цього, є одним з основних акцепторів гідроксильних радикалів і завдяки кон'югації з гідрофобними речовинами під впливом глутатіонтрансферази бере активну участь у знешкодженні ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Ще одним компонентом глутатіонової антипероксидної системи є глутатіонредуктаза, яка здійснює регенерацію глутатіону шляхом НАДФ-залежного відновлення.

За умов краніоскелетної травми, зокрема в період гострої реакції організму, коли закладаються основні причинно-наслідкові взаємовідносини, що визначають її подальший перебіг [6], особливості реакції глутатіонової антипероксидної системи вивчено недостатньо. Це особливо актуально з тієї причини, що активні форми кисню, гідроксильні радикали, пероксиди є одними з основних компонентів патогенезу краніоскелетної травми [3, 11].

Метою даної роботи було з'ясувати динаміку глутатіонової антипероксидної системи в період гострої реакції на краніоскелетну травму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено з використанням 68 нелінійних білих щурів-самців масою 180–200 г, яких
© А. І. Гоженко, А. А. Гудима, Р. М. Борис, 2013.

утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на три групи: контрольну і дві дослідні. До контрольної групи ввійшли 8 інтактних тварин, до 1-ї дослідної – 30 тварин, в яких під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг·кг⁻¹) моделювали закриту черепно-мозкову травму за методикою [3] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили однократний удар по кожному стегну, що викликало закритий перелом стегнових кісток. У 2-й дослідній групі додатково моделювали кровотечу зі стегнової вени (20–22 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої вводили у порожнину живота для відтворення гематоми. З експерименту тварин виводили після наркотизації шляхом тотального кровопускання із серця через 2, 12 та 24 год після травми. Об'єктом дослідження було обрано гомогенат печінки – ключового органа, що відображає системний вплив тяжкої травми та розвиток поліорганної недостатності [1].

У тварин, які вижили, в гомогенаті печінки визначали активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази [9] та концентрацію відновленого глутатіону [2].

Достовірність відмінностей між дослідними і контрольною групами оцінювали з використанням критерію Стьюдента та Вілкоксона–Манна–Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих результатів показав (табл., рис. 1), що активність глутатіонпероксидази у тканині

Таблиця – Відхилення показників глутатионової антипероксидної системи в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму (M±m)

Пул, го(лс	і уовмууАс	н у5ауАс	Фаз рсгуНмв, % , М поу=угазу5)с		
			есу5с	7есу5с	е9су5с
–я) м муотазулґ 5, г, 0уАх%¹·л=¹с	К06Д6пК0КеКсТ188ис	і 4Ф	К076±К0КеК#сТ18Дс	К0766пК0КК4вВВТ183ис	К0е9фпК0К77ВВВТ183ис
		і 4Фі зс	К0еф6пК0К79ВВВТ183ис	К07еКпК0ККДВВВТ18фс	К07е3пК0К7КВВВТ18фс
зс			<К0Кфс	>К0Кфс	<К0КК7с
SH-≡)т(0с уАА=¹с	Д0епК06ДсТ188ис	і 4Ф	ф019пК0е6ВВВТ18Дс	908КпК07евВВВТ183ис	ф0е9пК0е9ВВВТ183ис
		і 4Фі зс	ф0Д3пК0ефВВВТ183ис	90ДпК07чВВВТ18фс	90фепК079ВВВТ18фс
зс			>К0Кфс	<К0К7с	<К0Кфс
–я) м муоза5)лм г, 0с уАх%¹·л=¹с	К0е7пК0К7чсТ188ис	і 4Ф	К07К6пК0КК3ВВВТ18Дс	К0К38пК0КК3ВВВТ183ис	К0К39пК0К7евВВВТ183ис
		і 4Фі зс	К0КчфпК0КК6ВВВТ183ис	К0КД6пК0КК9ВВВТ18фс	К0КД8пК0КК3ВВВТ18фс
зс			>К0Кфс	>К0Кфс	>К0Кфс

Примітки:

- 1) КСТ – краніоскелетна травма;
- 2) КСТ+Кр – краніоскелетна травма, поєднана з кровотечею;
- 3) ** – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001; # – p<0,10);
- 4) p – достовірність відмінностей стосовно груп тварин із КСТ і КСТ+Кр.

печінки через 2 год після моделювання краніоскелетної травми мала тенденцію до меншої величини стосовно контрольної групи (на 16,1 %, p<0,10).

Через 12 год даний показник ставав ще меншим – на 61,3 % стосовно контрольної групи (p<0,001) та на 57,5 % порівняно з попереднім терміном спостереження (p≤0,05). Через 24 год він істотно збільшувався стосовно попереднього терміну спостереження – на 84,2 % (p≤0,05), проте залишався статистично

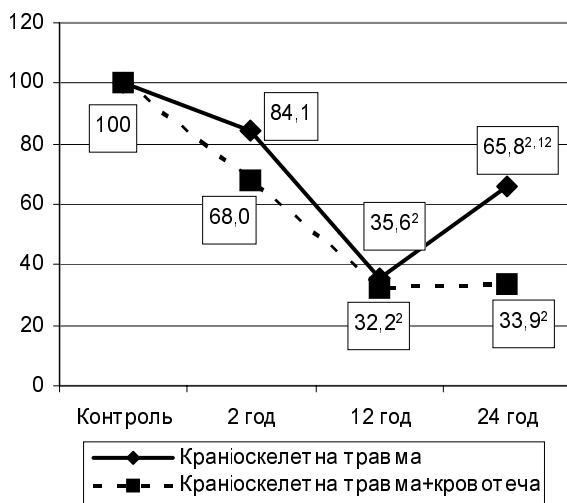


Рис. 1. Динаміка активності глутатионпероксидази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею (тут і в інших рисунках: ² – достовірність відмінностей стосовно 2 год спостереження; ¹² – стосовно 12 год спостереження (p≤0,05)).

достовірно меншим, ніж у контрольній групі (на 34,3 %, p<0,001) та порівняно з 2 год спостереження (на 21,7 %, p≤0,05).

Моделювання додаткової кровотечі вже через 2 год зумовлювало статистично значуще зниження активності глутатионпероксидази у тканині печінки стосовно контрольної групи – на 32,2 % (p<0,001). Через 12 год активність даного ферменту ще більше зменшувалася і залишалася на такому ж рівні через 24 год – на 67,8 і 66,2 % відповідно стосовно контрольної групи (p<0,001) та на 52,6 і 49,8 % стосовно 2 год спостереження (p≤0,05).

При порівнянні активності глутатионпероксидази тканини печінки між дослідними групами, в яких моделювали різні за тяжкістю травми, встановлено, що через 2 і 24 год величина даного показника була статистично достовірно меншою у тварин із краніоскелетною травмою, додатково ускладненою кровотечею (відповідно, на 19,2 %, p<0,05 та на 48,6 %, p<0,001). Через 12 год величина цього показника в обох дослідних групах істотно не відрізнялася (p>0,05).

Вміст SH-груп у тканині печінки (табл., рис. 2) під впливом краніоскелетної травми статистично достовірно знижувався стосовно контрольної групи: через 2 год – на 23,0 % (p<0,01), через 12 год – на 37,8 % (p<0,001), що було також істотно меншим порівняно з попереднім терміном спостереження (на 19,2 %, p≤0,05). Через 24 год досліджуваний показник підвищувався і ставав на 32,1 %

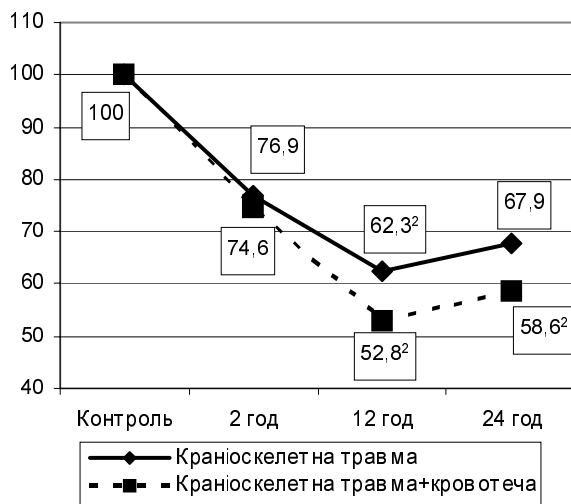


Рис. 2. Динаміка активності SH-груп тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

нижчим від контролю ($p < 0,001$). Зазначене зростання стосовно попереднього терміну та 2 год спостереження було статистично не достовірним ($p > 0,05$).

Додаткове моделювання кровотечі через 2 год експерименту зумовлювало ідентичне зниження вмісту SH-груп, як і після самої краніоскелетної травми, – на 25,4 % ($p < 0,01$). Відмінність між дослідними групами в цей термін спостереження була статистично не достовірною ($p > 0,05$). Проте через 12 год величина даного показника знижувалася більш істотно і ставала на 47,3 % меншою, ніж у контролі ($p < 0,001$), та на 29,3 % меншою, ніж у попередній термін спостереження ($p \leq 0,05$). Через 24 год вміст SH-груп дещо зростав, що було статистично не достовірним порівняно з попереднім терміном спостереження та істотно меншим, ніж у контролі (на 41,5 %, $p < 0,001$) і порівняно з 2 год спостереження (на 21,5 %, $p \leq 0,05$). Величина даного показника в цей термін спостереження була статистично достовірно нижчою, ніж у тварин без додаткової кровотечі (на 13,7 %, $p \leq 0,05$).

У свою чергу, активність глутатіонредуктази тканини печінки (табл., рис. 3) у відповідь на краніоскелетну травму стосовно контрольної групи статистично достовірно знижувалася: через 2 год – у 2,1 раза ($p < 0,001$), через 12 год – у 3,2 раза ($p < 0,001$), через 24 год – у 3,4 раза ($p < 0,001$). Аналіз динаміки даного показника показав, що через 12–24 год він досягав мінімальної величини, яка статистично достовірно була меншою, ніж через 2 год, – на 34,0 і 37,9 % відповідно і ($p \leq 0,05$).

Моделювання додаткової кровотечі зумовлювало ідентичне зниження активності глута-

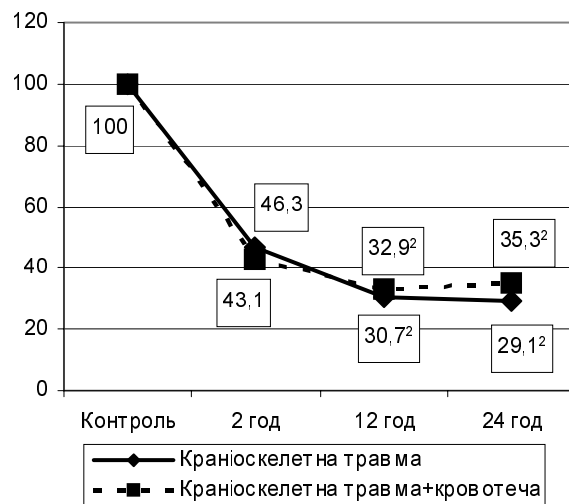


Рис. 3. Динаміка активності глутатіонредуктази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

тінредуктази, що і сама краніоскелетна травма: через 2 год – у 2,3 раза ($p < 0,001$), через 12 год – у 3,0 раза ($p < 0,001$), через 24 год – у 2,8 раза ($p < 0,001$). Величина даного показника через 12 і 24 год була так само статистично достовірно меншою, ніж через 2 год: відповідно, на 23,2 % ($p \leq 0,05$) та 17,9 % ($p \leq 0,05$). Відмінності між дослідними групами у всі терміни спостереження виявилися статистично не достовірними ($p > 0,05$).

Таким чином, за умов моделювання краніоскелетної травми у тканині печінки вже через 2 год істотно знижуються показники глутатіонової антипероксидної системи: активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону. Закономірністю динаміки активності глутатіонпероксидази в період гострої реакції на краніоскелетну травму є досягнення нею мінімальної величини через 12 год з наступним підвищенням через 24 год, яке не досягає рівня контролю. Додаткове моделювання кровотечі зумовлює її більше зниження вже через 2 год з подальшим істотним зменшенням через 12 год без подальшого зростання. Вміст відновленого глутатіону в обох дослідних групах досягає мінімального значення теж через 12 год із наступною стабілізацією, однак амплітуда зниження у тварин без кровотечі істотно менша. Активність глутатіонредуктази знижується через 12 год після травмування з наступною стабілізацією і не залежить від додаткової кровотечі.

Отримані результати свідчать про те, що глутатіонова антипероксидна система відіграє вагомую роль у патогенезі краніоскелетної травми вже з перших годин посттравматичного

періоду. Причому на тлі додаткової кровотечі виснаження активності глутатіонпероксидази та відновленого глутатіону є більшим, що вказує на підвищене утворення за цих експериментальних умов активних форм кисню, гідрогену пероксиду та ендотоксинів [4, 8]. Динаміка активності глутатіонредуктази у тварин із краніоскелетною травмою не залежала від додаткової кровотечі, що, ймовірно, вказує на високу чутливість системи її ресинтезу до патогенного впливу тяжкої травми. Це може бути однією з основних причин швидкого виснаження пулу відновленого глутатіону за умов травми і недостатнього його ресинтезу на тлі печінкової недостатності, що відмічають у роботах ряду авторів [5, 7].

Отримані результати слід враховувати при розробці патогенетично обґрунтованих заходів інтенсивної терапії в період гострої реакції на краніоскелетну травму.

ВИСНОВКИ. 1. За умов моделювання краніоскелетної травми у тканині печінки вже через 2 год істотно знижуються показники глутатінової антипероксидної системи: активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону. На тлі додаткової

кровотечі виснаження активності глутатіонпероксидази та відновленого глутатіону є більшим.

2. Закономірністю динаміки активності глутатіонпероксидази в період гострої реакції на краніоскелетну травму є досягнення нею мінімальної величини через 12 год з наступним підвищенням через 24 год, яке не досягає рівня контролю. Додаткове моделювання кровотечі зумовлює її більше зниження вже через 2 год з подальшим істотним зменшенням через 12 год без подальшого зростання.

3. Вміст відновленого глутатіону в обох дослідних групах досягає мінімального значення теж через 12 год із наступною стабілізацією. Амплітуда зниження у тварин із кровотечею істотно більша.

4. Активність глутатіонредуктази знижується через 12 год після травмування з наступною стабілізацією і не залежить від додаткової кровотечі.

Перспективи подальших досліджень.

У перспективі доцільно поглибити дослідження патогенних механізмів періоду гострої реакції на краніоскелетну травму з метою вдосконалення напрямків патогенетичної і саногенетичної терапії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волотовська Н. В. Роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ураження печінки в умовах скелетної травми різної тяжкості / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // Бюлетень XI читань Підвисоцького, 24–25 трав. 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 23–24.

2. Восстановленный глутатион в крови при остром и хроническом вирусном гепатите и некоторых других поражениях печени / [В. Ю. Сондоре, Э. З. Крупникова, Я. М. Филлер и др.] // Биохимическая характеристика патологических процессов. – Рига, 1980. – С. 50–53.

3. Ельський В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельський, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.

4. Ельський В. Н. Патолофізіологія, діагностика і інтенсивна терапія тяжкої черепно-мозгової травми / В. Н. Ельський, А. М. Кардаш, Г. А. Городник ; под ред. В. И. Черниа. – Донецк : Новый мир, 2004. – 200 с.

5. Зятковська О. Я. Патогенетична роль перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту в умовах комбінованої травми / О. Я. Зят-

ковська // Здоб. клін. і експерим. мед. – 2010. – № 2 (13). – С. 50–55.

6. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельський, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк : ООО “Лебедь”, 2002. – 360 с.

7. Козак Д. В. Динаміка показників антиоксидантного захисту у відповідь на травму // Шпитальна хірургія. – 2012. – № 3. – С. 60–64.

8. Козак Д. В. Особливості показників перекисного окиснення ліпідів в динаміці раннього і пізнього періодів політравми / Д. В. Козак // Актуал. пробл. транспорт. мед. – 2012. – № 3. – С. 103–106.

9. Круглікова Г. О. Методи визначення активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази / Г. О. Круглікова, У. М. Штутман // Укр. біохим. журн. – 1976. – **68**, № 2. – С. 223–228.

10. Свободнорадикальные процессы в биосистемах / [Т. Н. Попова, А. Н. Пашков, А. В. Семенихина и др.]. – Воронеж, 2008. – 192 с.

11. Keel M. Pathophysiology of polytrauma / M. Keel, O. Trentz // Injury. – 2005. – **36**, № 6. – P. 691–709.

А. И. Гоженко¹, А. А. Гудима², Р. М. Борис¹
УКРАИНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРАНСПОРТА МЗ УКРАИНЫ¹,
ОДЕССА
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ОТКЛОНЕНИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИПЕРОКСИДНОЙ СИСТЕМЫ В ДИНАМИКЕ ПЕРИОДА ОСТРОЙ РЕАКЦИИ НА КРАНИОСКЕЛЕТНУЮ ТРАВМУ

Резюме

В условиях моделирования краниоскелетной травмы в ткани печени уже через 2 часа существенно снижаются показатели глутатионовой антипероксидной системы: активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы и содержание восстановленного глутатиона. На фоне дополнительного кровотечения истощение активности глутатионпероксидазы и содержания восстановленного глутатиона является большим. Активность глутатионредуктазы снижается через 12 часов после травмирования с последующей стабилизацией и не зависит от дополнительного кровотечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: краниоскелетная травма, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, восстановленный глутатион.

A. I. Hozhenko¹, A. A. Hudyma², R. M. Borys¹
UKRAINIAN SCIENTIFIC-RESEARCH INSTITUTE OF TRANSPORT MEDICINE OF MPH OF UKRAINE¹, ODESA
YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

DEVIATION OF GLYUTATION ANTIPEROXIDE SYSTEM IN THE DYNAMICS OF AN ACUTE REACTION PERIOD ON THE CRANIO-SKELETAL TRAUMA

Summary

The rates of glyutathione antiperoxide system: glutathionperoxydase and glutathionreductase activity and the content of reduced glutathione in liver tissue significantly reduces in 2 hours after modulation of cranio-skeletal trauma. Against the background of further bleeding, the depletions of glutathionperoxydase activity and reduced glutathione are higher. Glutathionreductase activity decreases in 12 hours after injury, followed by stabilization and does not depend on additional bleeding.

KEY WORDS: cranio-skeletal trauma, glutatpionperochydaie, glyutatpionreductaie, reduced glutathione.

Отримано 15.01.13

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

ОСОБЛИВОСТІ ВУГЛЕВОДНОГО І БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Черепно-мозкова травма викликає посилення катаболізму білків, що проявляється зниженням вмісту загального білка, підвищенням рівня сечовини, креатиніну, сечової кислоти, та спричиняє порушення вуглеводного обміну. Стрептозоточи́ндукований цукровий діабет значно поглиблює зумовлені травмою патологічні розлади вуглеводного і білкового метаболізму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: черепно-мозкова травма, цукровий діабет, показники вуглеводного і білкового обміну.

ВСТУП. Травматизм у цілому і нейротравматизм зокрема залишаються актуальною проблемою не тільки медицини, але й будь-якої суспільної системи [2]. У загальній структурі травматизму пошкодження центральної нервової системи сягають 30–40 %, виходячи на перше місце серед причин летальності й інвалідизації потерпілих [5, 6]. Частота розповсюдженості черепно-мозкової травми (ЧМТ) серед людей у різних країнах коливається від 89 до 281 на 100 тис. населення. Причому найбільша частота отримання ЧМТ припадає на осіб молодого і середнього віку, оскільки це супроводжується летальністю в 15–20 %, то ЧМТ є однією з головних причин смертності дітей та осіб віком до 35 років [2].

Відразу після перенесеної черепно-мозкової травми виникає цілий ланцюг послідовних реакцій з боку як самих мозкових клітин, так і провідних шляхів, синапсів та судин мозку. Все це об'єднується поняттям “травматична хвороба мозку”. Під дією травмуючої механічної енергії на череп та головний мозок порушується активуючий вплив ретикулярної формації стовбура мозку на кору головного мозку, що викликає розлади ретикулярно-кірково-підкіркових взаємозв'язків і генералізовані дисциркуляторні, нейрогуморальні, нейроендокринні й обмінні розлади. Генералізований характер змін функцій за умов ЧМТ призводить до порушень неспецифічної резистентності організму і деформацій загального адаптаційного синдрому [2, 4, 5].

ЧМТ ініціює каскад патохімічних і патофізіологічних змін у головному мозку, що об'єк-

тивно реєструється порушеннями водно-солевого балансу, вуглеводно-енергетичного метаболізму, електрофізіологічних, нейрометаболических і морфофункціональних параметрів [6]. Відомо, що впродовж ранніх термінів після отримання травми, особливо тяжкого ступеня, спостерігається значне підвищення загального метаболізму, що сягає в середньому 140 % від базового рівня. Це пов'язано зі стресовою реакцією організму на травму, катехоламією, підвищенням м'язового тону, судомами, руховим збудженням та ін. [5].

Цукровий діабет (ЦД) є найпоширенішою патологією ендокринної системи, що характеризується порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обміну речовин, які призводять до патологічних змін у функціонуванні різних органів і систем [1].

З огляду на це, метою даного дослідження було визначити основні показники вуглеводного та білкового обміну за умов експериментальної ЧМТ, стрептозоточи́ндукованого ЦД та їх поєднання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на білих нелінійних щурах-самцях, поділених на дослідні групи: 1-ша – інтактні тварини (контроль); 2-га – щури, в яких моделювали ЧМТ; 3-тя – щури з експериментальним цукровим діабетом; 4-та – щури, в яких моделювали ЧМТ на тлі ЦД. Тварин утримували в стандартних умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP [8].

Експериментальний ЦД моделювали шляхом одномоментного введення стрептозоточину (“Sigma”, США) в черевну порожнину в

дозі 60 мг/кг [3]. Діабетиками вважали тварин з рівнем глюкози понад 16 ммоль/л. Закрити ЧМТ моделювали за допомогою розробленої нами методики [7]. Щурів виводили з експерименту через 3 і 24 год (період гострої реакції на травму), 5 і 14 діб (період ранніх проявів) після отримання травми [7] в умовах тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця.

Біохімічний аналіз крові (вміст глюкози, молочної і пірвіноградної кислот, загального білка, сечовини, креатиніну, сечової кислоти) проводили за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора "Humalyser-2000".

Результати досліджень опрацьовували статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента для незалежних виборок.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Інтенсивність патологічних змін вуглеводного обміну, які відбуваються внаслідок ЧМТ, оцінювали за вмістом глюкози, лактату і пірвату в плазмі крові щурів (табл.). Концентрація глюкози, порівняно з контролем, зросла на 61,6 і 25,7 % через 3 та 24 год після отримання травми відповідно. Після ЧМТ було виявлено збільшення концентрації лактату на 60,5 і 33,8 %, пірвату – на 24,4 і 14,6 % від значень контролю у вказані терміни. Через 5 і 14 діб після травматичного ураження вказані показники наближались до рівня інтактних тварин.

Моделювання ЧМТ супроводжувалось змінами у білковому обміні, що відображали поси-

лення катаболічних процесів. Кількість білка у плазмі крові мала тенденцію до зниження, максимальні зміни спостерігали на 24 год посттравматичного періоду – на 18,2 %. Концентрація сечовини, яка є основним продуктом розпаду білків, статистично вірогідно збільшувалась на 20,2, 29,1 і 17,9 % через 3 і 24 год, 5 діб після отримання травми. Спостерігали підвищення у крові рівня креатиніну на 24,8, 36,5 і 30,8 % ($p < 0,05$, 0,01) відповідно до термінів експерименту, що теж може свідчити про посилений розпад білків протоплазми.

Рівень сечової кислоти в плазмі крові тварин після ЧМТ збільшився на 32,2, 38,5 і 23,1 % на 3 та 24 год, 5 добу посттравматичного періоду порівняно з фізіологічною нормою. Зростання концентрації останньої може слугувати ознакою індукованих травмою глибоких порушень обміну нуклеїнових кислот, що супроводжується утворенням пуринових основ.

У ході досліджень ми встановили, що розвиток стрептозотоциніндукованого ЦД супроводжувався підвищенням вмісту глюкози в крові натще на 218,1 % порівняно зі значеннями контрольної групи (табл.). Було відзначено підвищення рівня молочної кислоти на 14,1 %, пірвіноградної – на 9,8 %. При цьому порушення вуглеводного метаболізму поєднувалися з вираженими змінами білкового обміну. Спостерігали статистично вірогідне зменшення вмісту загального білка на 30,1 %, підвищення кількості сечовини на 21,5 %, креатиніну – на 28,9 %, сечової кислоти – на 18,9 %,

Таблиця – Біохімічні показники плазми крові, які характеризують вуглеводний та білковий обмін, у тварин з черепно-мозковою травмою, стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом та їх поєднанням ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=10)	ЦД (n=10)	Група	Час після отримання травми (n=10)			
				3 год	24 год	5 діб	14 діб
Глюкоза, ммоль/л	5,80±0,24	18,45±1,06***	ЧМТ	9,37±0,62***	7,29±0,31**	5,86±0,36	6,05±0,28
			ЧМТ+ЦД	32,68±2,15 ^{^^^###}	29,96±2,04 ^{^^##}	23,67±2,85 ^{###}	20,46±2,03 ^{###}
Лактат, ммоль/л	4,05±0,21	4,62±0,27	ЧМТ	6,50±0,37***	5,42±0,30*	4,12±0,36	4,07±0,28
			ЧМТ+ЦД	10,03±0,76 ^{^^^###}	9,58±0,62 ^{^^^###}	8,15±0,25 ^{^^^###}	6,24±0,58 ^{##}
Пірват, ммоль/л	0,41±0,02	0,45±0,04	ЧМТ	0,51±0,03*	0,47±0,02*	0,40±0,05	0,42±0,03
			ЧМТ+ЦД	0,62±0,03 ^{^^}	0,60±0,04 ^{##}	0,57±0,06 [#]	0,53±0,05
Білок, г/л	64,85±3,93	45,33±2,45***	ЧМТ	64,76±4,02	53,02±3,16*	56,81±3,65	64,60±3,87
			ЧМТ+ЦД	44,12±2,06 ^{###}	32,07±1,83 ^{^^^###}	26,42±1,62 ^{^^^###}	38,65±1,91 ^{###}
Сечовина, ммоль/л	7,78±0,36	9,45±0,73	ЧМТ	9,35±0,43*	10,04±0,58**	9,17±0,46*	7,82±0,34
			ЧМТ+ЦД	11,59±1,24	14,16±1,60 ^{##}	14,89±1,49 ^{^^##}	11,70±0,52 ^{^^###}
Креатинін, мкмоль/л	64,36±4,02	82,94±5,26*	ЧМТ	80,33±4,65*	87,86±4,91**	84,21±4,05**	65,24±3,13
			ЧМТ+ЦД	105,32±6,18 ^{##}	133,70±6,54 ^{^^^###}	139,34±6,81 ^{^^^###}	112,15±5,80 ^{^^###}
Сечова кислота, мкмоль/л	82,57±4,48	98,15±4,81*	ЧМТ	109,16±5,76**	114,37±7,08**	101,64±5,06*	82,75±4,62
			ЧМТ+ЦД	132,71±8,53 ^{^^}	139,48±9,30 ^{^^#}	130,24±7,15 ^{^^##}	121,63±10,47 ^{##}

Примітки:

- 1) * – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин;
- 2) # – достовірність змін щодо показників у тварин із ЧМТ;
- 3) ^ – достовірність змін щодо показників у тварин із ЦД (*^{^^} – $p < 0,05$; ^{^^^###} – $p < 0,01$; ^{^^^###} – $p < 0,001$).

що відображало посилення розпаду білків у тканинах.

Моделювання ЧМТ на тлі експериментального ЦД супроводжувалось більш вираженими порушеннями вуглеводного та білкового метаболізму порівняно з тваринами без діабету. Концентрація глюкози в крові збільшилась на 248,8, 311, 303,9 і 228,2 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб після отримання травми і діабету відносно експериментальних тварин з перенесеною ЧМТ. У щурів даної групи через 3 і 24 год відзначали статистично вірогідне збільшення вмісту лактату на 54,3 і 76,8 % та на 97,8 і 53,3 % через 5 і 14 діб відповідно порівняно з цим показником у травмованих тварин без діабету. Концентрація пірвіноградної кислоти мала подібну динаміку. Вміст пірватату зростав на 21,6, 27,7, 42,5 і 26,2 % щодо тварин з ЧМТ відповідно до термінів експерименту.

Пов'язане з травмою зменшення вмісту білків у плазмі є наслідком загальної метаболічної реакції організму на травму. ЧМТ у поєднанні з експериментальним ЦД супроводжувалась більш значними катаболічними змінами білкового обміну. Так, загальна кількість білка знизилась на 31,9, 39,5, 53,5 і 40,2 % ($p < 0,001$ у всіх випадках) у зазначені терміни експерименту порівняно з експериментальними тваринами без діабету. В цих експериментальних групах встановлено статистично вірогідне зростання концентрації сечовини на 24, 41, 62,4 і 49,6 %, креатиніну – на 31,1, 52,2, 65,5 і 71,9 %, сечової кислоти – на 21,6, 22, 28,1 і 47 % через 3, 24 год, 5 та 14 діб після ЧМТ відповідно.

Обмін речовин за умов ЧМТ зазнає значних змін. Травма головного мозку є стрес-впливом, услід за яким розвивається загальна

реакція організму на пошкодження. Особливості анатомічної будови черепа і головного мозку зумовлюють значний вплив травми на стовбурові відділи головного мозку і гіпофіз. Отже, пошкоджуються ті анатомічні утвори, які в нормі відіграють провідну роль у нейроендокринній регуляції обміну речовин, а в патології беруть участь як головні організатори стрес-синдрому [6]. До патологічних розладів належать зміни в окисно-відновних процесах, посилення катаболічних процесів у білковому, вуглеводному і жировому обміні. Збільшується також використання електролітів, порушується нормальна функція печінки, нирок. Гіперглікемія, що виникає у перші години після отримання травми, залежить, імовірно, від посиленого надходження адреналіну, а в подальшому – від токсичного порушення всіх ланцюгів глікорегуляції [5, 9, 10]. Отримані в ході дослідження результати підтверджують уявлення про катаболічну спрямованість метаболічних процесів після ЧМТ, які поглиблюються на тлі індукованого діабету.

ВИСНОВКИ. Черепно-мозкова травма викликає посилення катаболізму білків, що проявляється зниженням вмісту загального білка, підвищенням рівня сечовини, креатиніну, сечової кислоти, та спричиняє порушення вуглеводного обміну. Стрептозотоциніндукований цукровий діабет значно поглиблює зумовлені травмою патологічні розлади вуглеводного і білкового метаболізму.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідити газовий склад крові при експериментальній черепно-мозковій травмі та стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дедов И. И. Сахарный диабет: руководство для врачей / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : ИКЦ Универсум Паблицинг, 2003. – 445 с.
2. Дзяк Л. А. Современные представления о патофизиологии тяжелой черепно-мозговой травмы и роли прогнозирования ее исходов на этапах лечения / Л. А. Дзяк, О. А. Зозуля // *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти.* – 2005. – **1**, № 1. – С. 70–80.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

4. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
5. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме / под ред. А. Н. Коновалова, Л. Б. Лихтермана, А. А. Потапова. – М. : Антидор, 1998. – Т. 1, 2, 3.
6. Новиков В. Е. Возможности фармакологической нейропротекции при черепно-мозговой травме / В. Е. Новиков // *Психофармакология и биологическая наркология.* – 2007. – **7**, № 2. – С. 1500–1509.
7. Пат. 74935 Україна, МПК G 09 B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання черепно-мозкової

травми / Мерецький В. М. ; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u2012 06594 ; заявл. 30.05.12 ; опубл. 12.11.12, Бюл. № 21.

8. Резников О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / О. Г. Резников // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.

9. Eakins J. Blood glucose control in the trauma patient / J. Eakins // J. Diabetes Sci Technol. – 2009. – 1, № 3 (6). – P. 1373–1376.

10. Rovlias A. The influence of hyperglycemia on neurological outcome in patients with severe head Injury / A. Rovlias, S. Kotsou // Neurosurgery. – 2000. – 46, № 2. – P. 335–339.

В. Н. Мерецький, М. М. Корда

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ УГЛЕВОДНОГО И БЕЛКОВОГО ОБМЕНА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Резюме

Черепно-мозговая травма вызывает усиление катаболизма белков, что проявляется снижением содержания общего белка, повышением уровня мочевины, креатинина, мочевой кислоты, и является причиной нарушения углеводного обмена. Стрептозоточининдуцированный сахарный диабет значительно углубляет обусловленные травмой патологические расстройства углеводного и белкового метаболизма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: черепно-мозговая травма, сахарный диабет, показатели углеводного и белкового обмена.

V. M. Meretskyi, M. M. Korda

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF CARBOHYDRATE AND PROTEIN METABOLISM IN THE CONDITIONS OF CRANIOCEREBRAL INJURY AND EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Summary

Cranio-cerebral injury causes increased catabolism of proteins, resulting decrease of total protein, higher levels of urea, creatinine, uric acid, and causes carbohydrate metabolism. Streptozotocin-induced diabetes mellitus significantly deepens caused by the trauma pathological disorders of carbohydrate and protein metabolism.

KEY WORDS: craniocerebral injury, diabetes mellitus, carbohydrate and protein metabolism.

Отримано 27.12.12

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

**ВПЛИВ Ig G СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА СИСТЕМНИЙ ЧЕРВОНИЙ
ВОВЧАК НА ПОТЕНЦІЙНУ АКТИВНІСТЬ АНТИТРОМБІНУ III
ТА ПЛАЗМІНОГЕНА**

Показано, що Ig G, які утворюються в плазмі крові при системному червоному вовчаку, не впливають на активацію антитромбіну III. Активація плазміногена стрептокіназою і тканинним активатором за присутності Ig G хворих на системний червоний вовчак також не порушується.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: системний червоний вовчак, антитромбін III, плазміноген.

ВСТУП. Аутоімунні захворювання зустрічаються у 3–5 % населення [6] і є результатом поєднання генетичних та екологічних факторів, які призводять до порушення імунної функції організму [7, 9]. Зміни в імунній системі, ініційовані втратою імунологічної толерантності до власних антигенів, спричиняють утворення аутоантитіл, які можуть бути виявлені у периферичній крові. Визначення конкретних медіаторів, які можуть викликати розвиток або сприяти прогресуванню аутоімунних захворювань, залишається у фокусі інтенсивних досліджень. Розвиток системного червоного вовчака (СЧВ) тісно пов'язаний з порушенням функціонування системи гемостазу [4]. Тромбоз є відомим клінічним проявом за цього захворювання. Найбільш важливим фактором ризику вважають наявність у плазмі крові антифосфоліпідних антитіл (APLAs). Проте близько 40 % дорослих із СЧВ, які є негативними за APLAs, мають діагноз тромбозу, що вказує на важливість інших факторів ризику. Серед таких факторів значну увагу приділяють розвиткові запальних процесів та дефіциту протеїнів С та S, антитромбіну [3]. У зв'язку з цим, було досліджено вплив Ig G сироватки крові хворих на системний червоний вовчак на ключові фактори системи згортання крові – антитромбін III та плазміноген. З метою виявлення ключових показників стану системи гемостазу за системного червоного вовчака проведено кореляційні дослідження даних хронометричних тестів та активності протеїну С, тканинного

© Т. Б. Вовк, Н. К. Кравченко, Л. І. Остапченко, 2013.

активатора плазміногена та його основного фізіологічного інгібітора – PAI-1.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Активність антитромбіну III визначали в плазмі крові донорів. У лунках мікропланшета складали суміш загальним об'ємом 250 мкл, яка містила такі компоненти: 5 мкл плазми крові донорів, 30 мкг антитіл, 10 од. тромбіну, 25 мкл 2,5 мМ хромогенного субстрату протромбіну S₂₂₃₈ та 0,05 М Tris-HCl буфер, рН 7,4, що містив 0,13 М NaCl. Спонтанну активність препаратів перевіряли в системі, що не містила тромбіну. Суміш інкубували при температурі 37 °С. Рівень активності антитромбіну III реєстрували спектрофотометрично за розщепленням хромогенного субстрату тромбіну S₂₂₃₈ при довжині хвилі 405 нм на рідері-спектрофотометрі BioTek Instruments, Inc.

Активували плазміноген стрептокіназою в лунках мікропланшета. Реакційна суміш містила 1,2 к.о./мл Глу-Пг, 10 МО/мл стрептокінази, 150 мкг Ig G, 0,3 мМ S₂₂₅₁ та 0,05 М фосфатний буфер, рН 7,4. Об'єм реакційної суміші становив 250 мкл. Як контроль використовували аналогічну суміш, але без вмісту Ig G хворих на СЧВ. Інкубацію проводили при 37 °С. Ступінь активації плазміногена визначали за розщепленням хромогенного субстрату S₂₂₅₁. Вимірювали зміну поглинання при 405 і 492 нм та будували криві залежності зміни поглинання за 405 нм від часу інкубації проб.

Активували плазміноген тканинним активатором аналогічно у суміші, яка містила 1,2 к.о./мл Глу-Пг, 10 МО/мл ТАП, 150 мкг Ig G,

0,3 мМ S_{2251} , 2 мкМ FCB-2 та 0,05 М фосфатний буфер, рН 7,4 до об'єму 250 мкл.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У системі згортання крові одним із ключових факторів є тромбін, який виконує специфічні протеолітичні та гормоноподібні функції. Він впливає на всі три ланки системи гемостазу, і регуляція його активації є важливим процесом підтримання гомеостазу [8]. Антитромбін III – основний антагоніст тромбіну, на який припадає 75 % всієї антикоагулянтної активності плазми. Він інактивує фактори IXa, Xa, XIa, XIIa, калікреїн та власне сам тромбін [5]. У літературі останніх років зустрічаються дані щодо впливу розвитку хвороби на процес активації протромбіну ендо- та екзогенним активаторами [2]. Проте не проаналізовано вплив аутоантитіл сироватки крові хворих на функціонування тромбін-антитромбінової системи.

За відсутності гепарину антитромбін III повільно і незворотно інгібує тромбін та інші фактори. За присутності гепарину антитромбін III набуває здатності швидко інгібувати дані ферменти. Згідно з цими міркуваннями, ми застосували модельну систему *in vitro*, яка містила гепарин, плазму крові донора з антитромбіном III та індивідуальні фракції Ig G хворих на СЧВ. Раніше було показано, що індивідуальний вміст Ig G у пацієнтів значно відрізняється [1]. Це дає змогу припустити, що специфічність цих Ig G також може значно варіювати у різних хворих. Тому при дослідженні впливу антитіл, які утворюються за розвитку СЧВ, на антитромбін III ми використовували індивідуальні фракції антитіл хворого.

Активність антитромбіну III ми визначали в плазмі крові донорів з використанням препарату чистого тромбіну. Як видно з рисунка 1, чистий тромбін швидко розщеплює хромогенний субстрат (крива "Тромбін"). Додавання плазми крові донорів з антитромбіном III

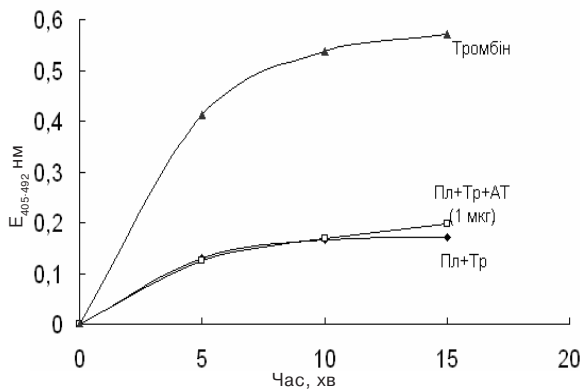


Рис. 1. Вплив антитіл хворого А на активність тромбіну в плазмі крові з антитромбіном III.

ефективно знижує активність тромбіну (крива "Пл+Тр"). Однак додавання антитіл хворого А у фізіологічних концентраціях в плазму крові донорів не впливає на інгібування антитромбіном III тромбіну (крива "Пл+Тр+АТ").

Отриманий результат свідчить про те, що у фракції Ig G хворого А не виявлено антитіл до антитромбіну III і антикоагулянтна активність плазми на рівні цього білка не порушується. Для проведення наступних дослідів ми використали аналогічну модельну систему, але з додаванням загальної фракції Ig G, виділених із плазми крові хворих на СЧВ. Змін активності антитромбіну III також не було виявлено. Таким чином, встановлено, що антитіла, що накопичуються в кровотоці хворих на СЧВ, не впливають на антикоагулянтну функцію антитромбіну III в плазмі крові.

На наступному етапі роботи досліджували вплив загальної фракції антитіл хворих на СЧВ на активацію плазміногена екзо- та ендоактиваторами. Плазміноген є неактивним попередником ферменту плазміну і показником стану фібринолітичної системи крові. Він характеризує здатність системи гемостазу вчасно розчиняти новоутворені фібринові згустки [10]. Як видно з рисунка 2, Ig G хворих на СЧВ не спричиняють значних змін процесу активації плазміногена за присутності стрептокінази. Криві дослідів та контролю практично збігаються.

Також проводили дослідження активації плазміногена його фізіологічним активатором – тканинним активатором плазміногена (t-PA) під дією Ig G хворих на СЧВ (рис. 3). На рисунку наведено залежність швидкості активації плазміногена від присутності Ig G хворих

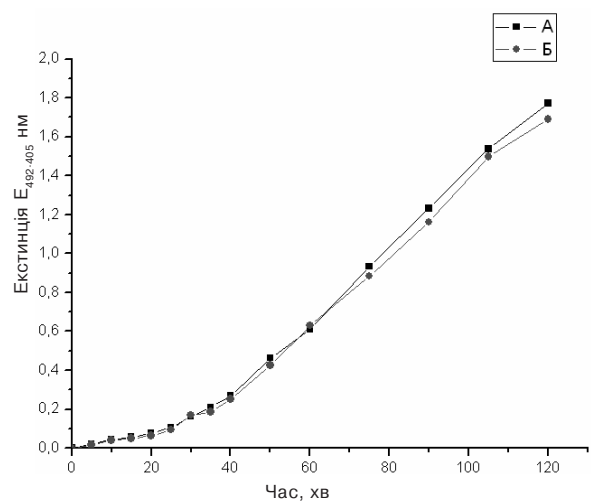


Рис. 2. Активація плазміногена стрептокіназою.

Примітка. А – контроль; Б – під впливом Ig G хворих на СЧВ.

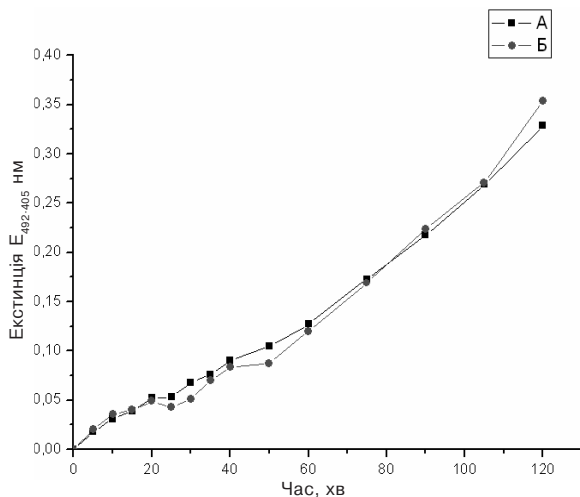


Рис. 3. Активація плазміногена тканинним активатором.

Примітка. А – контроль; Б – під впливом Ig G хворих на СЧВ.

на СЧВ. Криві контролю та досліджу не мають статистично значущих відмінностей. Таким чином, отримані дані дозволяють нам стверджу-

вати, що активація плазміногена за розвитку СЧВ не порушується, тобто у фракції Ig G сироватки крові хворих на системний червоний вовчак відсутні антитіла як до плазміногена, так і до тканинного активатора плазміногена.

ВИСНОВКИ. Показано, що Ig G сироватки крові хворих на системний червоний вовчак не впливають на процес активації антитромбіну III. Такий результат свідчить про відсутність у фракції імуноглобулінів антитіл до даного фактора. Дослідження активації плазміногена екзогенним активатором стрептокіназою та основним фізіологічним активатором – t-PA не виявили відмінностей процесу в контрольних зразках та за присутності Ig G сироватки крові хворих на системний червоний вовчак. Застосування двох активаторів, різних за природою дії, дає змогу стверджувати, що за розвитку СЧВ не порушується активація даного проферменту, тобто в дослідженій фракції імуноглобулінів немає антитіл до тканинного активатора плазміногена та до самого плазміногена.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вовк Т. Б. Аутоімунні антитіла до ключових компонентів системи зсідання крові, які утворилися в кровотоці при системному червоному вовчаку / Т. Б. Вовк, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко // Фізика живого. – 2010. – **18**, № 3. – С. 59–63.
2. Шевчук С. В. Комплексна діагностика тромбофілії за системного червоного вовчака / С. В. Шевчук, О. В. Горницька, Т. М. Чернишенко // Лаб. діагностика. – 2010. – **1**, № 51. – Р. 3–7.
3. Al-Homood I. A. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: a review article / I. A. Al-Homood // ISRN Rheumatol. – 2012. – Р. 428–269.
4. Aringer M. Systemic lupus erythematosus / M. Aringer, F. Hiepe // Rheumatol. – 2011. – **70**, № 4. – Р. 313–323.
5. Blajchman M. A. An overview of the mechanism of action of antithrombin and its inherited deficiency states / M. A. Blajchman // Blood. Coagul. And Fibrinol. – 1994. – **5**. – Р. 5–11.
6. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States / D. L. Jacobson, S. J. Gange, N. R. Rose, N. M. H. Graham // Clinical Immunology and Immunopathology. – 1997. – **84**, № 3. – Р. 223–243.
7. Marrack P. Autoimmune disease: why and where it occurs / P. Marrack, J. Kappler, B. L. Kotzin // Nature Medicine. – 2001. – **7**, № 8. – Р. 899–905.
8. Nesheim M. Thrombin, thrombomodulin and TAFI in the molecular link between coagulation and fibrinolysis / M. Nesheim, M. Wang, M. B. Boffa // Thromb. Haemost. – 1997. – **78**. – Р. 386–391.
9. Salaman M. R. / A two-step hypothesis for the appearance of autoimmune disease / M. R. Salaman // Autoimmunity. – 2003. – **36**, № 2. – Р. 57–61.
10. Wallen P. Characterization of human plasminogen / P. Wallen, B. Wiman // Biochem. et Biophys. Acta. – 1970. – **221**. – Р. 20–30.

Т. Б. Вовк, Н. К. Кравченко, Л. И. Остапченко
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ВЛИЯНИЕ Ig G СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ НА ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ АНТИТРОМБИНА III И ПЛАЗМИНОГЕНА

Резюме

Показано, что Ig G, образующиеся в плазме крови при системной красной волчанке, не влияют на активацию антитромбина III. Активация плазминогена стрептокиназой и тканевым активатором в присутствии Ig G больных системной красной волчанкой также не нарушается.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: системная красная волчанка, антитромбин III, плазминоген.

T. B. Vovk, N. K. Kravchenko, L. I. Ostapchenko
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

INVESTIGATION OF THE SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS SERUM Ig G EFFECT ON THE ACTIVATION OF ANTITHROMBIN III AND PLASMINOGEN

Summary

It was shown that Ig G formed in blood plasma of patients with systemic lupus erythematosus had no effect on the activation of antithrombin III. Activation of plasminogen by streptokinase and tissue-type activator in the presence of systemic lupus erythematosus serum Ig G also was not affected.

KEY WORDS: systemic lupus erythematosus, antithrombin III, plasminogen.

Отримано 23.11.12

Адреса для листування: Н. К. Кравченко, вул. Володимирська, 64, кв. 13, Київ, 01601, Україна, e-mail: burlova@mail.ru.

СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПОКАЗНИКІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ПРИ МІСЦЕВОМУ ВИКОРИСТАННІ ПОДРІБНЕНОГО СУБСТРАТУ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМОІМПЛАНТАТА ДЛЯ ЗАКРИТТЯ ІНФІКОВАНИХ ОПІКОВИХ РАН ІІІ–ІV СТУПЕНІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

В експериментах на морських свинках показано доцільність місцевого використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата при інфікованих опікових ранах ІІІ–ІV ступенів. Застосування подрібненого субстрату ксеношкіри забезпечує очищення опікових ран, стимулює регенерацію, фактори неспецифічного імунного захисту організму опечених тварин, підвищуючи стійкість організму до антигенного навантаження, спричиненого опіковою травмою.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ксенодермоімплантат, опіки, подрібнений субстрат ксеношкіри.

ВСТУП. Рівень ендотоксемії та зміни показників імунологічних досліджень при опіковій травмі залежать від площі, глибини опікових ран та перебігу ранового процесу. Вже на 2–3 добу після опіку у тварин розвивається опікова токсемія як другий період опікової хвороби. Вирішальну роль у розвитку інтоксикації відіграють токсичні речовини різної природи: специфічні токсини, що надходять із вогнища термічного ураження при пошкодженні тканин, розвитку запалення; неспецифічні токсини – пептиди середньої молекулярної маси, що утворюються при протеолітичному розщепленні білків плазми, біогенні аміни, компоненти кінінової системи, простагландини, ендоперекиси ліпідів, гідролази клітинного походження та ін.; токсини мікробного походження, медіатори імунних реакцій [5, 7].

Саме для зменшення проявів інтоксикації використовують місцево на рани різноманітні біологічні й синтетичні покриття [3], оскільки через рани втрачаються вода, білки, електроліти, а сама рана є джерелом інфікування організму. Названі патогенетичні фактори призводять до різнопланових ускладнень і високого рівня летальності при глибоких поширених опіках з різко вираженою токсемією [3, 7].

У лікувальних закладах України для лікування опікових ран як тимчасове біологічне покриття широко використовують ліофілізовані ксенодермоімплантати [2]. Клінічний досвід

© І. М. Кліщ, А. В. Цимбалюк, 2013.

показав їх високу ефективність при поверхневих, а також свіжих неінфікованих глибоких опіках [5]. Разом із цим, при застосуванні ліофілізованих ксенодермоімплантатів для місцевого лікування ран після ранньої некректомії, а також за наявності інфікованих ран із значними серозно-гнійними виділеннями ефективність їх використання незначна [1, 4].

Тому пошук нових препаратів та замінників шкіри для місцевого лікування опікових ран є актуальним і необхідним.

Дослідження фізико-хімічних, біохімічних та біофізичних властивостей подрібненого субстрату з ліофілізованого ксенодермоімплантата характеризують подрібнений субстрат як новий високоефективний препарат з високим сорбційно-антитоксичним, пластичним, метаболічним і окисно-відновним потенціалом [6, 8], і він може бути використаний для розробки нових методичних схем місцевого лікування опікових ран.

Метою даної роботи було дослідити стан ендогенної інтоксикації та зміни деяких імунологічних показників при використанні подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата при опіковій травмі в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на лабораторних тваринах – морських свинках-самцях. Опікову травму відтворювали під внутрішньом'язовим

каліпсоловим наркозом шляхом спрямування водяної пари при температурі 96–97 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини впродовж 60 с на площі 18–20 % поверхні тіла.

Піддослідних тварин було поділено на 3 групи по 18 особин у кожній: до 1-ї групи входили тварини, в яких на рани накладали антисептики та мазеві пов'язки (контроль); до 2-ї – тварини з опіковою травмою, в яких після дренажної некректомії рани покривали клаптями ліофілізованого ксенодермоімплантата (ЛК); до 3-ї – тварини, в яких після некректомії опікову рану покривали подрібненим субстратом ліофілізованого ксенодермоімплантата (ПСЛК).

Подрібнений субстрат ксеношкіри використовували як тимчасову біологічну пов'язку, яка забезпечує бар'єрну функцію, з достатньо вираженими антимікробними та сорбційними властивостями [4, 8].

Місцеве лікування опікових уражень було спрямоване на очищення ран та підготовку їх до пластичного закриття автодермотрансплантатами.

Для вивчення при опіковому ураженні ендотоксемії та деяких імунологічних показників у плазмі крові тварин виводили з досліду шляхом передозування внутрішньом'язового каліпсолового наркозу і декапітації на 7, 14, 21 доби після травми. Ці терміни відповідають стадіям опікової хвороби: ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії.

Для оцінки лікувальної ефективності використання ПСЛК при експериментальній опіковій хворобі як критерій інтоксикації використано тест на мембранну резистентність клітин крові, зокрема еритроцитів у реакції кислотного гемолізу, і тест на токсичність за парамеціями.

Кількість лейкоцитів у периферійній крові, індекс зсуву лейкоцитів, фагоцитарну активність лейкоцитів, циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) вивчали за загальноприйнятими методиками.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналізуючи результати експериментального дослідження опікового ураження, слід відмітити суттєві відмінності динаміки перебігу токсемії, ранового процесу і зміни показників імунологічних досліджень в усіх трьох групах лабораторних тварин.

Уже на 4–5 добу після опіку відмічали значні серозно-гнійні виділення з ран. У піддослідних тварин 1-ї групи виділення відзначали з-під коагуляційного некрозу в значній кількості. У морських свинок 2-ї групи спосте-

рігали відшарування клаптів ксеношкіри. Інфікування ран поширювалося на сусідні ділянки ран, що змушувало проводити щоденні перев'язки з антисептиками або заміною ЛК. У тварин 3-ї групи вже через 2–3 перев'язки з ПСЛК відмічали зменшення виділень з ран. На 14–15 добу проведеного експерименту у тварин 3-ї групи рани були чисті, без серозно-гнійних виділень, готові до проведення автодермопластики.

Слід зазначити, що в клінічному відношенні адсорбційна та пов'язана з нею антитоксична здатність подрібненого субстрату ксеношкіри має особливо важливе значення. Так, накладений на рану подрібнений субстрат, завдяки своїм активним сорбційним властивостям, активно проводить адсорбцію з неї токсинів, що сприяє інтенсивнішій елімінації токсинів з плазми крові, покращує перебіг опікової хвороби.

Отже, найбільш ефективно проходили очищення опікових ран, особливо інфікованих, зменшення ранових виділень та запального процесу, підготовка їх до автодермопластики у тварин 3-ї дослідної групи, в яких для місцевого лікування використовували ПСЛК.

При обстеженні в піддослідних тварин усіх трьох груп відмічали зростання токсичності сироватки крові на 7-му добу після опіку. Показники токсичності сироватки крові за індексом резистентності еритроцитарних мембран досягали мінімальних значень на 7-й день проведення експерименту і були збільшені у 1-й групі до 156 %, 2-й – до 149 %, 3-й – до 139 % відносно показників токсичності сироватки крові за резистентністю мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу інтактних тварин (табл. 1).

В подальшому відмічали тенденцію до зменшення токсичності крові у піддослідних тварин: на 14-ту добу дослідження – до 142, 136 та 121 % відповідно, а на 21-шу добу в 1-й групі тварин – до 121 %, у 2-й – до 118 %, у 3-й – до 105 % відносно показників токсичності сироватки крові інтактних тварин (табл. 1).

Показники токсичності сироватки крові за парамеційним тестом також показали схожу картину змін. Так, на 7-му добу показник токсичності сироватки крові у 1-й групі піддослідних тварин був підвищений до 148 %, у 2-й – до 144 %, у 3-й – до 138 %, а в подальшому зменшувався і на 21-шу добу дослідження становив у 1-й групі 112 %, у 2-й – 112 %, а в 3-й – 102 % відносно інтактних тварин (табл. 2).

Поряд з бар'єрними тканинами у відповіді неспецифічних захисних систем організму на зовнішнє пошкодження вкрай важливу роль

Таблиця 1 – Токсичність сироватки крові тварин за резистентністю мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу

Бій ф н іє ймян	Струкний ел мв осамн		
	зш н	Н2ш н	9Нш н
Нш н	Н9в71±в290н	Н3в81Нв70н	99в91Нв40н
9лб н	Н2в241±в820н	Н5в9±1±в570н	98в±1±в350н
8шкн	Нзв9з1±в380 [#] н	99в981±в30 [#]	93в4±1±в4 [#] н
Іяи і иятн	95в981±в7Нн		

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

- 1) * – достовірність відмінностей між інтактними тваринами і дослідними групами;
- 2) # – достовірність відмінностей між контрольною і 3-тю дослідною групами.

Таблиця 2 – Токсичність сироватки крові тварин за парамеційним тестом

№1(дг аунд	Долі да груптуд		
	вр д	Е2н д	к) 2в д
) 2в д	ЕкгимЕ-д	Сгвимв-д	вп и) гкд
к2ц д	ЕгвимЕ-д	Сгвимв-д	вгки) гкд
О2і д	Сг) имЕ-д	згЕимв-д	вгми) гкд
,пн . нпд	вгкимСд		

відіграють інші клітинні елементи, зокрема такі складові системи крові, як лейкоцити. Зміна кількості лейкоцитів у периферійній крові тварин контрольної групи, для лікування яких використовували традиційні методи, відповідала характеру реакції на опікове пошкодження за нормоергічним типом (табл. 3). На 7-му добу експерименту у тварин цієї групи, опіки в яких лікували з використанням розчинів та водорозчинних мазей, відмічено лейкоцитоз, що становив $(8,52 \pm 0,16) \cdot 10^9/\text{л}$ проти $(6,23 \pm 0,14) \cdot 10^9/\text{л}$ в інтактних тварин. Значення індексу зсуву лейкоцитів (ІЗЛК) також було підвищеним проти рівня інтактних тварин на 73 %.

Аналогічну ситуацію стосовно кількості лейкоцитів у тварин 1-ї групи спостерігали і надалі. Якщо на 14-ту добу вона достовірно відрізнялася від показника інтактних тварин та дорівнювала 119 % до їх рівня, то на завершення (21-ша доба) складала 106 % від показника здорових морських свинок ($p > 0,05$).

На 14-ту добу відмічено зменшення ІЗЛК до 104 % проти показника інтактних тварин, а на 21-шу добу показник навіть дещо знизився і становив 98 % від норми ($p > 0,05$).

Кількість лейкоцитів периферійної крові експериментальних тварин 2-ї групи на 7-му добу становила $(7,42 \pm 0,17) \cdot 10^9/\text{л}$, що складало 119 % відносно інтактних тварин. На 14-ту добу кількість лейкоцитів становила 111 %, а на 21-шу – 108 % щодо норми.

На 7-му добу ІЗЛК у морських свинок 2-ї дослідної групи дорівнював 150 % від показника інтактних тварин та був на 23 % меншим порівняно з 1-ю дослідною групою.

Надалі, як і в морських свинок 1-ї дослідної групи, відмічали поступове та рівномірне

зменшення кількості ІЗЛК до 100 % на 14-ту добу та 96 % на 21-шу добу від рівня інтактних тварин (табл. 3).

Завдяки своїм помірним антисептичним та вираженим мембранопротекторним властивостям, місцеве лікування з використанням ПСЛК дозволило помітно скорегувати інтенсивність і тривалість запальної та некролітичної фаз катаболічного періоду ранового процесу, зменшити навантаження на захисні механізми тварин та пришвидшити початок репаративних явищ, на що побічно вказували отримані показники щодо стану неспецифічної резистентності у 3-й дослідній групі (табл. 3).

Вже на 7-му добу дослідження вміст лейкоцитів складав 109 % від показника інтактних тварин і був на 28 % меншим від аналогічного у контрольній групі. Надалі зниження кількості лейкоцитів у периферійній крові тварин 3-ї дослідної групи було рівномірним, і на 14-ту добу показник становив 105 %, а на 21-шу – перебував на рівні інтактних тварин.

Щодо співвідношення різних форм лейкоцитів помітно суттєву різницю: якщо у контролі момент переважання зрілих форм над незрілими наставав лише на 14-ту добу, то в 3-й дослідній групі вже на 7-му добу ІЗЛК наближався до показника інтактних тварин та становив 109 % від його рівня і був меншим на 24,52 % ($p < 0,001$) від показника контрольної групи.

Поряд із кількісними показниками стану будь-якої системи організму важливе значення має і її функціональний потенціал. Ми досліджували фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ) як один із важливих тестів напруження та ефективності роботи захисних механізмів, яка багато в чому залежить від стану реактив-

Таблиця 3 – Показники неспецифічного захисту організму тварин з опіковою травмою на тлі застосування коригувальних чинників ($M \pm m$)

руопК д лтьнуоуNугг1(пь= д	Дрслі днаі о г д			
	2ні)нгКд	Еке і д) Ыгноьм-Од	зкві дцОд	, кнїдї бцОд
Ом-) Кн- дму7) Ы4 нї(дЕ8 ^о ±мд				
Окпї д	5(з, <8(Е/ д	9(рз<8(Е53д	0(/з<8(Е03д	5(9з<8(Е53 [#] д
Е/ кнї д		0(/з<8(Ез3д	5(>з<8(Е53д	5(р5<8(Е/ [#] д
зЕке і д		5(р9<8(Ез д	5(0з<8(Е/3д	5(з9<8(Ер д
ЅцОд				
Окпї д	8(8рз<8(880д	8(8><8(8893д	8(809<8(8Е8д	8(8р0<8(8ЕЕд
Е/ кнї д		8(8р/ <8(889д	8(8рз<8(880д	8(8р, <8(88рд
зЕке і д		8(8рЕ<8(889д	8(8р8<8(88рд	8(8рз<8(885д
Н Пц(дї д				
Окпї д	/9(, / <8(, 5д	/9(><8(5з д	/ >5<8(5/ д	р/ (, <8(/з3 [#] д
Е/ кнї д		/9(р<8(/0 д	/ >з<8(/, д	/9(5<8(, з д
зЕке і д		/9(, <8(, / д	/9(/ <8(з9д	рЕ(5<8(з>3 [#] д
ЗД(д %±п мд				
Окпї д	9р(Е5<8(з >д	з89<, (/3д	з8з<з(р3д	Е55<з(93 [#] д
Е/ кнї д		Е>з</ (03д	Е95</ (, 3д	Е, з<, (Е3 [#] д
зЕке і д		Е0/ <9(93д	Ер9</ (93д	Е8р<з(Е3 [#] д

ності організму. Отримані результати наведено в таблиці 3.

Так, у тварин 1-ї групи на 7-му добу було відмічено незначне зростання активності фагоцитів, яке становило 101 % до показника інтактних тварин. Впродовж усіх наступних термінів показник також суттєво не відрізнявся від норми (табл. 3). Очевидно, значне навантаження на механізми неспецифічного захисту продуктами життєдіяльності мікроорганізмів, ендогенна інтоксикація, пов'язана з піком розвитку запального процесу та катаболічними явищами в ділянці рани, спричинили помірний депресивний вплив на фагоцитарний потенціал.

У піддослідних тварин 2-ї групи на 7-му добу показник ФАЛ становив 103 %. На цей час рівень активності фагоцитів був меншим від показника здорових тварин (при $p \leq 0,001$). У наступні терміни в морських свинок 2-ї дослідної групи виявляли незначне зростання ФАЛ, яке, однак, було недостовірним (табл. 3).

Щоденна місцева терапія ранового процесу ПСЛК дозволила суттєво скорегувати відповідь організму на опікове пошкодження. Антибактерійний потенціал ПСЛК сприяв зменшенню мікробної контамінації рани, а також мав мембранопротекторний ефект, у результаті чого зменшувалося подразнювальне та антигенне навантаження на захисні механізми морських свинок 3-ї дослідної групи. Так, показник ФАЛ на 7-му добу складав 112 %, на 14-ту – 101 % та на 21-шу – 107 % відносно інтактних тварин.

Отримані дані можна пояснити меншою деструкцією тканин дерми продуктами запально-інфекційного процесу, швидшим процесом завершення некролізу та початком анаболіч-

ної фази з проліферацією замісної грануляційної тканини. На 21-шу добу показники морських свинок 3-ї дослідної групи не відрізнялися від показників, характерних для інтактних тварин (табл. 3).

Одним з індикаторів стану імунного статусу організму і розвитку автоімунних процесів є рівень циркулюючих імунних комплексів у крові. Тривала циркуляція в організмі імунних комплексів навіть при незначному підвищенні їх рівня призводить до утворення накопичень останніх у тканинах, підвищеної агрегації і адгезії тромбоцитів, що, у свою чергу, спричиняє порушення мікроциркуляції крові та облітерацію судин гемомікроциркуляторного русла, пошкодження і некроз тканин [7].

Зміни концентрації ЦІК у сироватці крові помітно відрізнялись у тварин кожної експериментальної групи.

На 7-му добу отримано такі дані: найнижчу концентрацію було виявлено у 3-й дослідній групі, де для місцевого лікування використовували ПСЛК, вона складала 204 % від рівня інтактних тварин. Найвищий вміст загальних ЦІК спостерігали в контрольній групі, він становив 244 % від норми. У подальшому було відзначено зниження концентрації в кожній групі. На 14-ту добу в контрольній групі концентрація складала 225 % від показника інтактних тварин, а на 21-шу – 204 %.

У 2-й і 3-й групах на 14-ту та 21-шу доби дослідження концентрація ЦІК дещо зменшувалася і становила, відповідно, 218 та 185 % (у 2-й групі) і 155 та 123 % (у 3-й групі) від рівня інтактних тварин.

Наведені вище результати свідчать про те, що подрібнений субстрат ксенощкіри є ефек-

тивним засобом корекції загоєння інфікованих опікових ран в експериментальних тварин. Піком його позитивного впливу були фази розвитку ексудативного процесу та очищення рани від некротичних мас. Внаслідок пригнічення вираження запального процесу подрібненим субстратом ЛК різко скорочувалися періоди цих двох етапів, значно швидше наставала фаза анаболічних змін у тканинах рани, суттєво скорочувався період очищення рани від некротичних тканин (6–7 діб), створювалися умови для швидшого проведення автодермопластики рани.

ВИСНОВКИ. 1. Місцеве застосування для закриття інфікованих опікових ран III–IV ступенів подрібненого субстрату ліофілизованого ксенодермоімплантата в експерименті супроводжується зниженням ступеня вираження ендогенної інтоксикації внаслідок адсорбції з рани токсичних продуктів, що сприяє інтенсивнішій елімінації токсинів з плазми крові й забезпечує очищення опікової рани.

2. Використання подрібненого субстрату ліофілизованого ксенодермоімплантата стимулює фактори неспецифічного імунного захисту організму опечених тварин, підвищуючи стійкість організму до антигенного навантаження, спричиненого опіковою травмою.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев А. А. Применение биологической повязки “Ксенодерм” для лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, Ю. И. Тюрников, С. В. Попов // Комбустиология. – 2007. – № 32. – С. 34–37.

2. Бигуняк В. В. Применение криолиофилизированной ксеногенной кожи в лечебных учреждениях Украины / В. В. Бигуняк, Н. В. Гуда, А. В. Цимбалюк // 2-й съезд Ассоциации врачей экстренной медицинской помощи, посвященный десятилетию службы экстренной медицинской помощи Республики Узбекистан, Ташкент, 21–22 окт. 2011 г. – Ташкент, 2011. – С. 49–50.

3. Бигуняк В. В. Використання ліофізованих ксенодермотрансплантатів у комбустиології / В. В. Бигуняк, М. Ю. Повстаний, Н. В. Гуда // Метод. рекомендації. – 2003. – 21 с.

4. Бигуняк В. В. Використання подрібненого субстрату кріоконсервованої ксеношкіри в лікуванні хворих із раневим процесом / В. В. Бигуняк, Н. В. Гуда, А. В. Бигуняк // Матеріали наукового конгресу 22-го

з'їзду хірургів України. – Вінниця, 2–5 черв. 2010 р. – Вінниця, 2010. – Т. 1. – С. 128–129.

5. Гуда Н. В. Використання ліофізованих ксенодермотрансплантатів для лікування дермальних опіків у потерпілих похилого і старечого віку / Н. В. Гуда, А. В. Бигуняк // Шпитальна хірургія. – 2007. – № 3. – С. 47–52.

6. Гуда Н. В. Вміст амінокислот та мікроелементів кріоліофізованої ксеношкіри як показник її біологічної активності / Н. В. Гуда, А. В. Цимбалюк // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 1 (50). – С. 70–73.

7. Местное медикаментозное лечение ожоговых ран: проблемы и перспективы / А. А. Алексеев, М. Г. Крутиков, А. Э. Бобровников, М. Г. Логвилова // Актуальные проблемы термической травмы. – СПб., 2009. – С. 236–237.

8. Цимбалюк А. В. Антитоксичний феномен кріоліофізованого ксенодермального субстрату / А. В. Цимбалюк, Н. В. Гуда // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 2 (51). – С. 64–67.

И. Н. Клищ, А. В. Цимбалюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ МЕСТНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО СУБСТРАТА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМОИМПЛАНТАТА ДЛЯ ЗАКРЫТИЯ ИНФИЦИРОВАННЫХ ОЖОГОВЫХ РАН III–IV СТЕПЕНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме

В экспериментах на морских свинках показана целесообразность местного использования измельченного субстрата лиофилизированного ксенодермоимплантата при инфицированных ожоговых ранах III–IV степеней.

Применение измельченного субстрата ксенокожи обеспечивает очищение ожоговых ран, стимулирует регенерацию, факторы неспецифической иммунной защиты организма животных с ожогами, повышая стойкость организма к антигенной нагрузке при ожоговой травме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ксенодермоимплантат, ожоги, измельченный субстрат ксенокожи.**

I. M. Klishch, A.V. Tsymbaliuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND INDICES OF NON-SPECIFIC IMMUNE ORGANISM DEFENSE AT LOCAL APPLICATION OF MORSSELIZED SUBSTRATE OF LIOPHILIZED XENOGRAFT FOR CLOSING THE INFECTED BURN

Summary

Expediency of morselized xenograft substrate local usage at III–IV stage infected burns was shown experimentally on guinea pigs. Application of morselized xenograft substrate provides burn wound cleaning, stimulates regeneration and non-specific immune defense factors in burned animal's organisms, which at the same time increases organism's persistence to antigen load in case of burn trauma.

KEY WORDS: **xenograft, burns, morselized xenograft substrate.**

Отримано 17.01.13

Адреса для листування: *I. M. Кліщ, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ХОЛІНЕРГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ В МЕХАНІЗМАХ НЕКРОТИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

В експериментах на статевозрілих щурах вивчено патогенетичну роль системи оксиду азоту та холінергічної регуляції в механізмах пошкодження міокарда щурів при гіперадреналінемії залежно від статі. Як донатор, так і неселективний блокатор синтаз оксиду азоту порушували метаболізм холінергічного медіатора ацетилхоліну в міокарді, але зміни переважали в його шлуночках і залежали від статі тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серце, холінергічна регуляція, стать, оксид азоту, ацетилхолін.

ВСТУП. Різке зростання стресових перевантажень у житті людей сприяє підвищенню захворюваності на серцево-судинну патологію. Патологія серцево-судинної системи залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини як одна з основних причин смертності та інвалідації людей працездатного віку. Згідно з даними ВООЗ, смертність від цієї патології в нашій країні становить понад 50 %. За показниками захворюваності більшість становлять чоловіки, проте смертність є вищою в жінок, особливо в осіб похилого віку [6]. Така статистика не лише доводить важливу роль статевих гормонів у регуляції діяльності серця та судин, але й визначає необхідність детальнішого вивчення механізмів розвитку та особливостей перебігу серцево-судинної патології залежно від статі [5, 7, 9]. Доведено, що відмінності у чинниках ризику, клінічних проявах, діагностичних і лікувальних підходах для чоловіків та жінок найбільш виражені саме при серцево-судинних захворюваннях. Серед природних захисних факторів серця за таких умов особливу роль відіграють холінергічні механізми та система оксиду азоту, синергічні ефекти яких є предметом наукових досліджень. Вони проявляють стреслімітуючі ефекти. Безумовно, універсальним регулюючим фактором мікроциркуляції є оксид азоту (NO). Дефіцит оксиду азоту призводить до порушення судинного тонуусу з розвитком вазоконстрикції, підвищення агрегації тромбоцитів, проліферативних змін у судинній стінці, вивільнення прозапальних цитокінів [8,

© К. Є. Юрїїв, Ю. І. Бондаренко, 2013.

11]. Ця молекула є важливим регулятором метаболізму в міокарді. Нез'ясованим залишається механізм взаємозв'язку даних компонентів за умов пошкодження міокарда, яким чином вони доповнюють чи, можливо, обмежують ефекти один одного. Для з'ясування цього питання було вирішено провести кореляційний аналіз між вмістом нітрит-аніона та ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків самців і самок щурів при розвитку некротичного процесу в міокарді за умов зміни активності системи оксиду азоту.

Метою даного дослідження було з'ясувати патогенетичні взаємозв'язки між системою оксиду азоту та вегетативною регуляцією серця при некротичному його пошкодженні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти провели на 108 білих щурах обох статей (175–210 г), в яких моделювали адреналінове пошкодження міокарда (АПМ) шляхом внутрішньом'язового введення адреналіну (1 мг/кг). Активність синтезу оксиду азоту змінювали введенням L-аргініну (600 мг/кг) в черевну порожнину за 15 хв до відтворення АПМ або L-NAME (NG-Nitro-L-arginine-methyl ester hydrochloride, 25 мг/кг) за аналогічною схемою [9]. В експерименті виділено три серії досліджень (перша – щури з АПМ, друга – щури з АПМ, що розвивалося на тлі прекурсора оксиду азоту L-аргініну, третя – щури з АПМ, що розвивалося на тлі неселективного блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME). Тварин досліджували на 1 та 24 год [2, 9]. У міокарді передсердь та шлуночків визначали вміст ацетилхоліну (АХ)

біологічним методом [2] та нітрит-аніона (NO_2^-) за високоспецифічним спектрофотометричним методом Гріна на основі кольорової реакції з реактивом Гріса [10]. Усі експерименти проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [4]. Результати досліджень піддавали математичній обробці з визначенням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В експериментах на щурах встановлено, що розвиток АПМ на 1 та 24 год супроводжувався зменшенням вмісту NO_2^- в міокарді передсердь та шлуночків тварин обох статей (табл. 1). Введення L-аргініну інтактним тваринам призвело до зниження вмісту NO_2^- в обох відділах серця. Подальше зменшення вмісту NO_2^- за даних умов відбувалося і на 1 год розвитку АПМ, особливо в міокарді шлуночків. На 24 год експерименту даний показник у міокарді передсердь дещо підвищився, проте не відновився до вихідного значення, натомість у шлуночках він перевищив його. При порівнянні вмісту NO_2^- в міокарді шлуночків тварин різної статі було виявлено, що у самок його концентрація менша, ніж у самців.

Неселективна блокада синтаз оксиду азоту шляхом введення L-NAME призвела до ще більш значного зменшення даного метаболіту в міокарді. При цьому чутливішим до блокатора оксиду азоту виявився міокард шлуночків самців. Розвиток АПМ на тлі L-NAME супроводжувався також зменшенням NO_2^- , що особливо було виражено на 1 год спостереження. На 24 год експерименту вміст NO_2^- в міокарді

шлуночків тварин обох статей нормалізувався, а в міокарді передсердь залишався зниженим. Чутливішими до такого впливу виявилися самки.

Досліджуючи вміст ацетилхоліну в серці тварин, ми встановили, що L-аргінін та L-NAME суттєво впливають на вміст даного медіатора й активність його ферментативного гідролізу в міокарді передсердь і шлуночків (табл. 2). Пошкодження серця адреналіном на тлі прекурсора оксиду азоту відбулось за умови збереження високого рівня АХ у передсердях та без зміни його вмісту в шлуночках. L-NAME проявив сильніший вплив на інтенсивність ферментативного гідролізу АХ, особливо в міокарді шлуночків, змінюючи характер динаміки досліджуваних показників у процесі розвитку некротичного процесу. Більш чутливими до модулюючого впливу на метаболізм АХ виявилися самки щурів.

Кореляційний аналіз підтвердив зв'язок між рівнями NO_2^- і АХ, при цьому існували дуже сильна пряма залежність між даними показниками в першій серії досліджень у групі самців – $r=0,9988$ ($p<0,05$) та сильна у самок – $r=0,8918$ ($p<0,05$). Аналогічні зміни були як у міокарді передсердь, так і в міокарді шлуночків. При порівнянні результатів дослідження пошкодження міокарда на тлі прекурсора NO (друга серія тварин) спостерігали іншу закономірність. Так, у даному випадку в міокарді передсердь виявили сильну пряму залежність між рівнями NO_2^- і АХ у самців – $r=0,8364$ ($p<0,05$) та сильну зворотну залежність у самок – $r=-0,7126$ ($p<0,05$). У міокарді шлуночків відзначено слабкий кореляційний зв'язок між рівнями NO_2^- і АХ ($r=-0,2260$ у самців та

Таблиця 1 – Вміст нітрит-аніона в міокарді передсердь та шлуночків щурів при пошкодженні міокарда адреналіном на тлі L-аргініну і L-NAME (ммоль/кг, $M \pm m$, $n=6$)

Д	ослід	онан Д	грунлр Д	Кть Д/р(Д	Кть Д=Др(Д
т слс(блс(дд	т слз адд	Д	=2 Еке2ЕД	п2ипке2НеД	е2- ке2ОмД
	всОД. пб, 7Дад 8 #	Д	=2=ке2- Д) 2) ке2имД	е2Еке2- мД
	0л71ад	Д	п2 Еке2иД	п2) ке2) мД	п2Неке2пмД
	врал іуіу #	Д	п2 =ке2=Д	п2Оке2пмД	п2Неке2=мД
	ЗлсндД	Д	п2и- ке2=Д	е2Неке2пмД	Не еке2імД
	вр4 / > S#	Д	п2и<ке2НеД	е2Е=ке2) мД	НеНеке2<мД
н п7урПбД	т слз адд	Д	=2ипке2НеД	п2ЕОке2НемД	е2- ке2- мД
	всОД. пб, 7Дад 8 #	Д	=2=пке2пД	п2Еике2НемД	е2Оке2- мД
	0л71ад	Д	п2) ке2=Д	НеОке2) мД) 2еке2НемД
	врал іуіу #	Д	п2) ке2=Д	НеОЕке2) мД	п2 ике2НемД
	ЗлсндД	Д	п2- ке2иД	е2ОЕке2) мД	п2) ке2НеД
	вр4 / > S#	Д	п2иЕке2НеД	е2Опке2=мД	п2Еке2НеД

Примітки:

- 1) * – достовірна ($p \leq 0,05$) відмінність у межах статі;
- 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі.

Таблиця 2 – Вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків щурів при пошкодженні міокарда адреналіном на тлі L-аргініну і L-NAME (мкмоль/кг, M±m, n=6)

	Серія	Стать	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
Передсердя	Перша (без впливу на NO)	♂	13,1±0,23 [#]	11,1±0,27 ^{*#}	9,1±0,19 ^{*#}
		♀	14,6±0,11 [#]	10,7±0,06 ^{*#}	9,6±0,08 ^{*#}
	Друга (L-аргінін)	♂	18,2±0,19 ^{*#}	16,4±0,15 ^{*#}	15,3±0,19 ^{*#}
		♀	25,0±0,15 ^{*#}	28,0±0,35 ^{*#}	25,5±0,27 ^{*#}
	Третя (L-NAME)	♂	14,1±0,32 ^{*#}	11,6±0,15 ^{*#}	9,6±0,18 ^{*#}
		♀	10,2±0,03 ^{*#}	10,7±0,10 ^{*#}	10,2±0,05 ^{*#}
Шлуночки	Перша (без впливу на NO)	♂	5,5±0,32	3,4±0,13 [#]	2,0±0,21 [*]
		♀	5,8±0,16	2,2±0,11 ^{*#}	2,2±0,23 [*]
	Друга (L-аргінін)	♂	5,1±0,15 [#]	3,0±0,19 ^{*#}	2,5±0,13 [*]
		♀	6,2±0,10 [#]	2,6±0,11 ^{*#}	2,7±0,19 [*]
	Третя (L-NAME)	♂	4,6±0,06 ^{*#}	3,1±0,08 ^{*#}	2,0±0,03 ^{*#}
		♀	6,6±0,16 ^{*#}	2,5±0,11 ^{*#}	3,0±0,13 ^{*#}

Примітки:

- 1) * – достовірна ($p \leq 0,05$) відмінність у межах статі;
- 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі;
- 3) · – достовірна відмінність відносно показника тварин першої серії.

$r=0,1606$ у самок ($p < 0,05$)), що свідчило про втрату за умови пошкодження міокарда взаємодії холінергічної і нітритергічної регуляції серця.

Кореляційний зв'язок між рівнями нітритів і ацетилхоліну на тлі L-NAME у міокарді передсердь самців був значним – $r=0,5407$ ($p < 0,05$), а в самок зворотно пропорційним – $r=-0,6497$ ($p < 0,05$). У міокарді шлуночків самців сильної залежності не виявили, а в самок вона була значною – $r=0,6692$ ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. 1. Некротичне пошкодження міокарда при експериментальній гіперадреналінемії супроводжується зниженням вмісту оксиду азоту та ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків.

2. Активація синтезу оксиду азоту при введенні L-аргініну тваринам з некротичним пошкодженням міокарда призводить до порушень метаболізму холінергічного медіатора АХ, зокрема його зниження в міокарді шлуночків тварин обох статей у ранні періоди розвитку некрозу.

3. Неселективна блокада синтаз оксиду азоту у тварин з некротичним пошкодженням міокарда викликає зменшення вмісту АХ у міокарді як передсердь, так і шлуночків щурів обох статей у всі періоди дослідження.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу донаторів і блокаторів системи оксиду азоту на холінергічну регуляцію серця тварин залежно від статі та розвитку патологічного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адреналінова міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова, І. Л. Попович, А. В. Церковнюк, Л. Г. Бариліак. – К. : Комп'ютерпрес, 1997. – 126 с.
2. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха, С. В. Дзига // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 118–121.
3. Бурлака А. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі [Текст] / А. П. Бурлака, Є. П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2006. – 228 с.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.
5. Марков Х. М. L-аргінін – оксид азота в терапії болезней сердца и сосудов / Х. М. Марков // Кардиология. – 2005. – 45, № 6. – С. 87–95.
6. Ратманова А. Сердечно-сосудистая заболеваемость и смертность – статистика по европейским странам / А. Ратманова // Medicine Review. – 2009. – № 1. – С. 6–12.
7. Сагач В. Ф. Роль ендотелію в регуляції кровообігу / В. Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 1998. – 44, № 3. – С. 115–116.

8. Соловьев А. И. Фармакология и токсикология оксида азота: два лица одной и той же молекулы / А. И. Соловьев, А. В. Стефанов // *Соврем. пробл. токсикологии*. – 1998. – № 1. – С. 35–38.

9. Хара М. Р. Оксид азоту та серцево-судинна система (огляд літератури) / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // *Здобутки клініч. та експер. мед.* – 2010. – **12**, № 1. – С. 14–19.

10. Analysis of nitrate, nitrite and (¹⁵N) nitrate in biological fluids / C. Green, A. W. David, J. Golawski [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, № 1 – P. 131–138.

11. Monkada S. Nitric oxide: Physiology, patophysiology and pharmacology / S. Monkada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // *Pharmacol. Rev.* – 1991. – **43**, № 2. – P. 109–142.

Е. Е. Юриив, Ю. И. Бондаренко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

РОЛЬ СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА И ХОЛИНЭРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ В МЕХАНИЗМАХ НЕКРОТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА

Резюме

В экспериментах на половозрелых крысах изучено патогенетическую роль системы оксида азота и холинэргической регуляции в механизмах повреждения миокарда крыс при гипердреналинемии в зависимости от пола. Как донатор, так и неселективный блокатор синтаз оксида азота нарушали метаболизм холинэргического медиатора ацетилхолина в миокарде, но изменения преобладали в его желудочках и зависели от пола животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сердце, холинэргическая регуляция, пол, оксид азота, ацетилхолин.

K. Ye. Yuriyiv, Yu. I. Bondarenko

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF NITRIC OXIDE AND REGULATION IN CHOLINERGIC MECHANISMS NECROTIC MYOCARDIAL INJURY IN RATS OF DIFFERENT SEX

Summary

In the experiments on mature rats there was studied the pathogenic role of nitric oxide and parasympathetic regulation mechanisms of myocardial damage in rats at hyperadrenalinaemia depending on sex differences. Both donor and nonselective blocker of nitric oxide synthase violated the cholinergic neurotransmitter acetylcholine metabolism in the myocardium, but changes in the ventricles dominated and depended on animal sex.

KEY WORDS: heart, cholinergic regulation, sex nitric oxide, acetylcholine.

Отримано 15.01.13

Адреса для листування: К. Є. Юріїв, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

М. М. Савула¹, Н. С. Майовецька², І. С. Якимів², О. І. Лопушанська¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
ОБЛАСНИЙ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИЙ ДИСПАНСЕР², ТЕРНОПІЛЬ

ОСОБЛИВОСТІ КОНЦЕНТРАЦІЇ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ, ЛІКОВАНИХ ПРЕПАРАТАМИ І ІІ РЯДІВ

У 193 хворих на туберкульоз легень визначали концентрацію сечової кислоти в плазмі крові. Гіперурикемія виникала на фоні специфічного лікування, найчастіше в пацієнтів із мультирезистентним туберкульозом, які отримували комбінації препаратів І і ІІ рядів. В 11 осіб спостерігали артралгії, спричинені піразинамідом, з одночасним підвищенням концентрації сечової кислоти в плазмі крові. Обговорюються механізми виникнення гіперурикемії при хіміотерапії туберкульозу, доцільність і методи лікування таких хворих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: туберкульоз легень, сечова кислота, протитуберкульозні препарати.

ВСТУП. Урати є кінцевим продуктом обміну пуринів. Вони синтезуються в печінці (частково у кишечнику) з харчових або ендогенних пуринів під дією ферменту ксантинооксидази. Подагра – не єдине захворювання, при якому відмічають розлади пуринового обміну. Цукровий діабет, метаболічний синдром, гемобластози, серцево-судинні захворювання, хвороби нирок супроводжуються гіперурикемією (ГУ). Сприяють ГУ надмірне споживання харчових продуктів із високим вмістом пуринів, гіпоксія, розпад клітин і тканин, підвищений гемоліз, виснаження, зловживання алкоголем [1–3]. Для підтримання фізіологічного рівня сечової кислоти (СК) в крові мають значення метаболічні чинники, її екскреція із сечею і змішані механізми. У 90 % випадків причиною ГУ є дефекти її ниркової екскреції, на яку впливають різноманітні фактори, в тому числі дія певних фармакологічних засобів [8, 11]. Слід відмітити, що на всіх етапах важливу роль відіграють генетичні особливості організму [12].

Пуриновому обміну при туберкульозі практично не приділяли уваги, за винятком вивчення впливу деяких протитуберкульозних препаратів (ПТП) на ниркову екскрецію уратів [1, 4, 10]. Туберкульоз супроводжується інтоксикацією, розпадом тканин, для його лікування застосовують низку фармакологічних засобів, які можуть впливати на обмін і екскрецію уратів. У попередній роботі [6] ми проаналізували © М. М. Савула, Н. С. Майовецька, І. С. Якимів, О. І. Лопушанська, 2013.

рівень СК у плазмі крові хворих на туберкульоз легень до і на фоні лікування ПТП І ряду.

Метою даного дослідження було порівняти концентрацію СК у плазмі крові хворих, які лікувалися ПТП І ряду, і тих, які отримували препарати ІІ ряду, а також встановити можливий взаємозв'язок рівня СК із значеннями показників стандартного біохімічного дослідження крові, які певною мірою характеризують стан обмінних процесів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Наведено результати обстеження 193 хворих на туберкульоз легень віком від 22 до 78 років. Серед пацієнтів переважали чоловіки. У 108 хворих було вперше діагностовано туберкульоз легень (ВДТБЛ), у 39 – рецидиви захворювання (РТБЛ), у 46 – мультирезистентний туберкульоз легень (МРТБЛ). Крім туберкульозу, в 54,1% осіб з ВДТБЛ, у 51,2% з РТБЛ і в 47,8% з МРТБЛ діагностовано супровідні захворювання або стани, які можуть обтяжувати стан хворих і впливати на результати досліджень.

Крім загальноприйнятих стандартних обстежень, у хворих визначали концентрацію СК у плазмі крові (в пацієнтів з ВДТБЛ – до і на тлі лікування, в інших групах хворих, які попередньо вже лікувалися, – через 1–2 місяці на фоні хіміотерапії). Пацієнти з ВДТБЛ і РТБЛ лікувалися препаратами І ряду (ізоніазид, рифампіцин, етамбутол, піразинамід, стрептоміцин) згідно з протоколом, хворі на МРТБЛ – препаратами І і ІІ рядів. Крім того, призначали

вітаміни (зокрема групи В), засоби симптоматичної та патогенетичної терапії відповідно до показань.

Аналізували рівень СК у плазмі крові при різних режимах хіміотерапії, а також зіставляли результати інших стандартних біохімічних досліджень, артеріальний тиск (АТ), індекс маси тіла в осіб з концентрацією СК до 360 і понад 360 мкмоль/л (значення, визнані Європейською антивітальній лігою як граничні для так званої безсимптомної ГУ [14]). Цифрові матеріали опрацьовували статистично з вираженням середньої арифметичної варіантного ряду (М), стандартної помилки (m) та показника вірогідності (p) за допомогою комп'ютерної програми SPSS.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані, наведені в таблиці 1, свідчать про те, що рівень СК найменшим був у плазмі крові хворих на ВДТБЛ до призначення хіміотерапії, найбільшим – у пацієнтів з МРТБЛ, він достовірно ($p < 0,05$) перевищував середні значення концентрації СК у всіх інших групах. Серед хворих на МРТБЛ був також найбільшим відсоток осіб із рівнем СК у плазмі крові понад 360 мкмоль/л (78,2 %). Аналізуючи можливі причини частоти ГУ у хворих на МРТБЛ, ми брали до уваги низку чинників, які могли б її сприяти. Це старший вік пацієнтів, низка супровідних захворювань, зокрема артеріальна гіпертензія [5]. Однак порівняння груп хворих на ВДТБЛ і МРТБЛ показало, що вік понад 55 років констатовано у 26,8 % осіб з ВДТБЛ, тоді як у групі з МРТБЛ переважали пацієнти молодого віку, а старших 55 років було лише 10,8 %.

Супровідні захворювання діагностовано однаково часто в обох групах (55,2 і 47,8 %), а артеріальної гіпертензії серед хворих на мультирезистентний туберкульоз взагалі не зафіксовано. Отже, ці фактори не могли бути причиною ГУ в пацієнтів з МРТБЛ. Найбільш правдоподібним залишається висновок про вплив ПТП на рівень СК у плазмі крові, тим більше, що у хворих на ВДТБЛ спостерігали його достовірне зростання на фоні хіміотерапії (табл. 1).

Згідно з даними літератури, при вивченні патогенезу побічних реакцій на препарат I ряду піразинамід (PZA) у вигляді артралгій у

таких хворих встановлено високий рівень СК у крові [10]. При подальшому вивченні дії різних фармакологічних засобів на ниркову екскрецію уратів піразинамід став своєрідним еталоном препарату з антиурикозуричною дією. З'ясовано, що важливу роль для екскреції із сечею уратів відіграють мультиспецифічні органічні аніони (OATs), що експресовані в ниркових епітеліальних клітинах і регулюють транспортування та екскрецію ендogenous органічних аніонів [9, 21]. Серед них велике значення має білок URAT1, що здійснює як перед-, так і післясекреторну реабсорбцію уратів. Від його активності, яка кодується геном SLC22A12 [13], залежить інтенсивність реабсорбції СК, а отже, її рівень у плазмі крові. На рисунку показано дію різних фармакологічних препаратів, зокрема те, що PZA здатний стимулювати активність URAT1, що спричиняє збільшення як перед-, так і післясекреторної реабсорбції СК та, відповідно, зменшення її ренальної екскреції і підвищення концентрації в крові [9].

З рисунка також видно, що ефект URAT1 пов'язаний з дією інших органічних транспортерів, сигнальними молекулами, гормональними чинниками, структурними білками (РДЗК1), які здатні впливати на транспортну активність URAT1. В результаті подальших досліджень модель транспортування уратів доповнено з урахуванням дії інших транспортерів, електрохімічного градієнта [8]. Висловлюється припущення, що гіперурикемічний ефект від PZA зумовлений не лише збільшенням реабсорбції СК під впливом URAT1, але також гальмуванням її секреції через дію на OAT2. Є повідомлення про підвищення рівня СК у крові під впливом інших ПТП I ряду – етамбутолу, рифампіцину, а також комбінованого препарату, до складу якого входять рифампіцин та ізоніазид [2, 4, 13]. Можливим є також вплив на рівень урикемії препаратів II ряду (до них належать фторхінолони, канаміцин, капреоміцин, етіонамід/протіонамід, циклосерин, ПАСК, лінезолід), які широко використовують при лікуванні МРТБ. Тим більше, що дані, наведені в таблиці 1, показують, що на їх фоні рівень СК у плазмі крові значно підвищений.

Враховуючи те, що загалом ГУ в 90 % випадків залежить від ниркових механізмів її екс-

Таблиця 1 – Концентрація СК у плазмі крові хворих, мкмоль/л

Група хворих	n	M±m	p<0,05 стосовно груп	Відсоток осіб із концентрацією СК>360 мкмоль/л
ВДТБЛ до лікування	108	297,6±8,8	2,3,4	24
ВДТБЛ на тлі лікування	96	415,9±15,3	1,4	57,3
РТБЛ	39	382,9±16,6	1,4	61,5
МРТБЛ	46	462,6±16,6	1,2,3	78,2

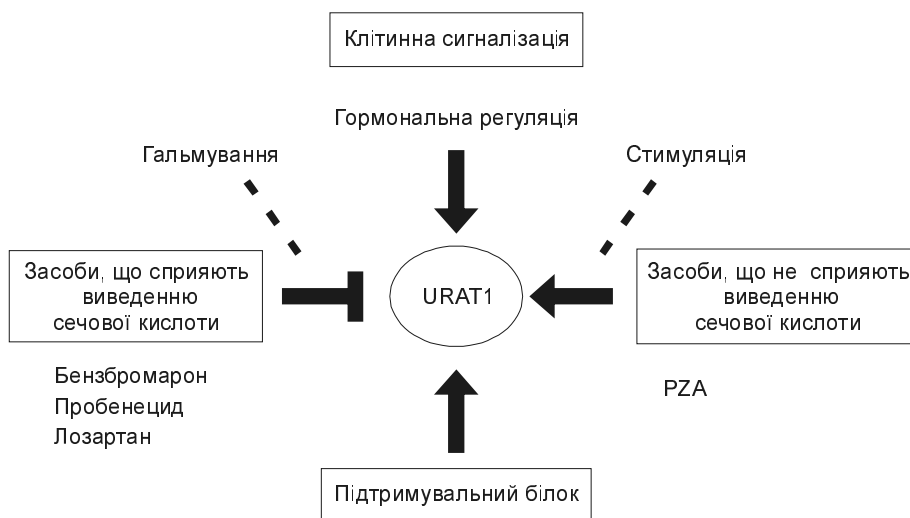


Рис. Регуляція активності URAT1 різними чинниками (A. Enomoto, H. Endon, 2005).

креції і лише у 10 % – від метаболічних чинників, логічно припустити, що й у цих випадках задіяні переважно ниркові механізми.

Проте неможливо повністю виключити і метаболічні причини виникнення ГУ при туберкульозі. На це до певної міри могли б вказувати результати наших спостережень, які свідчили про те, що у деяких хворих на ВДТБЛ з вираженими явищами інтоксикації, гіпоксії і масивними казеозно-некротичними змінами в легенях до початку лікування відзначали значно підвищену концентрацію СК у плазмі крові, яка в результаті успішної хіміотерапії, дезінтоксикації знижувалася, а згодом, на фоні тривалого застосування ПТП, знову підвищувалася (хоча й у цьому випадку не можна виключити ренальних механізмів).

Враховуючи взаємозв'язок пуринового обміну з іншими обмінними процесами, ми проаналізували показники стандартного біохімічного дослідження окремо у хворих з нормальним і підвищеним (>360 мкмоль/л) вмістом СК у плазмі крові. Брало до уваги

також систолічний АТ (реабсорбція СК супроводжується активацією реабсорбції іонів натрію, що може впливати на АТ) та індекс маси тіла, який, до певної міри, може слугувати інтегральним показником стану метаболічних процесів в організмі (табл. 2).

З таблиці видно, що не відмічено відмінностей цих показників в обох групах хворих, за винятком дещо вищої в середньому активності аланінамінотрансферази в осіб з концентрацією СК < 360 мкмоль/л, хоча ці значення не виходили за межі норми. Такі дані не збігалися з повідомленням Т. А. Рожкової і співавт. (2012) [5], які спостерігали кореляцію рівня СК у плазмі крові з показниками білірубину, активністю амінотрансфераз, систолічним АТ, індексом маси тіла. Очевидно, це можна пояснити тим, що серед тих, кого обстежували автори, було значне число осіб з надмірною масою тіла, підвищеним АТ, у всіх відзначали високий рівень тригліцеридів у крові. Констатовано надмірне споживання багатьма їжі. Водночас хворі на туберкульоз були пере-

Таблиця 2 – Показники біохімічного дослідження крові, артеріальний тиск та індекс маси тіла в осіб з різним рівнем СК у плазмі крові (M±m)

Показники	Група хворих	
	концентрація СК понад 360 мкмоль/л (101 пацієнт)	концентрація СК менше 360 мкмоль/л (97 пацієнтів)
Глюкоза, ммоль/л	5,39±0,11	5,45±0,08
Загальний білірубін, мкмоль/л	16,6±0,35	18,7±1,12
Сечовина, ммоль/л	5,81±0,18	5,67±1,16
Креатинін, мкмоль/л	80,1±0,98	80,5±3,16
Аланінамінотрансфераза, од./л	9,58±0,10	9,92±0,13*
Аспартатамінотрансфераза, од./л	11,06±0,11	11,25±0,16
Систолічний АТ, мм рт. ст.	120,09±1,16	120,28±1,01
Індекс маси тіла, кг/м ²	21,09±0,32	21,01±0,31

Примітка. * – p<0,05.

важно зниженого живлення, індекс маси тіла більше 25,0 кг/м² відмічено лише у 9,2 % пацієнтів з рівнем СК понад 360 мкмоль/л і в 5,1 % хворих із групи з меншими значеннями цього показника.

Особливої уваги заслуговують 11 хворих, в яких на фоні хіміотерапії виникли побічні реакції на PZA у вигляді артралгій. У всіх них була значно підвищена концентрація СК у плазмі крові. Слід відмітити, що PZA входив у схеми лікування як хворих на ВДТБЛ, так і пацієнтів з МРТБЛ (обов'язково на інтенсивному етапі). Проте гіперурикемію на фоні лікування спостерігали, відповідно у 57,3 і 78,2 % пацієнтів, а артралгії, зумовлені PZA, – лише в 11 хворих (7,7 % від числа пролікованих). Це можна пояснити індивідуальними генетичними особливостями, які мають значення як для функціонування ферментних систем на рівні синтезу пуринів, так і для активності чинників, що беруть участь в екскреції уратів [12].

Тому питання про доцільність і метод лікування ГУ вирішують неоднозначно. Відомо, що СК здатна інактивувати до 60 % активних форм кисню [5] і поліпшує ендотеліальну функцію. Водночас значна ГУ має багато негативних впливів, зокрема на інтерстиціальні структури нирок, сприяє підвищенню АТ. Вважають, що при рівні СК у плазмі крові понад 400 мкмоль/л (за іншими даними, більше 500 мкмоль/л) у генетично схильних осіб настає мікрокристалізація іонів СК у тканинах, що спричиняє системну запальну реакцію [7], яка в процесі хіміотерапії туберкульозу проявляється артралгіями. Враховуючи доведений переважно нирковий механізм ГУ при лікуванні PZA, недоцільно таким хворим застосовувати препарати, які діють переважно на метаболізм пуринів (наприклад алопуринол). Більш виправданим є призначення нестероїдних протизапальних препаратів або малих доз ацетилсаліцилової кислоти, які, поряд з перерахованими на ри-

сунку препаратами, гальмують URAT1 і мають урикозуричну дію, зменшуючи канальцеву реабсорбцію уратів.

Що стосується хворих з артралгіями, спричиненими піразинамідом, то ми тимчасово відмінили цей препарат і рекомендували їм дієту з обмеженим споживанням продуктів із високим вмістом пуринів (сардини, яйця, печінка, нирки, горох, бобові, гриби, помідори), призначали препарати, спрямовані на нормалізацію обмінних процесів і функції органів (у тому числі вітаміни, зокрема вітамін С), короткий курс нестероїдних протизапальних препаратів. Усім пацієнтам в подальшому вдалося продовжити повноцінне етіотропне лікування.

Тонкі механізми виникнення ГУ з'ясовано лише стосовно PZA, а значну ГУ найчастіше спостерігали на фоні лікування МРТБЛ комбінацією препаратів I і II рядів, тому доцільним було б вивчення можливої дії інших ПТП на обмін та екскрецію СК, а також вивчення у хворих на туберкульоз співвідношення концентрації в крові СК з більш інформативними біохімічними показниками, які характеризують стан обмінних процесів, особливо ліпідного і вуглеводного.

ВИСНОВКИ. 1. Під впливом хіміотерапії в плазмі хворих на туберкульоз легень підвищується рівень СК. Найчастіше ГУ виникає на фоні лікування МРТБЛ комбінацією протитуберкульозних препаратів I і II рядів.

2. Не встановлено відмінностей стандартних біохімічних показників, систолічного АТ та індексу маси тіла у хворих з нормальним і підвищеним вмістом СК у плазмі крові.

3. У пацієнтів з артралгіями, спричиненими PZA, концентрація СК у крові підвищена. При лікуванні таких хворих необхідно враховувати найбільш правдоподібний механізм виникнення у них гіперурикемії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Карпачев В. В. Порушення пуринового обміну при цукровому діабеті типу 2 та ризик маніфестації подагри у цих пацієнтів / В. В. Карпачев, О. І. Мосендз, Н. М. Гуріна // *Международный эндокрин. журн.* – 2006. – № 2. – С. 42–46.
2. Патологія фізіологія гіперурикемії. www.Rus-medserver.ru/razdel/25/25.html
3. Поворознюк В. В. Гіперурикемія та метаболічний синдром / В. В. Поворознюк, Г. С. Дубецька //

Новости медицины и фармации. – 2012. – № 6 (404). – С. 16–18.

4. Рифампіцин. Інструкції до медичних препаратів. <http://366.rv.ua/ins/UA67750101.htm>.

5. Рожкова Т. А. Гіперурикемія у пациентов с высоким содержанием триглицеридов. Сочетание генетических, средовых факторов и тактика лечения / Т. А. Рожкова, В. А. Амелюшкина, Е. Б. Яровая // *Клин. лаб. диагностика.* – 2012. – № 6. – С. 3–8.

6. Савула М. М. Гіперурикемія при туберкульозі легень і його актимікобактеріальній терапії / М. М. Савула, Н. М. Лопушанська, С. М. Похил'як // Туберкульоз. Легеневі хвороби. Віл-інфекція. – 2012. – № 4. – С. 76–80.

7. Титов В. Н. Гиперурикемия – показатель нарушения биологических функций эндозекологии и адаптации, биологических реакций экскреции, воспаления, артериального давления / В. Н. Титов, В. А. Ощенко, В. А. Дмитриев // Клин. лаб. диагностика. – 2012. – № 4. – С. 3–14.

8. Anzai N. Urate transporters: An Evolving Field / N. Anzai, N. Endon // Semin. Nephrol. – 2011. – 3, № 5. – P. 400–409.

9. Atsushi Enomoto. Roles of organic anion transporters (OATs) and a urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease / Atsushi Enomoto, Hitoshi Endon // Clin. Exp. Nephrol. – 2005. – № 9. – P. 195–205.

10. Cullen J. H. Studies of hyperuricemia produced by pyrazinamide / J. H. Cullen, M. Le Vine, J. H. Fiore // Am. J. Med. – 1957. – 23. – P. 587–595.

11. Ho Jung Shin. Interactions of urate transporter URAT1 in human kidney with uricosuric drugs / Ho Jung Shin, Michio Takeda, Atsushi Enomoto // Nephrology. – 2011. – 16. – P. 156–162.

12. Kimiyoshi Ichida. What lies behind serum urate concentration. Insights from genetic and genomic studies / Kimiyoshi Ichida // Genomic Medicine. – 2009. – 1 (118). – P. 2–10.

13. www.wikipharm.com.ua/instruction19956/.

14. Zhang W. EULAR evidence based recommendations for gout. Part 1: Diagnosis. Report of task force of the standing committee for international clinical studies including therapeutics (ESCI) / W. Zhang, M. Doherty, T. Bardin // Ann. Rheum. Dis. – 2006. – 65. – P. 1301–1311.

М. М. Савула¹, Н. С. Майовецкая², И. С. Якимив², О. И. Лопушанская¹
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ОБЛАСТНОЙ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЙ ДИСПАНСЕР², ТЕРНОПОЛЬ

ОСОБЕННОСТИ КОНЦЕНТРАЦИИ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ, ЛЕЧЕННЫХ ПРЕПАРАТАМИ I И II РЯДОВ

Резюме

У 193 больных туберкулезом легких определяли концентрацию мочевой кислоты в плазме крови. Гиперурикемия возникла на фоне специфического лечения, чаще всего у пациентов с мультирезистентным туберкулезом, которые получали комбинации препаратов I и II рядов. В 11 лиц наблюдали артралгии, обусловленные пиразинамидом, с одновременным повышением концентрации мочевой кислоты в плазме крови. Обсуждаются механизмы возникновения гиперурикемии при химиотерапии туберкулеза, целесообразность и методы лечения таких больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: туберкулез легких, мочевая кислота, противотуберкулезные препараты.

M. M. Savula¹, N. S. Mayovetska², I. S. Yakymiv², O. I. Lopushanska¹
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
REGIONAL ANTITUBERCULOSIS DISPENSARY², TERNOPIIL

PECULIARITIES OF URIC ACID CONCENTRATION IN BLOOD PLASMA IN PATIENTS WITH LUNG TUBERCULOSIS TREATED WITH DRUGS OF THE 1 AND 2 LINES

Summary

The uric acid concentration was determined in the blood plasma of 193 patients with lung tuberculosis. The hyperuricemia occurred on the background of specific treatment most frequently in patients with multi-resistant tuberculosis, treated with combination of drugs of the 1 and 2 lines. In 11 patients arthrodynia was observed with increased concentration of uric acid in blood plasma caused by pyrazinamide. The mechanisms of hyperuricemia associated with antituberculosis drugs application and treatment approach for these patients are discussed.

KEY WORDS: lung tuberculosis, uric acid, antituberculosis drugs.

Отримано 06.12.12

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

ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОЇ ОКСИГЕНАЦІЇ В ПОЄДНАННІ З ТІОТРИАЗОЛІНОМ НА ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ТА ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ

Статтю присвячено дослідженню ефективності поєданого застосування тривалої внутрішньошлункової оксигенації та препарату з метаболічною дією тіотриазоліну за умов змодельованого гострого тетрахлорметанового гепатиту на показники гуморального імунітету й ендогенної інтоксикації. Встановлено, що дане поєднання супроводжується зниженням у сироватці крові показників гуморального імунітету, причому за вмістом циркулюючих імунних комплексів Ig A ефективність є ідентичною, як і після окремого використання цих методів корекції, а за вмістом Ig M та Ig G – вищою (у середньому на 24,85 %, $p < 0,001$ та 11,8 %, $p < 0,005$). За цих умов нормалізується вміст у крові молекул середньої маси, суттєво знижується еритроцитарний індекс інтоксикації (у середньому на 24,4 %, $p < 0,01$).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий тетрахлорметановий гепатит, тіотриазолін, внутрішньошлункова оксигенація, гуморальний імунітет, ендогенна інтоксикація.

ВСТУП. Розробка патогенетично обґрунтованих методів лікування токсичних гепатитів належить до актуальних проблем сучасності. Це зумовлено невпинним зростанням частоти гострих отруєнь, які переважно виникають в осіб працездатного віку [4]. На сьогодні в Україні для корекції токсичних уражень печінки використовують низку гепатотропних препаратів, проте тільки один з них – тіотриазолін, за даними багатьох авторів, володіє властивостями “ідеального” гепатопротектора [7]. Він проявляє не тільки гепатопротекторну, але й оксидантну, протиішемічну, мембраностабілізувальну, імуномодельуючу та протизапальну активність [1].

Одним із провідних патогенетичних механізмів токсичного гепатиту є розвиток гіпоксії. Вона зумовлена насамперед цитоархітектонією печінкової часточки, особливостями кровопостачання і характером її ураження гепатотропними токсинами [3]. Останнім часом з метою корекції гіпоксії внутрішніх органів при багатьох патологічних процесах в експерименті та клініці з успіхом використовують внутрішньошлункову оксигенацію, яка здатна підвищувати вміст кисню в печінковій вені й збільшувати його донесення до внутрішніх органів [2, 8]. Проте за умов токсичних уражень даний метод практично не вивчали. Немає даних про механізми впливу поєданого засто-

сування гепатопротектора з метаболічними властивостями тіотриазоліну і внутрішньошлункової оксигенотерапії при гострому токсичному ураженні на показники гуморального імунітету та ендогенної інтоксикації.

Метою даного дослідження було з'ясувати ефективність та механізми саногенного впливу тіотриазоліну в поєднанні з внутрішньошлунковою оксигенацією за умов гострого тетрахлорметанового гепатиту на показники гуморального імунітету та ендогенної інтоксикації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 92 нелінійних білих щурах-самцях масою 160–180 г. Тварин поділили на п'ять груп, у кожній з яких виконували по 2 серії експериментів: 1-ша група була контрольною (12 тварин); 2-гу групу склали 20 щурів, у яких моделювали гострий токсичний гепатит шляхом внутрішньошлункового введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 0,2 мл на 100 г маси тварини [6]; у наступних групах через добу після моделювання гепатиту впродовж 7 днів проводили корекцію, в 3-й групі протягом 8 год у шлунок вводили молекулярний кисень з об'ємною швидкістю 0,5 мл·кг⁻¹·хв⁻¹ [2], у 4-й – внутрішньочеревно вводили 2,5 % розчин тіотриазоліну в дозі 9,07 мг·кг⁻¹, яка відповідала середньодобовій дозі 100 мг для дорослої людини [5], у 5-й групі поєднували обидва методи корекції.

На 8-му добу з моменту застосування коригувального впливу під тіопентало-натрієвим знеболюванням тварин умертвляли і брали кров та тканину печінки для біохімічних досліджень (50 % щурів кожної групи).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що на тлі використання тіотриазоліну вміст у крові циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) істотно зменшувався порівняно з нелікованими тваринами – на 22,6 % ($p < 0,01$) (табл. 1). Ще більше цей показник знижувався за умов поєднаного застосування корегувальних чинників – на 31,6 % ($p < 0,001$).

Слід відмітити, що за ефективністю впливу на вміст ЦІК усі досліджувані методи корекції були практично однаковими, проте на тлі їх поєднаного застосування відмічали тенденцію до меншої величини порівняно з окремим їх використанням ($p_{1,2} < 0,10$).

Вміст у сироватці крові Ig A на фоні корекції тіотриазоліном зменшувався на 12,0 % ($p < 0,01$), після поєднаного застосування цього препарату та оксигенотерапії – на 15,3 % ($p < 0,01$). Звертає на себе увагу той факт, що зниження досліджуваного показника виявилось найбільшим на тлі оксигенотерапії і було статистично достовірним порівняно з групою тварин, які отримували тіотриазолін (на 15,9 %, $p_1 < 0,05$). Даний показник мав тенденцію до меншої величини порівняно з групою щурів, у яких застосовували в поєднанні досліджувані методи корекції ($p_1 < 0,10$). Рівень Ig A у сироватці крові після використання тіотриазоліну та його комбінації з оксигенотерапією був практично однаковим і статистично достовірно не відрізнявся ($p_2 > 0,05$).

Вміст у сироватці крові Ig G після всіх методів корекції статистично достовірно знижу-

вався ($p < 0,001$). Як оксигенотерапія, так і введення тіотриазоліну зумовлювали практично ідентичний рівень цього показника ($p_1 > 0,05$). Проте поєднане застосування досліджуваних методів корекції викликало статистично достовірно меншу величину вмісту Ig G у сироватці крові порівняно з оксигенотерапією (на 13,3 %, $p_1 < 0,05$) та введенням тіотриазоліну (на 10,5 %, $p_2 < 0,01$).

Рівень Ig M у сироватці крові на тлі досліджуваних методів корекції також знижувався ($p < 0,01-0,001$). Застосування тіотриазоліну сприяло тенденції до зменшення величини досліджуваного показника порівняно з оксигенотерапією (на 10,6 %, $p_1 < 0,10$). Після поєднаного застосування даної методики вміст у сироватці крові Ig M був найменшим і статистично вірогідним порівняно лише із самою оксигенотерапією (на 29 %, $p < 0,001$) та використанням монокорекції тіотриазоліном (на 20,6 %, $p_2 < 0,001$).

Порівняння показників гуморального імунітету після комбінованого застосування оксигенотерапії та тіотриазоліну з показниками контрольної групи показало, що вміст у сироватці крові Ig A та Ig G за умов корекції нормалізувався, інші показники перевищували рівень контрольної групи.

Таким чином, при застосуванні оксигенотерапії та тіотриазоліну для корекції гострого тетрахлорметанового гепатиту відмічали статистично достовірне покращення показників гуморального імунітету. За більшістю з них ефективність цих методів корекції була практично однаковою. Виняток становив лише вміст у сироватці крові Ig A, який після оксигенотерапії зменшувався більш виражено, ніж після застосування тіотриазоліну. Поєднане використання цих методів корекції сприяло суттєвішому зниженню досліджуваних показ-

Таблиця 1 – Вплив різних методів корекції гострого токсичного гепатиту на показники гуморального імунітету ($M \pm m$)

Дослідження	група	група 1	група 1	група 1
	гКт ЕМ	ос(нг доуг=лр)а гКт ЕМ	у2у=нлі ок2а гКт ЕМ	г рлну1ос(нпг дои уг=лр) 1у2у=нлі ок2а гКт м- М
Свцр .аоб.а	м-мц7-4ца	Емцм8±ц09а	0Ер8рц099а =м<-ц±а	ьец787ц±999а =м5-цм-а =75-цм-а
3 а>цнск-1а	-цм±-8-ц-7а	-цмм8-ц-ь999а	-цмр78-ц-499а =м5-ц±а	-цм708-ц-±99а =м5-цм-а =7<-ц±а
3 а1цнск-1а	-ц0±е8-ц4ма	-ц7Е8-ц7е999а	-цм78-ц-е999 =м<-ц±а	-ц4±Е8-ц мм999а =м5-ц±а =75-цма
3 а1 цнск-1а	0ц±еЕ8-ц7±Еа	ьц44Е8-ц7МЕ99а	±ц0ь08-ц74-999а =м5-цм-а	4ц±0е8-ц ем999а =м5-ц-ма =75-ц-ма

Примітка. Тут і в таблиці 2: результати достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

ників, причому, якщо за вмістом у сироватці крові ЦІК та Іg А відмічали лише тенденцію, то за вмістом у сироватці крові Іg G та Іg М – статистично достовірну відмінність.

На тлі поєднаного застосування внутрішньошлункової оксигенотерапії та тіотриазоліну відзначали найбільший ефект за рівнем ендогенної інтоксикації (табл. 2). Так, вміст у крові МСМ₂₅₄ був меншим, ніж у групі некорегованих тварин, на 14,0 % ($p < 0,05$), МСМ₂₈₀ – на 31,5 % ($p < 0,01$), ЕІІ – на 41,2 % ($p < 0,001$). Слід відмітити, що вміст у крові МСМ₂₅₄ та ЕІІ були також істотно нижчими, ніж у групах щурів, які одержували саму оксигенотерапію та тіотриазолін: за вмістом МСМ₂₅₄ – на 8,2 і 6,2 % відповідно ($p_{1,2} < 0,05$), за ЕІІ – на 25,8 і 22,9 % ($p_{1,2} < 0,01$). У свою чергу, вміст у крові фракції МСМ₂₈₀ після поєднаного застосування досліджуваних корегувальних чинників був аналогічним, як після введення тіотриазоліну ($p_2 > 0,05$), проте достовірно меншим, ніж після оксигенотерапії (на 20,0 %, $p_1 < 0,001$).

При порівнянні отриманих результатів з результатами контрольної групи було з'ясовано, що поєднана терапія зумовлювала нормалізацію у крові вмісту МСМ різних фракцій, тоді як рівень ЕІІ продовжував залишатися статистично достовірно більшим (на 45,7 %, $p < 0,01$).

Таким чином, використання тіотриазоліну з метою корекції гострого тетрахлорметанового гепатиту супроводжувалося істотним зниженням, порівняно з некорегованими тваринами, вмісту в крові фракції МСМ₂₈₀ та ЕІІ. За величиною фракції МСМ₂₈₀ одержаний резуль-

тат був ефективнішим, ніж оксигенотерапія. Поєднане застосування обидвох методів лікування зумовлювало виражений позитивний ефект за всіма досліджуваними показниками, причому за вмістом у крові МСМ₂₅₄ та ЕІІ результат був істотно кращим, ніж після монотерапії киснем чи введення тіотриазоліну.

ВИСНОВКИ. 1. Застосування оксигенотерапії та тіотриазоліну для корекції гострого тетрахлорметанового гепатиту покращує показники гуморального імунітету. За більшістю з них ефективність цих методів корекції є однаковою, за винятком вмісту в крові Іg А, який після оксигенотерапії зменшувався більш виражено, ніж після використання тіотриазоліну. Поєднання обидвох методів корекції сприяє інтенсивнішому зниженню досліджуваних показників; причому, якщо за вмістом у сироватці крові ЦІК та Іg А відмічали лише тенденцію, то за вмістом у сироватці крові Іg G та Іg М – статистично достовірну відмінність.

2. Застосування тіотриазоліну з метою корекції гострого тетрахлорметанового гепатиту супроводжується істотним зниженням, порівняно з некорегованими тваринами, вмісту в крові фракції МСМ₂₈₀ та ЕІІ. За величиною фракції МСМ₂₈₀ отриманий результат ефективніший, ніж оксигенотерапія. Комбіноване використання досліджуваних методів зумовлює виражений позитивний ефект за всіма досліджуваними показниками, причому за вмістом у крові МСМ₂₅₄ та ЕІІ результат істотно кращий, ніж після монотерапії киснем чи введення тіотриазоліну.

Таблиця 2 – Показники ендогенної інтоксикації під впливом різних методів корекції гострого токсичного гепатиту ($M \pm m$)

Показник	Гепатит (n=6)	Гепатит+ оксигенотерапія (n=8)	Гепатит+ тіотриазолін (n=9)	Гепатит+оксигенотерапія+тіотриазолін (n=10)
МСМ ₂₅₄ , ум. од.	0,493±0,021	0,462±0,011	0,452±0,008 $p_1 > 0,05$	0,424±0,010* $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
МСМ ₂₈₀ , ум. од.	0,647±0,063	0,568±0,017	0,452±0,021** $p_1 < 0,001$	0,443±0,024** $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
ЕІІ, %	61,2±2,1	48,5±2,7**	46,7±1,5*** $p_1 > 0,05$	36,0±2,2*** $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрейчин М. А. Інфекційна захворюваність в Україні: ілюзії та реалії / М. А. Андрейчин // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 3. – С. 77–84.
2. Бабак О. Я. Достижения и перспективы гастроэнтерологии / О. Я. Бабак // Суч. гастроентерологія. – 2009. – № 6 (50). – С. 6–24.

3. Гонський Я. І. Роль гіпоксії та протонного механізму парієтальних клітин у виникненні стресових та пептичних виразок; захисний і лікувальний ефект шлункової оксигенотерапії / Я. І. Гонський, В. В. Гнатів // Мед. хімія. – 2003. – № 3. – С. 18–22.

4. Дроговоз С. М. Преимущества силибинина в терапии заболеваний печени / С. М. Дроговоз, Е. Г. Щекна // Суч. гастроентерологія. – 2008. – № 2. – С. 49–52.

5. Павлов Ч. С. Биопсия печени: методология и практика сегодня / Ч. С. Павлов, В. Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – 16, № 4. – С. 65–78.

6. Хаджав У. Стресс-индуцированная альтерация печени у крыс / У. Хаджав, И. С. Выборова, Л. С. Васильева // Паллиативная медицина и реабилитация :

VII конгресс с международным участием : материалы конгресса. – 2005. – № 2. – С. 96.

7. HALT-C Trial Group/ Herbal product use by persons enrolled in the hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis (HALT-C) Trial /L. B. Seeff, T. M. Curto, G. Szabo [et al.] // Hepatology. – 2008. – 47, № 2. – P. 605–612.

8. Keeffe E. B. Хронический гепатит С: тактика при неэффективности лечения / Е. В. Keeffe // Clin. Gastroenterol. Hepatol. Русское издание. – 2008. – 1, № 5. – С. 329–332.

Р. М. Ляхович

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОЙ ОКСИГЕНАЦИИ В СОЧЕТАНИИ С ТИОТРИАЗОЛИНОМ НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Резюме

Статья посвящена исследованию эффективности сочетанного применения длительной внутрижелудочной оксигенации и препарата с метаболическим действием тиотриазолина в условиях смоделированного острого тетрахлорметанового гепатита на показатели гуморального иммунитета и эндогенной интоксикации. Установлено, что данное сочетание сопровождается снижением в сыворотке крови показателей гуморального иммунитета, причем по содержанию циркулирующих иммунных комплексов Ig A эффективность аналогична, как и после отдельного использования этих методов коррекции, а по содержанию Ig M и Ig G – выше (в среднем на 24,85 %, $p < 0,001$ и 11,8 %, $p < 0,005$). В этих условиях нормализуется содержание в крови молекул средней массы, существенно снижается эритроцитарный индекс интоксикации (в среднем на 24,4 %, $p < 0,01$).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый тетрахлорметановый гепатит, тиотриазолин, внутрижелудочная оксигенация, гуморальный иммунитет, эндогенная интоксикация.

R. M. Lyakhovych

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVRESITY

THE LONG-TERM INTRAGASTRIC OXYGENATION COMBINED WITH FIGURES ON THIOTRIASOLINE HUMORAL IMMUNITY AND ENDOGENOUS INTOXICATION

Summary

The article adduces the research of effectiveness of the combined use of prolonged intragastric oxygenation and metabolic effect of the drug Thiotriazoline under simulated acute carbon tetrachloride hepatitis on humoral immunity and endogenous intoxication. It was found out that this combination is accompanied with a decrease in blood serum of humoral immunity indices, and for circulating immune complexes containing Ig A performance is identical, as after a single application of these methods of correction, and the contents of Ig M and Ig G-higher (on the average of 24,85, $p < 0,001$ and 11,8 %, $p < 0,005$). Under these conditions, normal blood levels of middle mass molecules significantly reduced erythrocyte index of intoxication (on the average 24,4 %, $p < 0,01$).

KEY WORDS: acute carbon tetrachloride hepatitis, Thiotriazoline, intragastric oxygenation, humoral immunity, endogenous intoxication.

Отримано 14.01.13

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

**ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСУ G
ІЗ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ З ХРОНІЧНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ
ІНТОКСИКАЦІЄЮ**

Описано метод отримання фракції Ig G із сироватки крові щурів. Антитіла виділяли методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі із зразків, відібраних у контрольних тварин і тих, які зазнали хронічної алкогольної інтоксикації. Показано, що при хронічному вживанні алкоголю, починаючи з 10-ї доби, вміст антитіл у плазмі крові підвищується на 25 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: імуноглобуліни, хронічна алкогольна інтоксикація, сироватка крові.

ВСТУП. Критерієм стану організму є баланс білкового складу сироватки крові. При патологічних станах цей баланс порушується, внаслідок чого в крові змінюється співвідношення білків і пептидів. Гостра і хронічна алкогольна інтоксикація призводить до зміни співвідношення рівнів багатьох пептидів, що відіграють важливу роль в етіології і патогенезі алкоголізму [1]. Розвиток алкогольної залежності часто супроводжується зміною імунної реакції організму, проте в літературі доступна лише обмежена кількість даних щодо дослідження впливу етанолу на імунну систему. В останні роки значно підвищився інтерес учених до ролі антитіл у процесах регуляції біологічних функцій, а також до можливості визначення рівня деяких автоантитіл як маркерів стану організму за хронічного вживання алкоголю [3, 6].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі було використано модель розвитку гострої хронічної алкогольної інтоксикації щурів, які отримували 30 % розчин етанолу. Етанол вводили з розрахунку 2 мл на 100 г маси тіла тварини протягом 21 доби один раз на добу. Контрольну групу склали щури, яким у тому ж віці внутрішньошлунково вводили воду, яку застосовували для розведення етанолу [2].

Сироватку крові отримували з цільної крові щурів. Для вилучення фібриногену та супутніх білків кров залишали при 37 °С на 4 год у термостаті та в подальшому центрифугували

зразки за 2000 г протягом 40 хв. Отриманий супернатант відбирали та використовували у подальшій роботі.

Антитіла класу G виділяли зі зразків сироватки крові щурів методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі [9]. Для створення оптимальних умов очищення на колонку наносили сироватку зі швидкістю 1 мл/хв у кількості 25 % від загального об'єму носія. Неспецифічно зв'язаний матеріал відмивали десятима об'ємами колонки 50 мМ Na-фосфатним буфером, рН 7,4. Фракцію афіннозв'язаних антитіл елюювали 100 мМ гліцин-HCl, рН 2,2, зі швидкістю 2 мл/хв. Елюат збирали, контролюючи поглинання за довжини хвилі 280 нм та негайно нейтралізували 1 М розчином Триса до рН 7,6. Проби, які містили білок, об'єднували та висолювали розчином сульфату амонію до кінцевої концентрації 45 % і залишали на ніч за температури 4 °С. Після цього центрифугували при 1000 г 30 хв і розчиняли отриманий осад у 0,05 М Na-фосфатному буфері, рН 7,4. Фракцію додатково доочищували для позбавлення від важких та легких ланцюгів імуноглобулінів на колонці із сорбентом Sephadex G75. Хроматографічне розділення проводили у 50 мМ Na-фосфатному буфері, рН 7,4, зі швидкістю 1 мл/хв.

Для перевірки чистоти отриманих антитіл проводили диск-електрофорез у 7,5 % поліакриламідному гелі з додецилсульфатом Na за методом Лемлі [13]. Для відновлення дисульфідних зв'язків застосовували 5 % β-меркаптоетанол. Як маркери використовували суміш білків (Amersham Biosciences) з молеку-

лярними масами 94 кДа (фосфорилаза В), 67 кДа (альбумін), 43 кДа (овальбумін), 30 кДа (ангідроза), 20,1 кДа (соевий інгібітор трипсину), 14,4 (лактальбумін). Електрофорез проводили в апараті для вертикального гель-електрофорезу (Amersham Biosciences) у пластинах завтовшки 1 мм. Гелі фарбували 0,125 % розчином кумасі G-250 у 25 % ізопропанолі та 10 % оцтової кислоти.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вміст імуноглобулінів сироватки крові визначають зазвичай у клінічній практиці, оскільки цей показник надає ключову інформацію про гуморальний імунний статус [4]. Визначення розподілу вмісту імуноглобулінів у загальній популяції є важливим для інтерпретації реферативних значень. Необхідно враховувати істотні розбіжності між підгрупами, які визначаються віком, статтю, способом життя – курінням або вживанням алкоголю [8, 12]. Незважаючи на це, досліджень, присвячених можливому впливу цих факторів на рівень сироваткових імуноглобулінів, не вистачає. Так, повідомляється, що вміст Ig G прямо пропорційно пов'язаний з віком та обернено пропорційно – з курінням і помірним вживанням алкоголю [4]. Прогностичного значення надають асоціації алкоголізму з антигенами системи HLA (human leucocyte antigens). Відомо, що виявлення цих антигенів поєднується з вищою концентрацією імуноглобулінів у плазмі крові [5].

Для дослідження впливу алкоголю на вміст Ig G у сироватці крові щурів, які зазнали хронічної алкогольної інтоксикації, було обрано метод афінної хроматографії на протеїн А сефарозі. Даний метод дозволяє вирішити відразу 2 завдання: виділити чисту фракцію

антитіл, придатну для використання в експериментальній роботі, та визначити їх концентрацію у плазмі крові кожної тварини.

На рисунку 1 показано хроматограму розділення сироватки крові щурів на колонці з протеїн А сефарозою. Зважаючи на умови проведення даного виду хроматографії, пік 2 являє собою практично чисту фракцію імуноглобулінів класу G, які містяться в сироватці. Протеїн А сефароза – афінний сорбент для очищення Ig G, його ємність складає близько 20 мг Ig G на 1 мл гелю, що дозволяє якісно та швидко отримувати продукт.

Для позбавлення можливих домішок важких та легких ланцюгів імуноглобулінів класу G отриманий елюат сироватки крові піддавали хроматографічному очищенню на колонці із сорбентом Sephadex G75. У результаті хроматографічного розділення зразка було отримано 3 піки (рис. 2). Пік 1 містив білки з молекулярною масою 150 кДа, що відповідає молекулярній масі нативних молекул імуноглобулінів класу G. У піках 2 і 3 елюювалися білки з молекулярними масами близько 55 та 25 кДа відповідно, які представляють окремі важкі й легкі ланцюги імуноглобулінів.

На наступному етапі роботи визначали чистоту отриманого препарату Ig G методом диск-електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом Na. Було показано, що отриманий у ході хроматографії, що поділяє за розмірами, елюат містить білок, який за молекулярною масою відповідає антитілам класу G (рис. 3). За відсутності β-меркаптоетанолу білкова фракція мала характерну для імуноглобулінів молекулярну масу 150 кДа, при відновленні дисульфідних зв'язків утворювалися фрагменти з молекулярними масами 26 кДа (легкий лан-

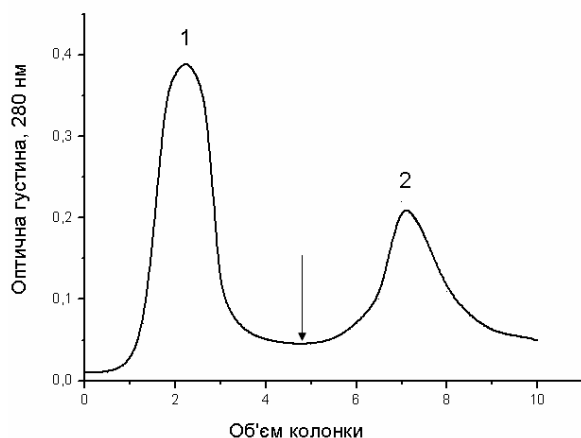


Рис. 1. Хроматограма отримання антитіл класу G із плазми крові щурів: 1 – білки, які неспецифічно зв'язалися з носієм; 2 – фракція імуноглобулінів класу G; стрілкою відмічено зміну 50 мМ Na-фосфатного буфера, рН 7,4, на елюючий 100 мМ гліцин-HCl, рН 2,2.

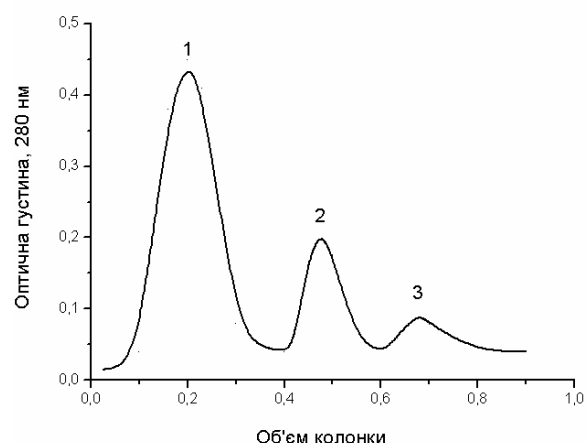


Рис. 2. Хроматограма фракції імуноглобулінів G на колонці Sephadex G75: 1 – фракція, що містить імуноглобуліни G; 2 – фракція, що містить важкі ланцюги імуноглобулінів G; 3 – фракція, що містить легкі ланцюги імуноглобулінів G.

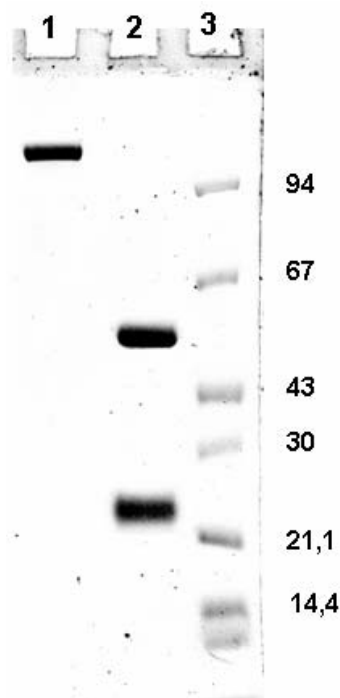


Рис. 3. Електрофореграма антитіл, які було отримано методом афінної хроматографії на колонці з протеїн А сефарозою: 1 – нативні антитіла; 2 – маркери молекулярної маси; 3 – антитіла за присутності β -МЕ (важкі та легкі ланцюги).

цюг) та 55 кДа (важкий ланцюг). Електрофоретичний аналіз також показав відсутність у фракціях супутніх білків.

Аналіз індивідуального пулу антитіл, утворених у кровотоці за хронічної алкогольної інтоксикації, показав, що вміст антитіл зростає під впливом алкоголю, досягаючи максимуму на 10-ту добу експерименту – $(2,38 \pm 0,35)$ мг/мл. У контрольних зразках вміст антитіл становив $(1,80 \pm 0,25)$ мг/мл. На 21-шу та 28-му доби вміст

Ig G залишався підвищеним, складаючи $(2,18 \pm 0,04)$ і $(2,21 \pm 0,14)$ мг/мл відповідно.

Таким чином, у ході двохетапного хроматографічного очищення сироватки крові щурів із хронічною алкогольною інтоксикацією ми отримали фракцію Ig G, яка містить автоантитіла до власних антигенів організму. Вживання етанолу спричинило швидке зростання рівня Ig G на 25 % відносно контрольного показника, що свідчить про те, що в організмі утворились нові антигени, не характерні для фізіологічного стану тварин. Це можуть бути молекули, які зазнали структурних змін під впливом ацетальдегіду, а також отриманий результат може свідчити про порушення роботи імунної системи. Утворення автоантитіл викликає розлади функціонування всіх органів, але перш за все впливає на систему гемостазу та залози внутрішньої секреції [7, 10]. Відомо, що хронічне вживання алкоголю вважають потенційним фактором ризику захворюваності на цукровий діабет 2-го типу [11]. З огляду на отримані дані, можна припустити, що серед пулу Ig G щурів із хронічною алкогольною інтоксикацією наявні автоантитіла до інсуліну, що є однією з причин розвитку цукрового діабету 2-го типу. Отримана нами фракція антитіл класу G буде використана для встановлення потенційних автоантигенів організму за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

ВИСНОВОК. Показано, що за гострої хронічної алкогольної інтоксикації в щурів зростає вміст імуноглобулінів класу G на 25 % порівняно з контрольною групою. Це може свідчити про появу автоантитіл до антигенів власного організму в загальному пулі Ig G.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Выделение пептидных фракций сыворотки крови больных алкоголизмом и исследование их влияния на активность основных карбоксипептидаз / А. К. Корнева, А. Г. Бобылёв, А. В. Кузнецова [и др.] // Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В. Г. Белинского. – 2008. – № 10. – С. 181–185.
2. Халилов М. Х. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / М. Х. Халилов, Ш. Я. Закиходжаев // Вопросы клиники алкоголизма : сб. науч. тр. – Ташкент, 1983. – С. 38–41.
3. Alcohol misuse increases serum antibodies to oxidized LDL and C-reactive protein / H. Alho, P. Sillanauke, A. Kalela [et al.] // Alcohol. Alcohol. – 2004. – **39**, № 4. – P. 312–315.
4. Alende R. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities / R. Alende, F. Gude // Clin. Exp. Immunol. – 2008. – **151**, № 1. – P. 42–50.
5. Association of HLA antigens with alcoholic disease / R. Corsico, O. L. Pessino, V. Morales, A. Jmelninsky // J. Stud. Alcohol. – 1988. – **49**, № 6. – P. 546–550.
6. Chronic alcohol consumption is associated with changes in the distribution, immunophenotype, and the inflammatory cytokine secretion profile of circulating dendritic cells / F. J. Laso, J. M. Vaquero, J. Almeida [et al.] // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2007. – **31**, № 5. – P. 846–854.
7. Culina S. Insulin and type 1 diabetes: immune connections / S. Culina, V. Brezar, R. Mallone // Eur. J. Endocrinol. – 2012. [Epub ahead of print].

8. Horn P. S. Reference intervals: an update / P. S. Horn, A. J. Pesce // Clin. Chim. Acta. – 2003. – **334**. – P. 5–23.
9. Huse K. Purification of antibodies by affinity chromatography / K. Huse, H. J. Bohme, G. H. Scholz // J. Biochem. Biophys. Methods. – 2002. – **51**(3). – P. 217–231.
10. Kershaw G. Laboratory identification of factor inhibitors: an update / G. Kershaw, E. J. Favaloro // Pathology. – 2012. – **44**, № 4. – P. 293–302.
11. Kim S. J. Alcoholism and diabetes mellitus / S. J. Kim, D. J. Kim // Diabetes Metab. J. – 2012. – **36**, № 2. – P. 108–115.
12. Sasse E. A. Determination of reference intervals in the clinical laboratory using the proposed guideline National Committee for Clinical Laboratory Standards C28-P / E. A. Sasse // Arch. Pathol. Lab. Med. – 1992. – **116**. – P. 710–713.
13. Selected methods for antibody and nucleic acid probes / Susan Hockfield, S. Carlson, C. Evans [et al.]. – 1993. – **1**.

И. О. Степанец, Н. К. Кравченко, Л. И. Остапченко
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСАШЕВЧЕНКО

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ

Резюме

Описан метод получения фракции Ig G из сыворотки крови крыс. Антитела выделяли методом афинной хроматографии на протеин А сепарозе из образцов, полученных от контрольных животных и животных с хронической алкогольной интоксикацией. Показано, что при хроническом употреблении алкоголя, начиная с 10-го дня, содержание антител в плазме крови повышается на 25 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммуноглобулины, хроническая алкогольная интоксикация, сыворотка крови.

I. O. Stepanets, N. K. Kravchenko, L. I. Ostapchenko
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF IMMUNOGLOBULINS OF G CLASS FROM THE BLOOD SERUM OF RATS WITH CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

Summary

The method of Ig G fraction obtaining from blood serum of rats was described. Antibodies were isolated by affinity chromatography on protein A Sepharose from samples taken from the control animals and those who have experienced chronic alcohol intoxication. It was shown that chronic use of alcohol starting from 10-th day caused the increase of antibodies content in the blood plasma on 25 %.

KEY WORDS: immunoglobulins, chronic alcohol intoxication, blood serum.

Отримано 21.01.13

Адреса для листування: І. О. Степанець, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64, Київ, 01601, Україна, e-mail: stepanetsinna@bigmir.net.

ЯКІСНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СУБЛІМОВАНОГО ПОРОШКУ АРОНІЇ

У статті наведено результати якісної ідентифікації біологічно активних речовин сублімованого порошку аронії методом вискоєфективної рідинної хроматографії. За результатами проведених досліджень, у сублімованому порошку аронії було якісно ідентифіковано 16 індивідуальних речовин, які належать до різних класів хімічних сполук: вітаміни, органічні кислоти, біофлавоноїди, речовини фенольної природи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сублімований порошок аронії, вискоєфективна рідинна хроматографія, біологічно активні речовини.

ВСТУП. Контроль якості багатокомпонентних лікарських субстанцій, особливо рослинного походження, на сьогодні можливий лише з використанням аналітичних методів, що мають високу селективність та чутливість стосовно речовин, які визначають [2, 9–11]. При аналізі фітосубстанцій та лікарських препаратів на основі рослинної сировини широко застосовують вискоєфективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) – метод, який дозволяє розділяти близькі за фізико-хімічними властивостями сполуки та проводити їх кількісне визначення в дуже низьких концентраціях [5, 6, 12].

На кафедрі технології ліків Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського було отримано нову фітосубстанцію – сублімований порошок аронії [1, 3, 4, 7, 8]. Активні компоненти фітосубстанції аронії можна віднести до класу полярних сполук, які, завдяки наявності у своїй структурі певних хромофорних груп, добре поглинають світло в УФ-ділянці спектра. Враховуючи це, для проведення аналізу ми запропонували використовувати оберненофазний варіант ВЕРХ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на хроматографі “Міліхром А-02” (ЗАТ “ЕкоНова”, Новосибірськ, РФ), що має двошприцевий градієнтний насос, УФ-спектрофотометричний детектор, автоінжектор і термостат колонки та виготовляється за технологією, яка гарантує збереження його основних технічних характеристик. Важлива особливість хроматографа “Міліхром А-02” – це робота з мікроколонками ($V=0,2$ мл) $\varnothing 2 \times 75$ мм, що

укомплектовані оберненою фазою ProntoSIL – 120 – 5 – C18 AQ (“Bischoff Analysentechnik und Gerate GmbH”, Німеччина) і мають ефективність не менше 5000 теоретичних тарілок. Градієнтне елюювання виконують шляхом змішування двох елюентів: елюенту А – $[0,2 \text{ M LiClO}_4 - 0,005 \text{ M HClO}_4]$; елюенту Б – ацетонітрилу “для ВЕРХ”. Ці елюенти мають високу прозорість у короткохвильовій ділянці УФ-спектра та не містять УФ-поглинаючих домішок, які виявляють у вигляді додаткових піків на хроматограмі. Наявність у рухомій фазі кислоти ($\text{pH}=2,8$) поліпшує хроматографування карбонових кислот, а високий вміст іонів літію покращує хроматографування амінів. ВЕРХ-аналіз виконували за таких умов: швидкість потоку – 100 мкл/хв; елюювання – лінійний градієнт від 5 до 100 % ацетонітрилу за 40 хв, потім 100 % ацетонітрил протягом 3 хв; температура колонки – 40°C ; об’єм проби – 4 мкл. Перед початком аналізу колонку регенерували протягом 10 хв елюентом А. УФ-детектування проводили одночасно при 8 довжинах хвиль: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 та 300 нм, тому кожній речовині на хроматограмі відповідали 8 піків з однаковим часом утримування, але з різними амплітудами, що прямо пропорційні абсорбції речовини. Для кожної речовини розраховували 7 характерних нормованих спектральних параметрів – відношення площ піків при довжинах хвиль $\lambda_2 - \lambda_8$ до площі піку при довжині хвилі $\lambda_1=210$ нм ($R=S_{\lambda}/S_{210}$). Сукупність цих спектральних відношень R разом із величиною об’єму утримування (V_R) використовують для ідентифікації піку речовини на хроматограмі.

Попередню ідентифікацію речовин проводили за інформацією, що є в базі даних приладу, більш точну ідентифікацію виконували шляхом порівняння з хроматограмами розчинів стандартних зразків. Наведена методика ідентифікації є уніфікованою. Правильність методики аналізу періодично контролювали шляхом хроматографування спеціального контрольного багатокомпонентного розчину, що складається з бромід-іона, уридину, кофеїну, прозерину, *m*-нітроаніліну, *p*-нітроаніліну і трифтазину.

Роботу з хроматографом "Міліхром А-02" та обробку хроматограм виконували за допомогою програми "Аналітика – Chrom" на базі установи-розробника НВФ "Аналітика" (м. Харків).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Спочатку було проведено хроматографування індивідуальних стандартних зразків, потім розчину суми стандартних зразків. Це дало змогу виконувати якісну ідентифікацію зразків сублімованого порошку аронії більш експресно.

На рисунку 1 наведено хроматограму розчину суми стандартних зразків.

На хроматограмі за базою даних часу утримування та спектральними параметрами піків було ідентифіковано речовини, які наведено в таблиці 1.

За результатами проведених досліджень, було встановлено якісні характеристики стан-

дартних зразків, з якими працювали в подальшому.

Попередню ідентифікацію піків на хроматограмах досліджуваного зразка – розчину сублімованого порошку аронії проводили за часом утримування та спектральними відношеннями піків.

На рисунку 2 наведено хроматограму розчину сублімованого порошку аронії.

На хроматограмі сублімованого порошку аронії (рис. 2.) за базою даних часу утримування було попередньо ідентифіковано такі речовини: 1– t_R =1,81 хв – кислота аскорбінова; 2– t_R =2,22 хв – нікотинамід; 3– t_R =2,31 хв – кислота нікотина; 4– t_R =3,79 хв – тіамін; 5– t_R =4,23 хв – кислота лимонна; 6– t_R =4,87 хв – кислота бурштинова; 7– t_R =5,12 хв – кислота яблучна; 8– t_R =7,62 хв – кислота фолієва; 9– t_R =9,37 хв – рибофлавін; 10– t_R =11,57 хв – дигідрокверцетин; 11– t_R =16,55 хв – кверцетин; 12– t_R =17,90 хв – гесперидин; 13– t_R =19,45 хв – рутин; 14– t_R =22,13 хв – кислота хлорогенова; 15– t_R =23,45 хв – кислота ферулова; 16– t_R =24,61 хв – кислота кавава. Піки, які не позначено відповідними номерами, ідентифікувати не вдалося.

Для більш точної ідентифікації ми змішували розчин сублімованого порошку аронії з розчином суми стандартних зразків речовин, попередньо ідентифікованих для даного досліджуваного зразка.

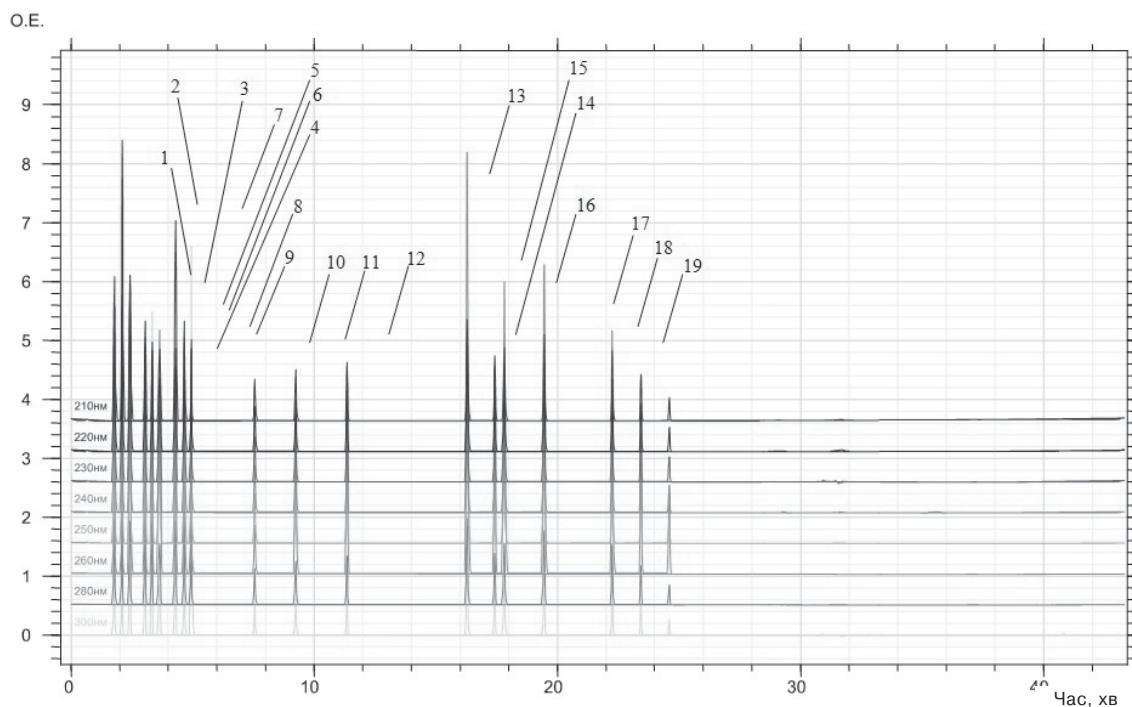


Рис. 1. Хроматограма розчину суми стандартних зразків.

На рисунку 3 наведено хроматограму розчину сублімованого порошку аронії в суміші з розчином суми стандартних зразків ідентифікованих речовин.

На хроматограмі (рис. 3) за базу даних часу утримування та спектральними параметрами піків, що збільшилися за висотою, було ідентифіковано речовини, які наведено в таблиці 2.

ВИСНОВОК. Методом вискоелективної рідинної хроматографії в сублімованому порошку аронії ідентифіковано 16 індивідуальних сполук, які належать до різних класів біологічно активних речовин, більшість яких – із потужними антиоксидантними властивостями (кислота аскорбінова, дигідрокверцетин, кверцетин, геспередин, рутин, кислота хлорогенова, кислота ферулова тощо).

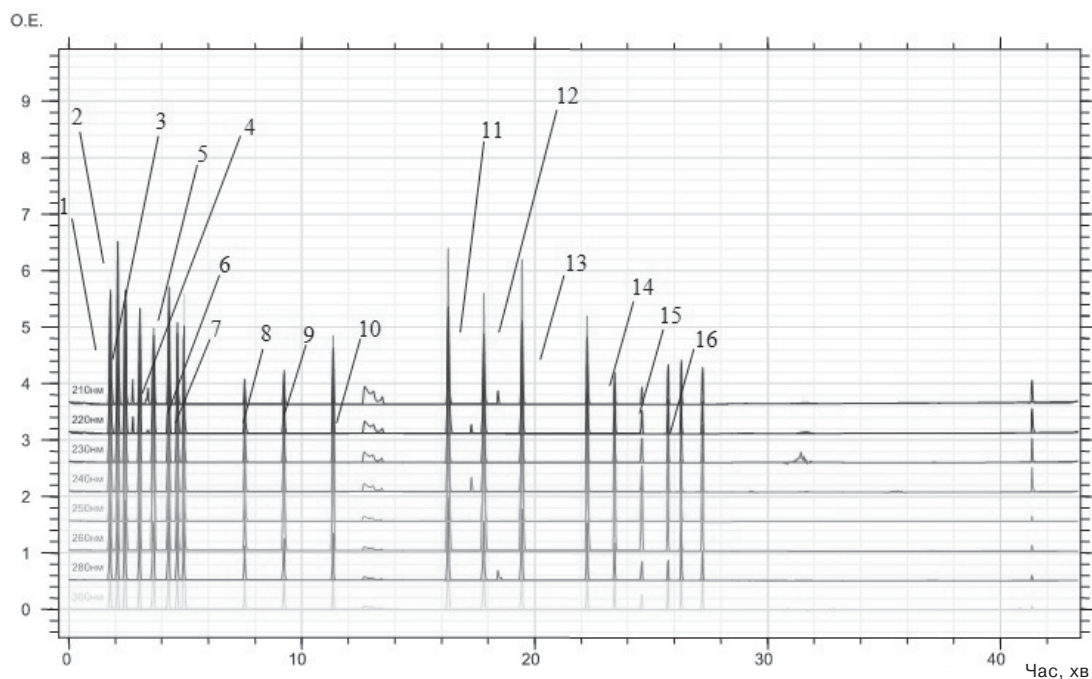


Рис. 2. Хроматограма розчину сублімованого порошку аронії.

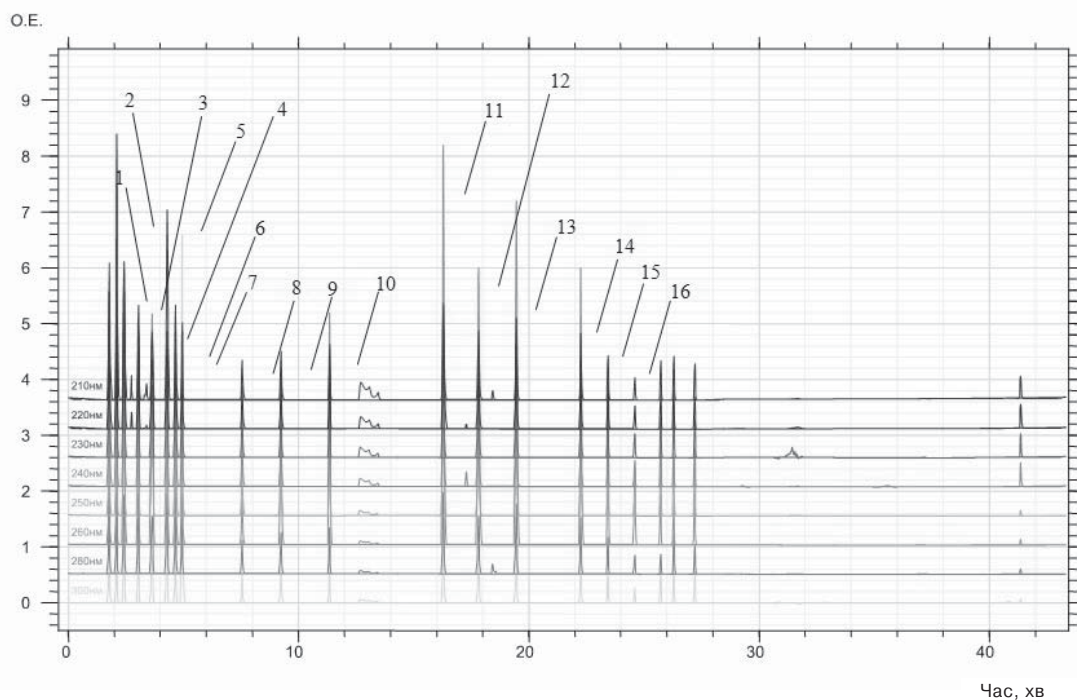


Рис. 3. Хроматограма розчину сублімованого порошку аронії в суміші з розчином суми стандартних зразків ідентифікованих речовин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барна О. М. Фізико-хімічне дослідження сублімованих екстрактів аронії з різними структуроутворювачами / О. М. Барна, Л. В. Соколова // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 4. – С. 22–26.
2. Киселев А. В. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии / А. В. Киселев, Д. П. Пошкус, Я. И. Яшин. – М.: Химия, 2006. – 272 с.
3. Пат. 43236 А Україна, А 61 К 36/00. Спосіб отримання фітосубстанції на основі аронії чорноплідної / Барна О. М., Соколова Л. В. – № 02081; заявл. 10.03.09; опубл. 10.08.09, Бюл. № 15. – 4 с.
4. Протизапальні властивості сублімованого гранульованого порошку аронії / О. А. Подплетня, В. Ю. Слесарчук, Л. В. Соколова, Т. В. Дорофєєва // Фармац. часопис. – 2011. – № 4. – С. 100–102.
5. Сегуру Н. В. Качественное и количественное определение компонентов, входящих в состав таблеток “Паглюферал”, методом ВЭЖХ / Н. В. Сегуру // VI Рос. нац. конгресс “Человек и лекарство”, 19–21 апр. 1999 г. – М., 1999. – С. 468.
6. Серегина Е. В. Применение ВЭЖХ в контроле качества алкалоидов из группы тропана / Е. В. Серегина, А. Х. Лайпанов // Фармация. – 2004. – № 1. – С. 44–47.
7. Соколова Л. В. Вивчення кристалографічних характеристик і фракційного складу ліофілізованих порошків аронії чорноплідної з різними структуроутворювачами / Л. В. Соколова, О. М. Барна // Вісник фармації. – 2007. – № 4. – С. 32–36.
8. Соколова Л. В. Вплив методу заморожування перед сублімацією на фармако-технологічні характеристики порошків аронії / Л. В. Соколова, О. М. Барна // Фармац. часопис. – 2009. – № 4. – С. 44–46.
9. Халикова М. А. Применение метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии для разделения смеси и идентификации таурина, карнозина и глутатиона / М. А. Халикова, Д. А. Фадеева, А. А. Зинченко // Научные ведомости БелГУ, Серия “Медицина. Фармация”. – 2010. – № 22 (93). – Вып. 12. – С. 157–160.
10. Ahmed A. N. Use of chemically-bonded cyclodextrin stationary phase for high performance liquid chromatographic determination of feldene capsules / A. N. Ahmed, S. M. El-Gizawy // J. Chromatogr. Sci. – 2000. – 25, № 9. – P. 424–426.
11. Analysis of opiates in human hair by high-performance liquid-chromatography / S. Pichini, I. Altieri, M. Pellegrini [et al.] // J. Liquid Chromatogr. ± Related Technol. – 2009. – 22, № 6. – P. 873–884.
12. Wang H. F. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC / H. F. Wang, K. Helliwell, X. Q. You // Food Chemistry. – 2002. – 68, № 1. – P. 115–121.

Л. В. Соколова

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КАЧЕСТВЕННАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СУБЛИМИРОВАННОГО ПОРОШКА АРОНИИ

Резюме

В статье представлены результаты качественной идентификации биологически активных веществ сублимированного порошка аронии методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. По результатам проведенных исследований, в сублимированном порошке аронии было качественно идентифицировано 16 индивидуальных веществ, которые относятся к разным классам химических соединений: витамины, органические кислоты, биофлавоноиды, вещества фенольной природы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сублимированный порошок аронии, высокоэффективная жидкостная хроматография, биологически активные вещества.

L. V. Sokolova

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

HIGH-QUALITY IDENTIFICATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF THE SUBLIMATED POWDER OF CHOKEBERRY

Summary

This article describes the results of high-quality identification of biologically active substances of the sublimated powder of chokeberry obtained by the method of high-efficiency liquid chromatography. The results of researches of sublimated powder of chokeberry identified 16 individual substances that belong to separate classes of chemical compounds such as vitamins, organic acids, bioflavonoidss, substances with phenol nature.

KEY WORDS: sublimated powder of chokeberry, high-efficiency liquid chromatography, biologically active substances.

Отримано 09.01.13

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

Ю. Л. Бандрівський, О. І. Мрочко, Н. Н. Бандрівська
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ВМІСТ ЦИТОКІНІВ ТА С-РЕАКТИВНОГО ПРОТЕЇНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРАЦІВНИКІВ СПИРТОВОГО ВИРОБНИЦТВА ІЗ ЗАПАЛЬНО-ДИСТРОФІЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ТКАНИН ПАРОДОНТА

У статті наведено результати вивчення ряду інтерлейкінів та білків "гострої фази" запалення у хворих на гінгівіт і генералізований пародонтит, зайнятих у виробництві спирту, та відхилення факторів міжклітинної імунної кооперації у даного контингенту обстежених.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: захворювання пародонта, цитокіни, С-реактивний протеїн, спиртове виробництво.

ВСТУП. Дослідження захворювань пародонта дають підставу стверджувати, що патологічні зміни в зубоутримувальних тканинах відбуваються при порушеннях загального стану організму внаслідок дії низки ендо- та екзогенних чинників, які визначають підходи до лікування і профілактики цих захворювань [1, 5].

Організм людини функціонує у нерозривній єдності з навколишнім середовищем, що закономірно привертає увагу науковців до проблеми "екологія–здоров'я". Антропогенні чинники навколишнього середовища викликають у відповідь дезаптацію попередньо сформованих біогенетичних і психофізіологічних характеристик організму, що призводить до зростання частоти й обтяжує перебіг низки захворювань. Підтвердженням тісного зв'язку захворювань пародонта з реакцією його тканин і макроорганізму на фактори зовнішнього середовища є висока частота захворювань в екологічно забруднених регіонах. У цьому аспекті вивчення несприятливих впливів довкілля на стан зубоутримувальних тканин належить до пріоритетних наукових напрямків [1, 4, 5].

У контексті таких досліджень наукову і практичну значимість становить вивчення причинно-наслідкових зв'язків виникнення і розвитку захворювань пародонта на фоні впливу професійних шкідливостей та надання стоматологічної допомоги колективу, який активно працює.

Згідно з даними галузевих стандартів і санітарно-гігієнічних характеристик умов праці

© Ю. Л. Бандрівський, О. І. Мрочко, Н. Н. Бандрівська, 2013.

на спиртових фабриках, у процесі виробництва готової продукції на організм тих, хто працює, впливає комплекс шкідливих чинників: несприятливий мікроклімат, постійний шум, вібрація, випари хімічних речовин, цукровий, буряковий пил, які є факторами ризику розвитку низки порушень функціонального й органічного характеру в організмі тих, хто працює. Контакт із профпатогенами є ймовірною ознакою високої частоти захворювань пародонта у працівників кондитерського виробництва.

Метою даного дослідження було визначити цитокіновий профіль у працівників спиртзаводів, хворих на катаральний гінгівіт та генералізований пародонтит.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження вмісту цитокінів та С-реактивного білка (СРБ) у сироватці крові було проведено в 58 осіб основної групи працівників спиртзаводу, з яких у 9 хворих діагностували хронічний катаральний гінгівіт (ХКГ), у 9 – генералізований пародонтит (ГП) I ступеня, у 20 – ГП II ступеня, у 20 – ГП III ступеня. Порівняльну групу (20 осіб) утворили обстежені добровольці з інтактним пародонтом. Усі обстежені не мали в анамнезі соматичних захворювань.

У групах дослідження в сироватці крові визначали прозапальні цитокіни: гамма-інтерферон (γ -ІФН); фактор некрозу пухлин (ФНП-1); прозапальні інтерлейкіни ІL-1, ІL-6 та протизапальний інтерлейкін ІL-2 методом імуноферментного аналізу з використанням тест-систем "Вектор-Бест" та "Pcoson" (Росія. Тестування проводили на спектрофотометрі: з'ясовували

кількісні показники оптичної щільності на хвилі 492 та 456 нм з урахуванням показників контрольних зразків). Вміст СРБ у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою систем "Латекс-тест" та "ЕКОСЛ РВІ" [2, 3, 6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз даних таблиці показав, що рівень γ -ІФН був достовірно підвищений у працівників спиртового виробництва з ГП II–III ступенів – у 3,6 та 6,1 раза відповідно стосовно даних порівняльної групи ($p < 0,05$).

У хворих на катаральний гінгівіт та ГП I ступеня основної групи підвищення вмісту γ -ІФН не було статистично достовірним ($p > 0,05$). Разом з тим, вміст ФНП-1, прозапальний ефект якого посилюється за присутності інтерферону [2], відображав подібну тенденцію: відзначали максимальні показники при ГП II–III ступенів, які перевищували значення порівняльної групи у середньому в 4,35 раза при статистичній достовірності $p < 0,05$. У хворих на катаральний гінгівіт та ГП I ступеня показники ФНП-1 дорівнювали значенням осіб з інтактним пародонтом ($p > 0,05$).

Вміст цитокіну IL-1, який зумовлює формування місцевої запальної реакції та гострофазової відповіді на рівні всього організму [6], у хворих на катаральний гінгівіт дорівнював референтним значенням ($p > 0,05$) та стрімко збільшувався: при ГП I ступеня – в 1,2 раза, при ГП II–III ступенів – у 2,3 раза стосовно аналогічного показника порівняльної групи.

При дослідженні вмісту в сироватці крові цитокіну IL-2 відзначали достовірне зменшення цього фактора у пацієнтів з дистрофічно-запальними процесами у пародонті стосовно даних порівняльної групи ($p < 0,05$), що підкреслює інгібуючу дію прозапальних цитокінів на вміст у сироватці крові протизапального IL-2 [3, 6].

Вміст IL-6, що є раннім медіатором запалення [5, 6], синтез якого починається безпосередньо після дії чужорідних агентів, збільшувався залежно від інтенсифікації запального процесу в пародонті з максимальними значеннями при ГП II–III ступенів ($p < 0,05$). Роль цитокіну IL-6 у розвитку запалення двояка [3, 6]: будучи за своїми ефектами типовим прозапальним цитокіном, він зумовлює також проти-запальну дію, сприяючи інгібуванню вироблення протизапальних IL-1 та ФНП-1. Біологічний механізм цього парадоксального явища зводиться до того, що IL-6 як би завершує формування запального процесу [3, 6].

СРБ, у стимуляції якого беруть активну участь IL-1 та IL-6, у пацієнтів основної групи із запальними захворюваннями пародонта достовірно збільшувався при ГП II–III ступенів ($p < 0,05$) за відсутності достовірно значущих відмінностей при катаральному гінгівіті та ГП I ступеня ($p > 0,05$).

Отже, проведені дослідження показали, що рівень продукції інтерлейкінів при катаральному гінгівіті та ГП I ступеня у працівників спиртового виробництва можна розцінювати як "нормальний", індукований у зв'язку з інфекційною агресією і достатній для її подолання, який характерний для просторово обмежених запальних та імунних процесів. Рівні продукції інтерлейкінів при ГП II–III ступенів можна розглядати як гіперіндукцію при генералізованих та інтенсифікованих запальних і інших процесах, що зумовлює розвиток імунопатології – гіперергічну, генералізовану відповідь на інфекційні або інші агресивні агенти [2, 3].

Відсутність значного підвищення рівня СРБ у хворих на катаральний гінгівіт та ГП I ступеня, можливо, відображає закономірний взаємозв'язок індукції вироблення цього білка у клітинах печінки з низьким рівнем ФНП-1 або підвищенням IL-6, що порушує закономірні

Таблиця – Вміст цитокінів та С-реактивного білка в сироватці крові осіб груп порівняння

Група	ІФН	ІЛ-1	ІЛ-2	ІЛ-6	ІЛ-10	ІЛ-17	ІЛ-18
хворих на катаральний гінгівіт	у сироватці крові	у сироватці крові	у сироватці крові	у сироватці крові	у сироватці крові	у сироватці крові	у сироватці крові
Група порівняння	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
ГП I ступеня	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
ГП II ступеня	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6	3,6 ± 0,6
ГП III ступеня	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0	6,1 ± 1,0
СРБ	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2

Примітка. р – достовірна різниця стосовно порівняльної групи.

системні нейроендокринні й метаболічні реакції, в тому числі й гострофазові [2, 3, 5].

ВИСНОВКИ. Вивчення вмісту цитокінів у сироватці крові працівників спиртзаводів із запальними захворюваннями тканин пародонта довело достовірне підвищення рівня прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, ФНП-1, які безпосередньо беруть участь у патогенезі запальних захворювань та характеризують стан реактивності організму. У хворих на катаральний гінгівіт та ГП I ступеня, з нашої точки зору, відзначають більш збалансований профіль цитокінів із закономірними фізіологічними реакціями на запалення. У пацієнтів з ГП II–III ступенів рівень усіх досліджуваних

цитокінів достовірно вищий стосовно даних порівняльної групи, що дозволяє припустити “цитокінічний вибух”, тобто спостерігають тенденцію до формування гіперергічної реакції та генералізації запального процесу. Дана тенденція є прогностично небезпечною ситуацією, яка призводить до частих рецидивів та хронізації запалення при відсутності адекватного лікування. Рівень СРБ у хворих основної групи відображає ступінь вираження запального процесу і може бути застосований у клінічній практиці як маркер запалення. Отримані дані зумовлюють комплексне застосування при лікуванні протизапальних препаратів та імуномодуляторів, широко представлених на фармацевтичному ринку України.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Генералізований пародонтит / [Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, А. В. Марков та ін.]. – Львів, 2011. – 237 с.
2. Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии / Ф. И. Ершов. – М. : Медицина, 1996. – 180 с.
3. Казмирчук В. Роль цитокінів у виявленні функціональних порушень імунітету / В. Казмирчук, Д. Мальцев // Ліки України. – 2003. – № 3. – С. 29–32.
4. Кундиев Ю. И. Современные проблемы комбинированного действия на организм производственных и социально-бытовых факторов / Ю. И. Кундиев, В. В. Кельниш // Лік. справа. – 1993. – № 5–6. – С. 92–96.
5. Пудяк В. Є. Імунологічні аспекти хвороб пародонта та його зв'язок із соматичною патологією // В. Є. Пудяк, Ю. Л. Бандрівський, Н. Н. Бандрівська // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 2. – С. 41–44.
6. Ярилин А. А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А. А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7–14.

Ю. Л. Бандривский, О. И. Мрочко, Н. Н. Бандривская
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И С-РЕАКТИВНОГО ПРОТЕИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ РАБОТНИКОВ СПИРТОВОГО ПРОИЗВОДСТВА С ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА

Резюме

В статье представлены результаты изучения ряда интерлейкинов и белков “острой фазы” воспаления у больных гингивитом и пародонтитом, работающих на спиртовом производстве, и отклонения факторов межклеточной иммунной кооперации у данного контингента обследованных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: заболевания пародонта, цитокины, С-реактивный протеин, спиртовое производство.

Yu. L. Bandrivskyi, O. I. Mrochko, N. N. Bandrivska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

**CYTOKINES AND C-REACTIVE PROTEIN CONTENTS IN BLOOD SERUM
IN ALCOHOL PRODUCTION WORKERS WITH PARODONTIUM TISSUE
DEGENERATIVE INFLAMMATORY DISEASE**

Summary

The results of acute phase interleukins and proteins inflammation in patients with gingivitis and parodontitis working in alcohol production and study of intercellular immune cooperation rejection factors in this group of patients were investigated in the article.

KEY WORDS: parodontium disease, cytokines, C-reactive protein, alcohol production.

Отримано 24.12.12

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

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

Досліджено динаміку показників антиоксидантного захисту у відповідь на травму. Виявлено, що застосування тіотриазоліну в щурів при розвитку травматичної хвороби на пізніх етапах (з 14 до 28 доби) супроводжується меншими відхиленнями стосовно нелікованих тварин. Активність супероксиддисмутази, як і каталази, у печінці є нижчою вже на 14-ту добу, на 21-шу підвищується, залишаючись на цьому ж рівні на 28-му добу. Їх величина у всі терміни спостереження менша від рівня нелікованих тварин. Вміст SH-груп у тканині печінки на 14-ту добу більший, ніж у нелікованих тварин, на 21-шу зростає з наступним зменшенням на 28-му добу, проте в останній термін суттєво перевищує даний показник у групі нелікованих щурів. Вміст у сироватці крові церулоплазмину на 14-ту добу істотно перевищує рівень контролю і нелікованих тварин, проте в подальшому знижується і стає істотно меншим, ніж у групі, яка не отримувала тіотриазолін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма, каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмін, SH-групи, тіотриазолін, печінка.

ВСТУП. Травматизм – одна з основних медичних і соціальних проблем третього тисячоліття. У структурі смертності він займає третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань, а в осіб до 40 років – перше [1, 7]. Дослідження, що стосуються тяжкої травми, в основному зосереджені на початкових періодах травматичної хвороби: гострої реакції на травму та ранніх проявів, які характеризуються значною летальністю [4, 9]. Незважаючи на те, що недостатність печінки на тлі тяжкої травми рідко буває безпосередньою причиною смерті, її дисфункція створює несприятливий ґрунт для одужання. На сьогодні встановлено, що в печінці виникають альтеративні зміни, які відповідають тяжкості попередніх порушень гемодинаміки. При тривалій гіпотензії закономірно з'являються обширні некрози у III зоні печінкових ацинусів, які можуть сягати до 48 % паренхіми. Це супроводжується значним наростанням ендогенної інтоксикації [10]. Антиоксидантну систему вважають однією з найважливіших і перших систем, що забезпечують захист від пошкодження за даних умов. Дисфункція печінки на тлі тяжкої скелетної травми є постійним компонентом її перебігу і вимагає патогенетично обґрунтованих засобів корекції залежно від періоду травматичної хвороби. Механізми дисфункції печінки в © С. М. Придруга, 2013.

ранній посттравматичний період (1–14 доби) досить широко розкрито у ряді публікацій, тоді як особливості антиоксидантного захисту та, особливо, функціонального стану печінки у віддалений період вивчено недостатньо [3]. Враховуючи це, доцільно дослідити гепатопротектори, в основі дії яких лежить не тільки протекторний вплив на печінку, але й здатність долати ряд патологічних порушень, що виникають при травматичній хворобі. Тому метою даної роботи було з'ясувати вплив політравми на морфофункціональний стан печінки та розробити методи патогенетичної терапії у період пізніх проявів травматичної хвороби.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Травму моделювали шляхом нанесення дозованого удару по кожному стегну. Сила удару була встановлена емпірично і дозволяла при одноразовому нанесенні отримувати закритий перелом стегнової кістки. Процедура виконували за умов тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг·кг) із дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), Закону України “Про захист тварин від жорстокої поведінки” (2006). Для досліджень застосовували сироватку крові

та 10 % гомогенат печінки. Експерименти виконано на трьох групах тварин: 1-ша група – контрольна; 2-га – тварини з політравмою; 3-тя – тварини з політравмою+корекція тіотриазоліном. Корекцію проводили шляхом внутрішньочеревного введення тіотриазоліну у вигляді 2,5 % розчину в дозі $9,07 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$, яка відповідає середньодобовій дозі 100 мг для дорослої людини [5]. Препарати вводили одноразово у один і той самий час у першій половині дня. Курс введення складав 7 днів: з 7 до 14 діб.

Для оцінки вмісту SH-груп у гомогенаті печінки використовували реактив Елмана [2]. Принцип методу полягає у взаємодії 5,5'-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) із SH-групами досліджуваного субстрату. При цьому утворюється тіонітрофенільний аніон, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп. Їх концентрацію виражали в мілімолях на кілограм тканини печінки (відповідно, $\text{ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$).

Вміст у сироватці крові церулоплазміну (ЦП) визначали за методикою, описаною в довіднику [6]. Принцип методу ґрунтується на окисненні *p*-фенілендіаміну за присутності церулоплазміну, що призводить до утворення забарвлених продуктів. Кількість церулоплазміну ($\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$) прямо пропорційна інтенсивності забарвлення.

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали у гомогенаті печінки. Принцип методу базується на здатності ферменту інгібувати відновлення нітротетразолію синього. Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, брали за 1 ум. од. активності [8].

Активність каталази визначали у сироватці крові за методикою М. А. Королюка і співавт. (1988). Принцип ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність якого обернено пропорційна активності каталази у досліджуваному субстраті. Результат виражали в мілікаталах на літр ($\text{мкат} \cdot \text{л}^{-1}$).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать отримані нами результати, які наведено на рисунках 1 та 2, на 14-ту добу політравма зумовлювала істотне стосовно контролю підвищення активності СОД у тканині печінки – більше ніж у 3 рази ($p < 0,001$), каталази – більше ніж у 2 рази ($p < 0,001$). Натомість статистично достовірно зменшувався вміст SH-груп – на 39,1 % ($p < 0,001$) (рис. 3), а в сироватці крові зростав рівень ЦП – на 11,2 % ($p < 0,05$) (табл.). Через 21 добу після політравми суттєво знижувалась, порівняно з попереднім терміном

спостереження, активність СОД і каталази у тканині печінки (відповідно, на 82,8 і 22,9 %, $p < 0,001$). Натомість більш ніж у 2 рази зростав у тканині печінки вміст SH-груп ($p < 0,001$) та в сироватці крові – ЦП на 47,6 % ($p < 0,001$). На 28-му добу розвитку модельованої патології підвищувалась активність СОД і каталази у тканині печінки. Однак тільки зростання величини СОД виявилось статистично достовірним (на 54,3 %, $p < 0,001$). Вміст у тканині печінки SH-груп і ЦП у сироватці крові знижувався, проте лише відхилення вмісту сульфгідрильних груп було статистично достовірним – на 53,4 % ($p < 0,001$).

Таким чином, на тлі збільшеного рівня пероксидного окиснення ліпідів у тканині печінки вищою була активність ферментів антиоксидантного захисту СОД і каталази, а в сироватці крові – ЦП. Крім цього, у тканині печінки зниженим виявився вміст сульфгідрильних груп. У подальшому (на 21-шу добу) активність СОД і каталази різко зменшилася, натомість вміст сульфгідрильних груп та ЦП (рис. 4) збільшився. На 28-му добу активність каталази та ЦП не змінювалася стосовно попереднього терміну спостереження, однак активність СОД стрімко зростає, а вміст SH-груп знизився, проте не досягнув рівня, зафіксованого на 14-ту добу.

Застосування тіотриазоліну з метою корекції перебігу модельованої патології призводило до менших відхилень досліджуваних показників антиоксидантного захисту. Так, на 14-ту добу активність СОД у тканині печінки була лише на 39,9 % вищою від рівня контролю ($p < 0,001$) і в 2 рази нижчою від рівня нелікованих тварин ($p < 0,001$). Активність каталази у тканині печінки в цей термін суттєво не відрізнялася від контролю ($p > 0,05$) і була у 2,1 рази меншою від рівня нелікованих щурів ($p < 0,001$). Хоча вміст SH-груп на тлі тіотриазоліну був достовірно на 12,1 % меншим від контролю ($p < 0,05$), однак даний показник на 44,5 % перевищував рівень у нелікованих тварин. Аналогічно значно більшим від рівня контролю і нелікованих щурів на тлі застосування тіотриазоліну виявився вміст у сироватці крові ЦП (відповідно, на 72,9 і 55,4 % ($p < 0,001$ в обидвох випадках)). Використання для корекції тіотриазоліну призводило до менших відхилень показників антиоксидантного захисту в динаміці пізніх проявів травматичної хвороби. Так, активність СОД у тканині печінки на 21-шу добу стосовно попереднього терміну спостереження збільшилася всього на 23,7 % ($p \leq 0,05$) і залишалася на такому ж рівні на 28-му добу. Даний результат був статистично

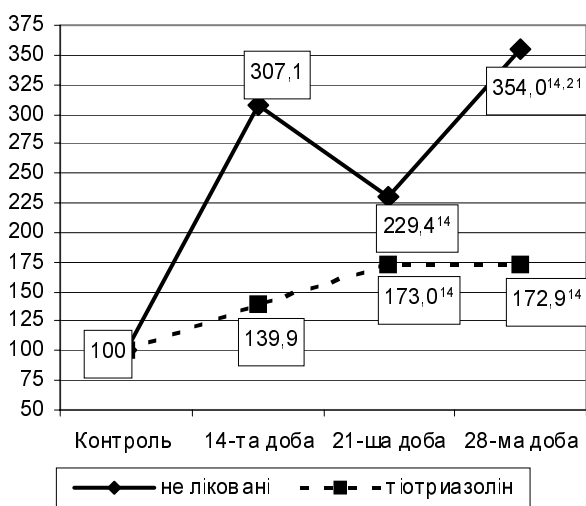


Рис. 1. Ступінь відхилення активності СОД гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

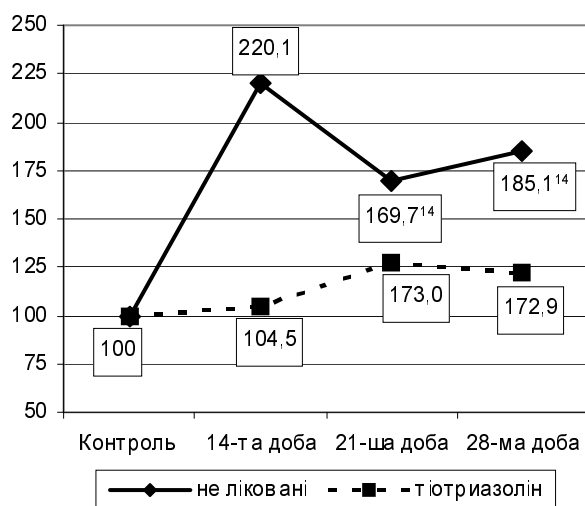


Рис. 2. Ступінь відхилення активності каталази гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

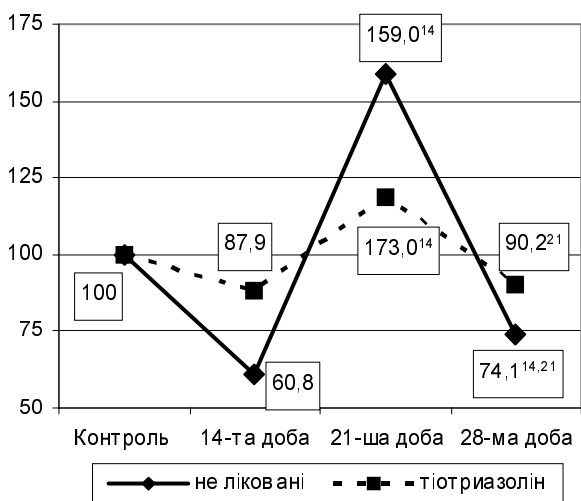


Рис. 3. Ступінь відхилення вмісту SH-груп гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політрави.

28-му – на 51,1 % ($p < 0,001$). Активність каталази у тканині печінки на 21-шу і 28-му доби теж перевищувала рівень контролю, відповідно, на 27,3 ($p < 0,10$) і 22,0 % ($p < 0,01$). Величина активності даного ферменту в ці терміни спостереження була статистично достовірно нижчою, ніж у нелікованих тварин, – на 25,0 ($p < 0,10$) і 34,1 % ($p < 0,001$). На тлі застосування тіотриазоліну істотно на 21-шу добу підвищувався вміст SH-груп у тканині печінки – на 34,9 % стосовно попереднього терміну спостереження ($p \leq 0,05$), на 28-му добу величина даного показника поверталася до рівня 14-ї доби (про це свідчила відсутність достовірної відмінності між групами ($p > 0,05$)). На 21-шу добу спостереження вміст SH-груп був статистично достовірно більшим від рівня контролю – на 18,6 % ($p < 0,01$). На 28-му добу його величина ставала меншою від контрольного рівня – на 9,8 % ($p < 0,05$). Незважаючи на це, вміст у тканині печінки SH-груп був на 21-шу добу

достовірно меншим стосовно нелікованих тварин: на 21-шу добу – на 24,6 % ($p < 0,01$), на

Таблиця – Величина показників антиоксидантного захисту в динаміці періоду пізніх проявів політрави у сироватці крові ($M \pm m$)

Показник	Умова досліджу	Контроль	Політрава		
			14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
СОД, мкат·кг ⁻¹	Не ліковані	0,296±0,018	0,909±0,013***	0,679±0,031***	1,048±0,025***
	Тіотриазолін		0,414±0,010***	0,512±0,022***	0,512±0,023***
	p		<0,001	<0,01	<0,001
Каталаза, мкат·кг ⁻¹	Не ліковані	1,790±0,067	3,940±0,114***	3,037±0,331***	3,314±0,127***
	Тіотриазолін		1,871±0,143	2,278±0,253#	2,183±0,098**
	p		<0,001	<0,10	<0,001
SH-групи, ммоль·г ⁻¹	Не ліковані	1,382±0,042	0,841±0,034***	2,197±0,130***	1,024±0,063***
	Тіотриазолін		1,215±0,051*	1,639±0,068**	1,246±0,018*
	p		<0,001	<0,001	<0,05
ЦП, мг·л ⁻¹	Не ліковані	7,96±0,16	8,85±0,35*	13,21±0,27***	12,58±0,38***
	Тіотриазолін		13,76±0,50***	9,93±0,55**	10,01±0,28***
	p		<0,001	<0,001	<0,001

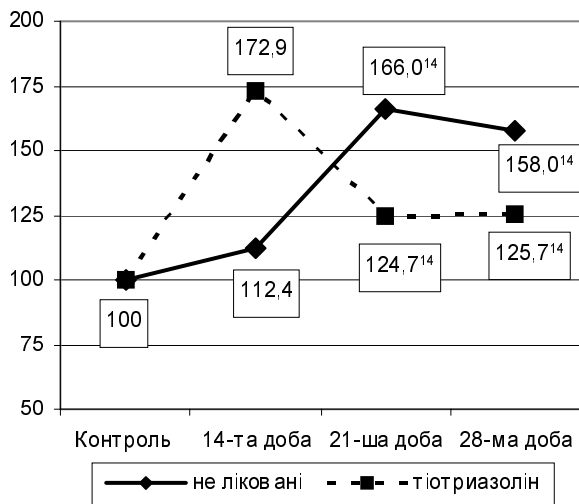


Рис. 4. Ступінь відхилення вмісту ЦП гомогенату печінки (у відсотках стосовно контролю) в період пізніх проявів політравми.

розвитку травматичної хвороби на 25,4 % меншим ($p < 0,001$), а на 28-му добу – на 21,7 % більшим ($p < 0,05$) стосовно групи нелікованих тварин.

У свою чергу, вміст ЦП у сироватці крові на тлі корекції тіотриазоліном на 21-шу добу стосовно попереднього терміну спостереження знижувався (на 27,8 %, $p < 0,05$) і практично залишався на такому ж рівні на 28-му добу,

що було істотно меншим стосовно групи нелікованих тварин: на 21-шу добу – на 24,8 % ($p < 0,001$), на 28-му добу – на 20,4 % ($p < 0,001$).

ВИСНОВКИ. Показники антиоксидантного захисту у відповідь на травму і застосування тіотриазоліну супроводжувалися меншими відхиленнями стосовно нелікованих тварин у динаміці періоду пізніх проявів травматичної хвороби. Активність СОД у тканині печінки є нижчою вже на 14-ту добу, на 21-шу – підвищується, залишаючись на цьому ж рівні на 28-му добу. Її величина у всі терміни спостереження менша від рівня нелікованих тварин. Активність каталази в тканині печінки на 14-ту добу істотно не відрізняється від рівня контролю й аналогічно підвищується на 21-шу і 28-му добу. Амплітуда коливань є суттєво меншою порівняно з нелікованими тваринами. Вміст SH-груп у тканині печінки на 14-ту добу більший, ніж у нелікованих тварин, на 21-шу – зростає з наступним зниженням на 28-му добу, проте в останній термін суттєво перевищує такий у нелікованих щурів. Вміст у сироватці крові ЦП на 14-ту добу істотно перевищує рівень контролю в групі нелікованих тварин, проте в подальшому знижується і стає істотно меншим, ніж у групі, яка не отримувала тіотриазолін.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Апарцин К. А. МОСТ: мониторинг травматизма при сочетанных механических повреждениях / К. А. Апарцин, А. П. Зайцев, А. В. Новожилов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 3. – С. 112–114.
2. Веревкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5-дифитиобис (2-нитробензойной) кислоты / И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Совр. методы биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.
3. Гудима А. А. Порухення морфофункціонального стану печінки в умовах локальної кріодеструкції шкіри та його корекція / А. А. Гудима, О. Б. Сван, Т. В. Дацко // Здобутки клін. і експерим. мед. – 2007. – № 2. – С. 183–188.
4. Ельский В. Н. Травматическая болезнь: некоторые спорные и нерешенные вопросы / В. Н. Ельский, С. Е. Золотухин, А. Т. Денисов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1988. – № 2. – С. 67–70.
5. Клиническое применение тиотриазолина в терапии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 1. – С. 71–74.
6. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
7. Непроизводственный городской травматизм как медико-социальная проблема / А. Н. Косинец, В. П. Дейкало, М. А. Никольский, В. В. Сиротко // Новые технологии в военно-полевой хирургии и хирургии поврежденных мирного времени: международная конференция: материалы конф. – СПб., 2006. – С. 336–337.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах [Текст] / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
9. Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma / D. Nast-Kolb, M. Aufmkolk, S. Rucholtz [et al.] // J. Trauma. – 2001. – 51, № 5. – P. 835–841.
10. Real-time assessment of hepatic function is related to clinical outcome in critically ill patients after polytrauma / K. Dresing, V. W. Armstrong, C. L. Leip [et al.] // Clin. Biochem. – 2007. – 40, № 16–17. – P. 1194–1200.

ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРОЯВЛЕНИЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Резюме

Исследована динамика показателей антиоксидантной защиты в ответ на травму. Выявлено, что применение тиотриазолина у крыс при развитии травматической болезни на поздних этапах (с 14 по 28 сутки) сопровождается меньшими отклонениями по отношению к животным без лечения. Активность супероксиддисмутазы, как и каталазы, в печени ниже уже на 14-е сутки, на 21-е повышается, оставаясь на этом же уровне на 28-е сутки. Их величина во все сроки наблюдения ниже уровня животных без коррекции. Содержание SH-групп в ткани печени на 14-е сутки выше, чем у нелеченных животных, на 21-е возрастает с последующим уменьшением на 28-е сутки, однако в последний срок существенно превышает данный показатель в группе крыс без коррекции. Содержание в сыворотке крови церулоплазмينا на 14-е сутки существенно превышает уровень контроля и нелеченных животных, однако в дальнейшем снижается и становится существенно меньше, чем в группе, которая не получала тиотриазолин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма, каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмин, SH-группы, тиотриазолин, печень.

S. M. Prydruha

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT DEFENSE AT THE PATHOGENESIS OF TRAUMATIC DISEASE MANIFESTATION AND THEIR CORRECTION

Summary

The dynamic of antioxidant defense at the response to injury was investigated. The application of thiotriazolin in rats during the development of traumatic disease at later stages (from 14 to 28 days) is followed by less deviations in relation to untreated animals. Activity of superoxide dismutase and catalase in the liver is lower at the 14th day, increased at the 21st day, remained at this level at 28th day. Their value in all periods of observation is lower than level of untreated animals. The concentration of SH-groups in liver tissue at 14th day is higher than untreated animals, at the 21st day rised with subsequent reduction at 28th day, but at the last term it considerably more than the figure in the group of untreated animals. Concentration of ceruloplasmin in the blood serum at the 14th day is significantly more than in the control and untreated animals, but further it decreased and become significantly lower than in untreated group.

KEY WORDS: polytrauma, catalase, superoxide dismutase, ceruloplasmin, SH-group thiotriazolin, liver.

Отримано 27.12.12

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

**ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ІНГІБУВАННЯ iNOS
ПРИ ЗАПАЛЕННІ ТКАНИН ПАРОДОНТА НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

Досліджено вплив цукрового діабету 1-го типу на перебіг ліпополісахаридного запалення тканин пародонта в щурів. Ліпополісахаридний пародонтит супроводжувався активацією iNOS (у крові й тканині пародонта зростав вміст NO_x) і окиснювальних процесів (збільшувався рівень ТБК-активних продуктів та окисномодифікованих білків, пригнічувалася антиоксидна система). У щурів, в яких запалення пародонта моделювали на фоні стрептозотоцинового цукрового діабету, окиснювальні процеси були значно вираженішими, ніж у тварин без діабету. Застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину достовірно попереджувало явища оксидативного і нітрооксидативного стресу у тварин з пародонтитом на фоні діабету.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, діабет, окиснювальні процеси, аміногуанідин.

ВСТУП. За даними літератури, в різних країнах світу близько 60–90 % населення страждає від запалення тканин пародонта різного ступеня тяжкості [21]. Відомо, що основним етіологічним фактором пародонтиту є ліпополісахарид анаеробних грамнегативних мікроорганізмів. Захворювання пародонта часто пов'язані із соматичними хворобами, зокрема серцево-судинною і легеневою патологіями, діабетом, хворобами шлунково-кишкового тракту, в тому числі печінки [13, 18, 20]. Цукровий діабет за своїм соціальним і медичним значенням займає важливе місце в загальній структурі захворюваності й характеризується тяжкістю лікування і серйозним прогнозом. Ряд літературних даних вказує на тісний взаємозв'язок запальних захворювань ротової порожнини з діабетом [22, 23]. Разом із тим, особливості патогенезу пародонтиту, що виникає на фоні супутнього діабету, все ще потребують детальнішого вивчення.

Діабет асоціюється з розвитком запальних процесів у тканинах, а гіперглікемія призводить до ураження білків сполучної тканини і кісткового матриксу, наприклад колагену, шляхом неферментативного глікозилювання. Відомо, що інтерлейкіни відіграють важливу роль у розвитку запалення, зокрема шляхом стимуляції індукцибельної форми синтази оксиду азоту. Було показано, що при діабеті мають місце розлади продукування про- й анти-запальних інтерлейкінів [16]. Тому, логічно,

© Г. Б. Колодницька, В. М. Коропчук, М. М. Корда, 2013.

імунологічні розлади і стимуляція запалення, що відбуваються при діабеті, можуть викликати зміни у функціонуванні системи оксиду азоту.

Відомо також, що підвищений вміст високоактивної iNOS спостерігають при пародонтиті у тканинах ясен [10, 19]. Надмірне утворення NO, що має місце при стимуляції iNOS ендотоксинами патогенної мікрофлори ротової порожнини, призводить до нітрооксидативного стресу, який, разом з активацією процесів ліпопероксидації і пригніченням системи антиоксидного захисту, є одним з основних механізмів розвитку запалення тканин пародонта [3, 6]. З огляду на таке розуміння участі NO у патогенезі діабету і пародонтиту, має будуватися стратегія лікування запалення пародонта, поєданого з діабетом. Логічно впливає, що потенційним позитивним ефектом у цьому випадку повинні володіти препарати, які б селективно пригнічували індукцибельну форму синтази оксиду азоту.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті можливість корекції порушень окиснювальних процесів при пародонтиті на фоні стрептозотоцинового цукрового діабету за допомогою селективного інгібітора iNOS аміногуанідину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використано 40 безпородних щурів-самців масою 160–180 г. Усіх тварин поділили на чотири групи: 1-ша – контроль (інтактні щури); 2-га – щури, в яких викликали запалення па-

родонта (протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду E. Coli (ЛПС)); 3-тя – щури з пародонтитом на фоні цукрового діабету. У тварин цієї групи викликали цукровий діабет шляхом одноразового внутрішньочеревного введення стрептозотоцину в дозі 45 мг/кг. Починаючи з 30-ї доби після введення стрептозотоцину, щурам протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ЛПС. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози. В експерименті використовували тварин із рівнем глюкози 12–18 ммоль/л. До 4-ї групи входили щури з пародонтитом на фоні діабету, яким, починаючи з 30-ї доби експерименту, паралельно з ЛПС щоденно протягом 14-ти діб вводили внутрішньочеревно селективний інгібітор індукцйбельної NO-синтази аміногуанідин (“Sigma-Aldric”, США) у дозі 20 мг/кг [9]. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. У гомогенаті тканин пародонта та крові визначали рівень нітратів і нітритів (NO_x) [14], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [1], окисномодифікованих білків (ОМБ) [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [11], каталази (КТ) [4] та вміст відновленого глутатіону (ГSH) [17]. У плазмі крові також визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [2] і загальну антиоксидну активність (ЗАА) [15].

Результати виражали як середнє±SEM з 10 експериментів. Зміни $p < 0,05$ розглядали як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статистичні програми і t-критерій Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У попередній роботі [8] ми показали, що оксидативний і нітрооксидативний стрес відіграє важливу роль у патогенезі пародонтиту, викликаного ендотоксинами грамнегативної мікрофлори, про що свідчить достовірне зростання вмісту в плазмі крові й пародонті щурів, яким вводили ЛПС, нітритів і нітратів, ТБК-АП та ОМБ, а також зниження активності СОД, КТ і рівня ГSH у тканинах ясен. Як видно з результатів, наведених у таблиці, якщо пародонтит розвивався на фоні цукрового діабету, практично всі показники, що характеризували активність окиснювальних процесів, достовірно погіршувалися. Так, у тварин 3-ї групи вміст ТБК-АП у плазмі крові зростав в 1,3 раза порівняно з аналогічним показником у щурів 2-ї групи, а в тканинах пародонта – в 1,2 раза. Іншим важливим параметром, що характеризує активність утворення вільних радикалів у тканинах, є ступінь окисної модифікації білків. Інтенсивність даного процесу оцінювали за вмістом у тканинах альдегідо-

і кетоніпохідних, що утворювалися при дії активних радикалів на амінокислотні залишки в молекулах білків. Вміст у плазмі крові 2,4-динітрофенілгідразонів, які визначалися при 310 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру), і тих, що визначалися при 430 нм (альдегідо- і кетоніпохідні основного характеру), підвищувався у групі тварин з пародонтитом на фоні гепатиту в 2,6–2,7 раза порівняно з тваринами, в яких моделювали пародонтит без гепатиту. В тканинах ясен щурів 3-ї групи обидва показники також достовірно (в 1,4–1,5 раза) зростали порівняно з такими у тварин 2-ї групи.

Одним із факторів, що визначають інтенсивність вільнорадикальних реакцій у біологічних тканинах, є стан системи антиоксидного захисту. З даних літератури відомо, що як при пародонтиті, так і при діабеті функціонування антиоксидної системи суттєво пригнічується [3, 7, 12]. Очевидно, саме цим можна пояснити отримані нами дані, які свідчать про те, що в щурів з пародонтитом, що розвивався на фоні цукрового діабету, порушення функціонування антиоксидної системи набагато більше виражені, ніж у тварин, яким вводили тільки ЛПС. Зокрема, активність СОД зменшилася в тканинах ясен щурів 3-ї групи, порівняно з 2-ю, в 1,5 раза, а активність КТ – у 2,1 раза. У плазмі крові спостерігали тенденцію до зниження вмісту ГSH після введення ЛПС на фоні хронічного гепатиту порівняно з відповідним показником у щурів, яким вводили тільки ЛПС, а загальна антиоксидна активність плазми крові зменшувалася в 1,3 раза.

Вищеописані результати дозволяють стверджувати, що оксидативний стрес є одним з тих фундаментальних механізмів, що відіграють важливу роль у патогенезі запалення ясен, викликаного токсинами грамнегативної мікрофлори. Особливо активізуються вільнорадикальні процеси в тканинах пародонта за умов, коли токсична дія ліпополісахариду відбувається на тлі цукрового діабету.

З даних літератури відомо, що при запальних процесах у пародонті зростає експресія iNOS [10, 19]. Раніше ми також показали, що при пародонтиті достовірно підвищувався вміст продуктів обміну NO – нітритів і нітратів – у крові й тканинах пародонта і що даний показник особливо різко зростав при моделюванні пародонтиту на фоні дії гепатотропної некрозогенної отрути алілового спирту [12]. Результати даної роботи свідчать про те, що інсулінозалежний цукровий діабет також впливав на продукцію NO при дії токсину грамнегативної мікрофлори на тканини пародонта. У

Таблиця – Вплив аміногуанідину на показники інтенсивності оксидативного і нітрооксидативного стресу в плазмі крові й тканинах ясен щурів з ліпополісахаридним пародонтитом на фоні цукрового діабету

с, ан. і Вае	Компнє ноВі е			
	а, і то, %де	пно, ~, і тВте	пно, ~, і тВт9 ~@ухте	пно, ~, і тВт9~@ухт9 ниС, йні СВі е
с %и. инєо, @				
з л, ъи, %дк%е	1бг±0ш1е	рлб0±0ш-8е	г шН±0ш08#е	рш0±0ш5†е
6±0() с ѡи ай, %дк%е	г 5ш#±1шге	-5л80±1ш-8е	Н1р8±-л018#е	51р±рш†е
3 - ±310ш ай, %дк%е	0ш#±0ш0-е	0ш# 0л05е	1р-. 0ш#8#е	лб-. 0ш †е
3 - ±430ш ай, %дк%е	0ш-. 0л0ре	0ш# 0л0Н8е	1л# 0ш-8#е	р0. 0ш0†е
Об ѡантк%е	0лН. 0л01е	0лб0. 0л0р8е	0лбН. 0л0г8е	0лб1. 0л0ге
/ с ѡк%е	0ш# 0ш е	0ш0. 0л0ге	0ш0. 0л018е	0ш5. 0л0 †е
КО1 ѡи, %дк%е	1л80. 0ш0е	1шл-. 0ш-е	1ш1. 0шН8е	1ш-. 0шН†е
2)) ѡ ѡн%дим ні і 4е мг, охі і 4б±0() се	-г р0. рш1е	г-р0. 1ш0е	р-р1. 1ш-8#е	г гш0. 1л0-†е
бани Ві Вєно, ~, і тне				
з л, ѡи, %дк%е	0лб1. 0л0Не	ш# 0л0#8е	шг. 0ш 8#е	л0г. 0ш-†е
6±0() с ѡи ай, %дк%е	1лр. 0ш5е	рл# 0ш-8е	г шг. 0ш 8#е	рш-. 0ш0†е
3 - ±310ш ай, %дк%е	рш0. 0ш1е	5р-. 0ш18е	8ш0. 0ш08#е	5ш0. 0ш0†е
3 - ±430ш ай, %дк%е	1ш#-. 0ш8е	-лшг. 0ш-8е	#р-. 0лб18#е	-лш1. 0ш-†е
5, 6 ѡ ~7е	0шр. 0л е	0ш-. 0л0 8е	0ш0. 0л00#8#е	0шН. 0л01†е
Об ѡантк%е	лН. 0л0#е	ш-. 0ш-е	0ш8. 0л018#е	л01. 0л0#†е
КО1 ѡи, %дк%е	Н-шН. 8ш#е	0ш0. #ш#8е	8Ншр. -ш#8е	1-ш. 1лб†е

Примітки:

- 1) * – зміни достовірні порівняно з контролем;
- 2) # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин з пародонтитом;
- 3) † – зміни достовірні порівняно з показниками тварин з пародонтитом на фоні діабету.

тварин 3-ї групи вміст NO_x у плазмі крові зростав, порівняно з аналогічним показником у щурів 2-ї групи, в 1,2 раза. Ще більшою мірою (в 1,4 раза) даний показник підвищувався в тканинах пародонта тварин, яким вводили ЛПС на фоні діабету. Різке зростання рівня NO_x при дії ЛПС на фоні діабету можна пояснити тим фактом, що за дії стрептозотоцину утворюються ендотоксини, що стимулюють вироблення цитокінів, які здатні стимулювати iNOS, в тому числі й у пародонті.

Отже, можна стверджувати, що не тільки оксидативний стрес, але і порушення обміну NO, зокрема гіперекспресія індукцибельної NO-синтази в пародонті, є однією з ключових ланок патогенезу пародонтиту, що розвивається на фоні цукрового діабету. Виходячи з таких міркувань, патогенетично обґрунтованим можна вважати застосування препаратів, які б селективно інгібували індукцибельну форму NO-синтази за такої патології. Як свідчать наведені в таблиці дані, введення тваринам аміногуанідину протягом 2-х тижнів достовірно (в 1,5 раза) знижувало рівень NO_x в плазмі крові та в 1,7 раза в пародонті порівняно з групою щурів з пародонтитом на фоні діабету, яким корекцію не проводили. Відомо, що гіперпродукція NO призводить до активації вільнорадикальних реакцій у тканинах та розвитку запального процесу. Тому, очевидно, саме попередженням вироблення надмірної

кількості NO за допомогою аміногуанідину можна пояснити отримані нами дані, що свідчать про достовірне зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації в досліджуваних тканинах. Зокрема, вміст ТБК-АП у плазмі крові щурів, які піддавалися корекції, зменшувався в 1,2 раза, а в пародонті – в 1,3 раза. Введення аміногуанідину позитивно вплинуло також на параметри, що відображали ступінь окисної модифікації білків. Як у плазмі крові, так і в пародонті тварин 4-ї групи рівень альдегідо- та кетоніоїдних нейтрального і кислого характеру був у середньому в 1,4–1,5 раза меншим, ніж такий у щурів 3-ї групи. Очевидно, попередження під впливом аміногуанідину надмірної активації вільнорадикальних процесів запобігало виснаженню системи антиоксидного захисту і було причиною отриманих нами результатів, що свідчать про позитивний ефект інгібітора iNOS на активність СОД, КТ, вміст ЦП та ГSH, а також ЗАА плазми крові щурів з пародонтитом на фоні хронічного гепатиту.

ВИСНОВОК. Інтенсивність окиснювальних процесів при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонта суттєво підвищується за умов супутнього інсулінозалежного цукрового діабету. Селективний інгібітор iNOS аміногуанідин ефективно запобігає гіперактивації вільнорадикальних процесів при пародонтиті на фоні діабету.

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. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
3. Косенко К. Н. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости больных генерализованным пародонтитом разных возрастных групп / К. Н. Косенко, Б. Б. Седлецкая, Т. П. Терешина // Вісн. стоматол. – 2004. – № 4. – С. 27–30.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковинський мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
6. Мороз К. А. Стан пероксидної окисації ліпідів і системи антиоксидантного захисту у хворих на генералізований пародонтит в умовах цукрового виробництва / К. А. Мороз // Експерим. клін. фізіол. біох. – 2004. – № 3. – С. 87–90.
7. Плотникова В. Г. Влияние лизоцимсодержащих препаратов на прооксидантно-антиоксидантный статус крыс при экспериментальном пародонтите / В. Г. Плотникова, О. А. Макаренко // Вісн. стоматол. – 2006. – № 2. – С. 20–25.
8. Сопотницька В. В. Корекція ліпофлавоном порушень окислювальних процесів при пародонтиті / В. В. Сопотницька, М. М. Корда // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 4. – С. 44–48.
9. Фартушна А. М. NO-залежні зміни окиснювального метаболізму у тканинах ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / А. М. Фартушна, В. О. Костенко // Проблеми екології та медицини. – 2012. – 16, № 3–4. – С. 48–51.
10. Чайковська І. В. Роль порушень метаболізму оксиду азоту в патогенезі генералізованого пародонтиту // Арх. клін. експерим. мед. – 2008. – 17, № 2. – С. 226–228.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Щерба В. В. Патогенетичні особливості перебігу пародонтиту на фоні хронічного гепатиту / В. В. Щерба, М. М. Корда // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 2. – С. 64–68.
13. Amano A. Cardiovascular diseases and periodontal diseases / A. Amano, H. Inaba // Clin. Calcium. – 2012. – 22, № 1. – P. 43–48.
14. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridnour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // Anal. Biochem. – 2000. – 281. – P. 223–229.
15. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – 47. – P. 215–222.
16. Banerjee M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes / M. Banerjee, M. Saxena // Clin. Chim. Acta. – 2012. – 16, № 413. – P. 1163–1170.
17. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – 82. – P. 70–77.
18. Herring M. E. Periodontal disease and control of diabetes mellitus / M. E. Herring, S. K. Shah // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2006. – 106, № 7. – P. 416–421.
19. Lipid A-associated proteins from *Porphyromonas gingivalis* stimulate release of nitric oxide by inducing expression of inducible nitric oxide synthase / E. Y. Choi, Y. M. Hwang, J. Y. Lee [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2007. – 42, № 4. – P. 350–360.
20. Nagata T. Relationship between diabetes and periodontal disease / T. Nagata // Clin. Calcium. – 2009. – 19, № 9. – P. 1291–1298.
21. Noack B. Metabolic diseases and periodontitis / B. Noack, S. Fischer // Dtsch. Med. Wochenschr. – 2012. – 137, № 22. – P. 1155–1157.
22. Relationship diabetes mellitus-periodontal disease: etiology and risk factors / L. Foia, V. Toma, D. Ungureanu [et al.] // Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2007. – 111(3). – P. 748–753.
23. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis / N. G. Chavarry, M. V. Vettore, C. Sansone, A. Sheiham // Oral. Health. Prev. Dent. – 2009. – 7(2). – P. 107–127.

Г. Б. Колодницькая, В. М. Коропчук, М. М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ iNOS ПРИ ВОСПАЛЕНИИ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Резюме

Исследовано влияние сахарного диабета 1-го типа на течение липополисахаридного воспаления тканей пародонта у крыс. Липополисахаридный пародонтит сопровождался активацией iNOS (в крови и ткани

пародонта возрастало содержание NO_x) и окислительных процессов (увеличивался уровень ТБК-активных продуктов и окислительно-модифицированных белков, подавлялась антиоксидантная система). У крыс, у которых воспаление пародонта моделировали на фоне стрептозотоцинового сахарного диабета, окислительные процессы были значительно более выражены, чем у животных без диабета. Применение селективного ингибитора iNOS амингуанидина достоверно предупреждало явления оксидативного и нитрооксидативного стресса у животных с пародонтитом на фоне диабета.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, диабет, окислительные процессы, амингуанидин.

H. B. Kolodnytska, V. M. Koropchuk, M. M. Korda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PATHOGENETIC GROUNDING OF iNOS INHIBITION EXPEDIENCY IN THE INFLAMMATION OF PARODONTAL TISSUES ON THE BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS

Summary

The effect of 1 type diabetes mellitus on the course of lipopolysaccharide inflammation of parodontal tissues in rats was studied. Lipopolysaccharide parodontitis was accompanied by activation of iNOS (the NO_x level in blood and parodontal tissue was increased) and oxidative processes (levels of TBA-active products and oxidative modified proteins were increased, antioxidant system was suppressed). In rats with parodontal inflammation modeled on the background of streptozotocin induced diabetes oxidative processes were more significantly pronounced than in animals without diabetes. The use of selective inhibitor of iNOS aminoguanidine markedly prevented the oxidative and nitrooxidative stress in animals with parodontitis on the background of diabetes mellitus.

KEY WORDS: parodontitis, diabetes mellitus oxidative processes, aminoguanidine.

Отримано 05.12.12

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

МОДУЛЮВАННЯ АКТИВНОСТІ NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ У ШЛУНКУ ЗА УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

В експериментах на 36 щурах-самцях із стрептозотоциніндукованою гіперглікемією показано зниження активності cNOS, зростання активності iNOS та вмісту нітрит-аніона, а також підвищення рівня оксидативних процесів у слизовій і м'язовій оболонках шлунка, що порушує секреторну та моторно-евакуаторну функції шлунка. Двотижнєве введення L-аргініну і блокування рівня активності iNOS аміногуанідином моделюють активність NO-ергічної системи та процеси ліпопероксидації у шлунку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **NO-ергічна система, процеси ліпопероксидації, гіперглікемія, шлунок.**

ВСТУП. Відомо, що фізіологічна роль NO-ергічної системи в органах травної системи пов'язана з регуляцією численних локальних тканинних процесів, таких, як секреція, нейротрансмісія, моторика, всмоктування, регуляція стану локальної мікрогемодинаміки [9, 21]. Характер дії нітрогену оксиду (NO), який безпосередньо бере участь у регуляторних процесах, залежить від активності NO-синтази. У слизовій оболонці шлунка NO бере участь у регуляції секреції шлункових залоз, кровотоку, моторики, підтриманні структури та функції слизового бар'єру, процесах міжклітинної інтеграції, передачі інформації у неадренергічних нехолінергічних нейронах [23]. Нітрогену оксид є одним з основних чинників, що регулюють моторику гладких м'язів органів травлення. Гіперглікемія викликає розслаблення гладких м'язів, знижує їх тонус, що призводить до зменшення амплітуди і тривалості м'язових скорочень шлунка, тиску в гастроезофагальному сфінктері [10, 18], а також спричиняє ендотеліальну дисфункцію [12]. NO-ергічна система безпосередньо бере участь у розвитку порушень моторики органів травлення [2, 15].

На сьогодні недостатньо вивченими є зміни NO-ергічної системи у слизовій (СОШ) та м'язовій оболонках шлунка (МОШ), що і зумовило визначення активності NO-синтаз, вмісту нітрит-аніона та процесів ліпопероксидації у шлунку як за умов норми, так і при модулюванні активності NO-синтаз за стрептозотоциніндукованою гіперглікемією.

© О. І. Децик, О. Я. Склярів, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 36 білих щурах масою 150–170 г, яких поділили на чотири групи: 1-ша – контрольна, тваринам протягом двох тижнів перорально вводили фізіологічний розчин; 2-га – тварини, яким одноразово вводили стрептозотин у дозі 60 мг/кг інтраперитонеально (концентрація глюкози у крові становила понад 16 ммоль/л); 3-тя – тварини, яким на тлі гіперглікемії протягом 14 днів щоденно перорально вводили L-аргінін у дозі 300 мг/кг; 4-та – тварини, яким на тлі гіперглікемії щоденно протягом 14 днів вводили блокатор iNOS аміногуанідин у дозі 20 мг/кг внутрішньочеревно.

Декапітацію тварин проводили під уретановим знеболюванням. У гомогенатах слизової та м'язової оболонок шлунка визначали: активність NO-синтаз [6], вміст ТБК-активних продуктів [7], активність ензимів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (СОД) [8] і каталази [4], вміст нітрит-аніона за допомогою реактиву Гріса [14].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням прикладної програми "Statistica". Статистично достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$. Дослідження було виконано згідно з правилами, передбаченими Європейською комісією по нагляду за проведенням лабораторних дослідів за участю експериментальних тварин.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У контрольних тварин як у слизовій, так і в м'язовій обо-

лонках шлунка активність конститутивної NO-синтази (сNOS) була вищою, ніж активність індукбельної NO-синтази (іNOS), що відповідає даним літератури [5]. Вміст нітрит-аніона між СОШ та МОШ достовірно не відрізнявся (табл. 1). Перебіг процесів ліпопероксидації та активність каталази у СОШ були вищими порівняно з МОШ, тоді як рівень активності СОД не відрізнявся (табл. 2).

За умов гіперглікемії активність сNOS у СОШ зменшилась на 50 % (p<0,05), тоді як у МОШ вона виражено не змінювалась. Активність іNOS у СОШ при гіперглікемії підвищилась на 87 % (p<0,05), у МОШ – у 2,3 раза

(p<0,01). Вміст нітрит-аніона в СОШ збільшився на 22 % (p<0,05), у МОШ – мав тенденцію до зростання.

Гіперглікемія призводила до посилення процесів ліпопероксидації – найбільш виражено зростав вміст ТБК-активних продуктів (ТБК) у СОШ на 22 % p<0,05), у МОШ – на 17 % (p<0,05). Паралельно підвищувалась активність СОД – на 65 % (p<0,05) у слизовій оболонці шлунка та на 23 % у м'язовій.

Отже, отримані результати свідчать про те, що за умов гіперглікемії у слизовій та м'язовій оболонках шлунка знижується активність сNOS, зростають активність іNOS і вміст нітрит-

Таблиця 1 – Вміст нітрит-аніона та активність NO-синтаз у слизовій і м'язовій оболонках шлунка за умов стрептозотоніндукованої гіперглікемії та при модулюванні рівня активності NO-синтаз

Дослідна група	Кт ь № у 1 агп (n=2 д)	Кт ь № у 1 агп (n=2 д)	Кт ь № у 1 агп (n=2 д)	к л с і е м у л у № 1 С1 агп (г д)
Д г і з а = д в а г а у С д г О у С д				
ауесагпд	№748. №09д	№6. 8. №0рд	№9. 8. №0рд	±4№р8±№д
<=> сиуидд)бос)г)б1)л/ д	№06л. №7д	№0>8. №49Сд	№>48. №7Сд	0±№8±№рСд
Н=оноууі д)м с)лулуОу- дег д)бос)г)б1)л д	№р±8. №4д	№468. №рд	№478. №74д	±>№48±№д
З)лв С= ууі д)к т ь д у- дег л)бос)г)б1)л д	№A68. №77д	№9±8. №07д	№ A8. №A4д	0±8±№>д
% і з а = д в а г а у С д г О у С д				
ауесагпд	№8. №9д	№48. №рд	№68. №9д	±9№8±№д
<=> сиуидд)бос)г)б1)л/ д	№р8. №94д	№>8. №9рд	№48. №9>Сд	±>№8±д
Н=оноууі д)м с)лулуОу- дег д)бос)г)б1)л д	№±8. №рд	№р8. №A7д	№68. №>д	0. №80№д
З)лв С= ууі д)к т ь д у- дег л)бос)г)б1)л д	№A8. №>д	№>8. №A4д	№78. №0рд	±>№8±№рд

Примітка. * – p<0,05 порівняно з показниками контрольної групи тварин.

Таблиця 2 – Вміст ТБК та активність СОД і каталази у м'язових оболонках шлунка та товстої кишки за умов стрептозотоніндукованої гіперглікемії і при модулюванні рівня активності NO-синтаз

Дослідна група	Кт ь № (1 агп n=2 д) (2 Е ку л 2 н д е и № 1 (1 агп д м Д К н д К С = в л (в д	Кт ь № (1 агп n=2 д) (2 Е ку л 2 н д е и № 1 (1 агп д м Д К н д К С = в л (в д	Кт ь № (1 агп n=2 д) (2 Е ку л 2 н д е и № 1 (1 агп д м Д К н д К С = в л (в д
Д г Е ц а к в д з а г а у (в д г . у (в д			
ауесагпд	6748±№0д	74№87№рд	<№4<8<№99д
КквсЕуЕдд)бос)л)о1)л/ д	600№870№>д	978S№>д	<№118<№9д
Пконоууі д)з с=лу. дувд)г д)бос)л)о1)л д	696№87<№#д	67№86№#д	<№6S8<№66д
т га (. к вууі д)й Ф дувд)г д)бос)л)о1)л д	6S4№86р№#д	6<№87№6#д	<№908<№7рд
М' і ц а к в д з а г а у (в д г . у (в д			
ауесагпд	76Н8Н№д	74№87№6д	<№778<№<0д
КквсЕуЕдд)бос)л)о1)л/ д	7р<№877№#д	69№89№рд	<№S98<№<0д
Пконоууі д)з с=лу. дувд)г д)бос)л)о1)л д	76Н84№р#д	67№87№д	<№908<№7д
т га (. к вууі д)й Ф дувд)г д)бос)л)о1)л д	77Н8±№#д	66№87№9д	<№6Н8<№<±д

Примітки:

- * – p<0,05 порівняно з показниками контрольної групи тварин.
- # – p<0,05 порівняно з показниками гіперглікемії.

аніона, а також підвищуються рівень оксидативних процесів та активність супероксиддисмутази (СОД).

Відомо, що при гіперглікемії значно зростає експресія іNOS під впливом цитокінів IL-1, IFN- γ , TNF- β та різко підвищується продукція нітрогену оксиду, взаємодія якого з $O_2^{\cdot -}$ призводить до утворення високотоксичної сполуки – пероксинітриту [16]. Останній викликає пошкодження ДНК, нітрозилує білки, спричиняє порушення процесів поділу та енергозабезпечення клітини, окиснює кофактор BH_4 eNOS до неактивного BH_2 [3, 19].

Гіперглікемія викликає зниження секреції залоз шлунка [11] та рівня кровотоку в його слизовій оболонці [13].

Зростання рівня активності іNOS, вмісту нітрит-аніона та процесів ліпопероксидації є одним із ключових механізмів розслаблення гладких м'язів у шлунку і виникнення антральної гіпокінезії або гастроаритмії, що призводить до порушень моторно-евакуаторної функції шлунка. Так, у хворих на цукровий діабет 1-го типу зменшувались моторика і тиск в антральному відділі шлунка, зростав час евакуації з шлунка у дванадцятипалу кишку, затримка випорожнення шлунка спостерігалась у 27–58 % хворих [20, 22].

Двотижневе введення прекурсора для NO-синтаз L-аргініну на тлі гіперглікемії у СОШ викликало тенденцію до зниження активності NO-синтаз, вмісту нітрит-аніона, тоді як у МОШ достовірних змін не було.

Слід відзначити, що вміст ТБК у СОШ та МОШ зменшився на 13 і 14 % ($p < 0,05$) відповідно. Також відмічено зменшення рівня активності СОД, переважно у СОШ, – на 30 % ($p < 0,05$). Активність каталази змінювалась недостовірно.

Отже, отримані результати свідчать про те, що двотижневе введення L-аргініну на тлі гіперглікемії у цілому не викликало виражених змін NO-ергічної системи у слизовій та м'язовій оболонках шлунка. При цьому проявилась антиоксидантна дія L-аргініну – зменшувався вміст продуктів ТБК у слизовій та м'язовій оболонках шлунка.

Моделювання активності NO-ергічної системи у слизовій та м'язовій оболонках шлунка шляхом двотижневого блокування рівня активності іNOS аміногуанідином викликало у СОШ зменшення активності іNOS на 49 %

($p < 0,05$) та зростання активності cNOS на 66 %. У МОШ було відзначено тенденцію до зниження активності іNOS на 35 % ($p > 0,05$).

Процеси ліпопероксидації за умов блокування активності іNOS у СОШ мали тенденцію до зменшення. Рівень активності СОД у СОШ знижувався на 35 % ($p < 0,05$); у МОШ вміст ТБК знизився на 21 % ($p < 0,05$), активність СОД і каталази змінювалась недостовірно.

Таким чином, двотижневе блокування рівня активності іNOS аміногуанідином на тлі гіперглікемії викликало тенденцію до зниження рівня активності іNOS у СОШ та МОШ, зміни вмісту нітрит-аніона були недостовірними. Антиоксидантні процеси більшою мірою знижувались у МОШ.

Антиоксидантна дія аміногуанідину пов'язана зі зниженням продукції трансформуючого фактора росту β_1 , фактора росту тромбоцитів, гальмуванням посттрансляційного нітрозилування білків пероксинітритом, нормалізацією рівноваги між оксидативними процесами та антиоксидантною системою, інгібуванням неферментативного глікозилювання [1, 17].

Отже, двотижневе введення прекурсора NO-синтаз L-аргініну або селективного блоатора іNOS аміногуанідину моделює активність NO-ергічної системи і процесів ліпопероксидації за умов стрептозотоциніндукованої гіперглікемії, що може впливати на секреторну та моторно-евакуаторну функції шлунка.

ВИСНОВКИ. 1. Гіперглікемія викликає у слизовій та м'язовій оболонках шлунка зниження активності cNOS, зростання активності іNOS і вмісту нітрит-аніона, а також підвищення рівня оксидативних процесів, що є одним із факторів порушення секреторної та моторно-евакуаторної функцій шлунка.

2. Двотижневе введення L-аргініну на тлі гіперглікемії не спричиняє виражених змін NO-ергічної системи у слизовій та м'язовій оболонках шлунка. При цьому проявляється антиоксидантна дія L-аргініну – зменшується вміст продуктів ТБК у шлунку.

3. Двотижневе блокування рівня активності іNOS аміногуанідином на тлі стрептозотоциніндукованої гіперглікемії викликає тенденцію до зниження рівня активності іNOS у слизовій та м'язовій оболонках шлунка, при цьому антиоксидантні процеси більшою мірою знижуються у м'язовій оболонці шлунка.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бродик І. В. Вплив аміногуанідину на активність NO-синтази в лейкоцитах периферичної крові за умов стрептозотоцинового діабету в щурів / І. В. Бродик, Н. О. Сибірна // Експерим. фізіологія та біохімія. – 2006. – № 3. – С. 45–49.
2. Децик О. І. Роль NO-синтазної системи у регуляції моторної функції органів травлення за фізіологічних умов та при цукровому діабеті I типу / О. І. Децик, О. Я. Склярів, І. С. Фоменко // Практ. медицина. – 2010. – **26**, № 5. – С. 128–133.
3. Ивашкин В. Т. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 4. – С. 16–21.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Насадюк Х. М. Вплив коротколанцюгового пептиду аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну на активність NO-синтазної системи та процеси ліпопероксидації при експериментальній виразці шлунка / Х. М. Насадюк, О. Я. Склярів // Клін. та експерим. фізіологія та біохімія. – 2010. – **49**, № 1. – С. 35–41.
6. 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.
7. 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.
8. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
9. Cirino G. Nitric oxide releasing drugs: from bench to bedside / G. Cirino // Dig. Liver Dis. – 2003. – **35** (suppl. 2). – P. 2–8.
10. Characterization of myenteric neuropathy in the jejunum of spontaneously diabetic BB-rats / M. Zandecki, P. Vanden Berghe, I. Depoortere [et al.] // Neurogastroenterol. Motil. – 2008. – **20**, № 7. – P. 818–828.
11. Effects of streptozotocin-induced long-term diabetes on parietal cell function and morphology in rats / S. M. Bastaki, E. Adeghate, I. S. Chandranath [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 2010. – **341**, № 1–2. – P. 43–50.
12. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus / I. Van den Oever, H. G. Rafterman, M. T. Nurmohamed [et al.] // Mediators of Inflammation. – 2010. – **2010**. – Published online 2010, 10.1155/2010/792393.
13. Epalrestat prevents the decrease in gastric mucosal blood flow and protects the gastric mucosa in streptozotocin diabetic rats / H. Suzuki, T. Shimosegawa, S. Ohara [et al.] // J. Gastroenterol. – 1999. – **34**, № 2. – P. 172–177.
14. 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.
15. Immunohistochemical analysis of neuron types in the mouse small intestine / Z. D. Qu, M. Thacker, P. Baqyanszki [et al.] // Cell Tissue Res. – 2008. – **334**, № 2. – P. 147–161.
16. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and 2 diabetes: many differences few similarities / M. Cnop, N. Welsh, J. C. Jonas [et al.] // Diabetes. – 2005. – **64**, № 2. – P. 97–107.
17. Nitric oxide synthase inhibition by L-NAME in streptozotocin induced diabetic rats: impacts on oxidative stress / A. Seven, S. Guzel, O. Seymen [et al.] // Tohoku J. Exp. Med. – 2003. – **199**, № 4. – P. 205–210.
18. Regional differences in the manifestation of gastrointestinal motor disorders in type 1 diabetic patients with autonomic neuropathy / A. Roszczocy, R. Roka, T. T. Varkonyi [et al.] // Z. Gastroenterol. – 2004. – **42**, № 11. – S. 1295–1300.
19. Role of cyclooxygenase-2 in cytokine-induced beta-cell dysfunction and damage by isolated rat and human islets / M. R. Heitmeier, C. B. Kelly, N. J. Ensor [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – **279**, № 51. – P. 53145–53151.
20. Samson M. Gastrointestinal motor mechanisms in hyperglycaemia induced delayed gastric emptying in type I diabetes mellitus / M. Samson, L. M., Akkermans, R. J. Jebbink [et al.] // Gut. – 1997. – **49**, № 5. – P. 641–646.
21. Sharma J. Role of nitric oxide in inflammatory diseases / J. Sharma, A. Al-Omran, S. S. Parvathy // Inflammopharmacology. – 2007. – **15**. – P. 252–259.
22. Smith D. S. Current concepts in diabetic gastroparesis / D. S. Smith, C. D. Ferris // Drugs. – 2003. – **63**, № 13. – P. 1339–1358.
23. 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.

МОДЕЛИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ЖЕЛУДКЕ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

Резюме

В экспериментах на 36 крысах-самцах с стрептозотоциндуцированной гипергликемией показано снижение активности cNOS, возрастание активности iNOS и содержания нитрит-аниона, а также повышение уровня оксидативных процессов в слизистой и мышечной оболочках желудка, что нарушает секреторную и моторно-эвакуаторную функции желудка. Двухнедельное введение L-аргинина и блокирование уровня активности iNOS аминоксидом моделируют активность NO-эргической системы и процессы липопероксидации в желудке.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **NO-эргическая система, процессы липопероксидации, гипергликемия, желудок.**

O. I. Detsyk, O. Ya. Sklyarov
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

MODULATION OF NO-ERGIC SYSTEM ACTIVITY IN STOMACH UNDER THE CONDITIONS OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED HYPERGLYCAEMIA

Summary

In experiments on 36 male rats with streptozotocin-induced hyperglycaemia the decrease of cNOS activity and increase of iNOS and nitrite-anion content were revealed as well as the increase of the oxidative processes level in mucosal and muscular layers of the stomach. Two-weeks administration of L-arginine on the background of hyperglycaemia did not cause any significant changes of NO-ergic system, whereas lipoperoxidation processes level in mucosal and muscular layers of the stomach decreased.

KEY WORDS: **NO-ergic system, lipoperoxidation processes, hyperglycaemia, stomach.**

Отримано 19.12.12

Адреса для листування: О. Я. Скляр, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна, e-mail: sklyarov@meduniv.lviv.ua.

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН ВНУТРІШНЬОЧАСТОЧКОВИХ ПРОТОК ТА АРТЕРІЙ ПРИВУШНОЇ СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ МЕХАНІЧНІЙ ЖОВТЯНИЦІ

У статті наведено дані щодо морфологічних і морфометричних змін внутрішньочасточкових проток та артерій привушної слинної залози при механічній жовтяниці. Встановлено, що при тривалій холемії настають атрофічні зміни у стінках вставних та посмугованих проток привушної слинної залози, які проявляються розвитком фіброзу, збільшенням діаметра внутрішнього просвіту проток та зменшенням площі їх стінок. Структурні порушення, які розвиваються в артеріях резистивного типу, спрямовані на збільшення опірності кровотоку та погіршення кровопостачання органа в цілому.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: механічна жовтяниця, вставні протоки, посмуговані протоки, артерії.

ВСТУП. Екзокринна функція у слинних залозах безпосередньо залежить від поєднання секреторної здатності епітеліоцитів та органного кровобігу. Слинні залози є виразно чутливими до впливу різноманітних зовнішніх та внутрішніх чинників. Різного характеру реактивні зміни слинних залоз супроводжують захворювання багатьох внутрішніх органів [1, 2]. Вони проявляються функціональними розладами з різними структурними порушеннями [7, 8]. Дисфункцію слинних залоз викликають захворювання травної системи [2, 13], хвороби ендокринних органів, статевих залоз [5]. У ході досліджень останніх років встановлено взаємозв'язки впливу центральної нервової системи та жовчних шляхів на функціональний стан слинних залоз [7].

Серед захворювань печінки та жовчних шляхів досить високі показники захворюваності та поширеності належать різного виду жовтяницям. Холедохолітаз та пов'язаний з ним обтураційний холестаза є досить частими і водночас недостатньо вивченими захворюваннями з позицій їх впливу на стан інших органів та систем [6].

Завдяки складній нейрогуморальній регуляції система жовчовиділення функціонально взаємопов'язана з усіма органами та системами травного тракту [3, 9]. Зміни в ній прямо або опосередковано впливають на функцію не тільки печінки, підшлункової залози, а й великих слинних залоз. Відомо, що при меха-

нічній жовтяниці настають судинні розлади, що характеризуються вираженими порушеннями кровообігу, проникності судинної стінки, що в комплексі з гідрофільними реакціями призводять до утворення периваскулярних лімфоїдно-клітинних інфільтратів, наслідком яких є дегенеративно-дистрофічні й некротичні зміни тканин вогнищового типу, запальні реакції з розвитком продуктивних інтерстиціальних процесів [10–12].

Крім цього, при механічній жовтяниці та холемії порушуються процеси вільнорадикального окиснення, настає антиоксидантний голод, що є однією зі складових механізму пошкодження і має відображення у проліферативній активності епітеліоцитів слизових оболонок та вивідних проток [4].

Привушна слинна залоза забезпечує змішану слину в основному білковим секретом. Її функція є визначальною у загальних властивостях ротової рідини. Крім цього, привушна слинна залоза має тісні нейрогуморальні взаємозв'язки з багатьма органами і системами, в тому числі печінкою та жовчними шляхами [7]. Явище ксеростомії, яке супроводжує обтураційний холестаза, потребує не тільки клінічного визначення, але і встановлення чітких біохімічних та морфологічних механізмів.

На сьогодні майже відсутні наукові дослідження, де б комплексно вивчали секреторні, видільні відділи привушної слинної залози при механічній жовтяниці різної тривалості та на всіх рівнях її структурної організації.

Потребують вивчення особливості кровопостачання привушної слинної залози при різній тривалості механічної жовтяниці.

Метою даного дослідження було визначити морфологічні паралелі ремоделювання внутрішньочасточкових проток та артерій резистивного типу привушної слинної залози при різних термінах експериментальної механічної жовтяниці.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проведено на 62 білих щурах-самцях. Контрольну групу склали 12 інтактних тварин. Механічну жовтяницю моделювали шляхом перев'язування та перерізання між двома лігатурами спільної жовчної протоки. Дослідження привушної залози проводили на 3, 7, 14, 28-му доби експериментальної механічної жовтяниці. Евтаназію щурів здійснювали шляхом введення великих доз 10 % розчину тіопенталу натрію. Кількісний вміст білірубину в плазмі крові визначали за загальноприйнятими біохімічними методиками [9]. Для виконання морфологічних та морфометричних досліджень привушну слинну залозу вирізали та фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну і після проведення через етилові спирти зростаючих концентрацій поміщали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилином і еозином, за ван Гізон, за Вейгертом. Проводили гістологічне та морфометричне дослідження внутрішньочасточкових проток та артерій резистивного типу привушної слинної залози. При дослідженні вставних та посмугованих проток визначали їх діаметр, площу стінки, а також площу просвіту. До артерій резистивного типу належали судини із зовнішнім діаметром 26–50 мкм [10], визначали зовнішній та внутрішній діаметр судин, товщину медії, індекс Вогенворта (відношення площі стінки до її просвіту), діаметр ядер ендотеліоцитів, ядерно-цитоплазматичні відношення та відносний об'єм пошкодження ендотеліоцитів.

Проводили статистичну обробку отриманих цифрових величин. Достовірність різниці між порівнюваними морфометричними показниками визначали за критерієм Стьюдента. Статистично значимими відмінності вважали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На 3-тю добу змодельованої обтураційної жовтяниці спостерігали підвищення рівня загального білірубину в плазмі крові експериментальних тварин до $(87,05 \pm 1,24)$ мкмоль/л. При цьому показники прямого білірубину становили $(53,21 \pm 1,05)$ мкмоль/л, а непрямого –

$(33,89 \pm 0,76)$ мкмоль/л. Високий рівень холестерину та пов'язана з ним зміна реологічних властивостей крові ініціювали реактивні зміни у привушній слинній залозі. При гістологічному дослідженні останньої на 3-тю добу механічної жовтяниці встановлено наявність розвитку набряку міжацинарної та міжчасточкової сполучної тканини. Гідрофільні процеси також виникали у навколосудинних просторах і тканинах навколопротокових ділянок. У стромальних відділах виявляли підвищену кількість лімфоцитів, а також лейкоцитів. В ацинарному відділі спостерігали базофілію та набряк сероцитів. Ядра гландулоцитів розміщувалися переважно в базальних частинах клітин і мали підвищену оптичну щільність. Міжклітинні щілини добре візуалізувалися, мали нерівний хід за рахунок дрібних розширень протягом усієї довжини, іноді аж до базальної мембрани. У деяких випадках визначалися цистерноподібні розширення міжклітинних щілин, які сполучалися з просвітами кінцевих відділів.

Посилення гідрофільних та ліофільних процесів призводило до зміни морфометричних характеристик стінок внутрішньочасточкових проток. При цьому встановлено, що діаметр внутрішньочасточкових вставних і посмугованих проток збільшувався (табл. 1). Його величини з високим ступенем значущості переважали контрольні величини ($p < 0,001$). Паралельно зростала також площа перерізу стінок внутрішньочасточкових проток. Величина даного параметра збільшувалася до $(221,67 \pm 3,52)$ мкм² і достовірно ($p < 0,001$) переважала аналогічну контрольну $((188,32 \pm 2,47)$ мкм²) на 17,71 %. Площа перерізу стінки посмугованих проток становила $(274,62 \pm 3,58)$ мкм² і на 13,69 % з високим рівнем значущості була більшою від контролю ($p < 0,001$).

Тижнева тривалість механічної жовтяниці супроводжувалася підвищенням рівня загального білірубину до $(182,23 \pm 2,59)$ мкмоль/л. Наростання холестеринних процесів призводило до розвитку більш виражених морфологічних змін у привушній слинній залозі. У між- та внутрішньочасточковій тканинах визначалися інфільтрація різними видами клітин та ознаки підвищеної гідратації. Зменшувалася оптична щільність, розширювалися міжацинарні щілини та вузлові інтерстиціальні відсіки, збільшувалася об'єм аморфної речовини. Серед клітин інфільтратів визначалися лімфоцити, лейкоцити, а також гістіоцити. У системі внутрішньочасточкових проток продовжував збільшуватися діаметр. Загальний діаметр внутрішньочасточкових проток у вставних відділах сягав $(18,04 \pm 0,14)$ мкм ($p < 0,001$), а в посмугованих

Таблиця 1 – Морфометрична характеристика стінки внутрішньочасточкових проток привушної слинної залози в динаміці експериментальної механічної жовтяниці ($M \pm m$, $n=12$)

Тривалість механічної жовтяниці	Діаметр внутрішньочасточкових проток, мкм		Площа перерізу стінки внутрішньочасточкових проток, мкм ²	
	ВВП	ПВП	ВВП	ПВП
Контроль	16,58±0,19	19,82±0,16	188,32±2,47	241,39±2,04
3-тя доба	17,87±0,10***	21,04±0,14***	221,67±3,52***	274,62±3,58***
7-ма доба	18,04±0,14***	21,12±0,17***	223,35±3,36***	227,86±1,21***
14-та доба	18,22±0,12***	22,38±0,24***	161,41±1,85***	215,02±2,73***
28-ма доба	18,99±0,15***	22,85±0,21***	159,02±2,18***	204,46±2,98***

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольними величинами, отриманими в інтактних тварин.

відділах – (21,12±0,17) мкм ($p < 0,001$). При цьому площа стінки вставних проток динамічно збільшувалась, а в посмугованих відділах спостерігали її зменшення. Неоднаправлені процеси вказаного параметра у різних відділах проток на даний термін експерименту визначалися різним їх функціональним станом та щільністю і площею самих епітеліоцитів.

При двотижневій механічній жовтяниці внаслідок порушення секреторної здатності печінки рівень загального білірубину незначно знижувався до (176,35±1,79) мкмоль/л. Гістологічно у привушній слинній залозі виявляли ознаки зміни форми ацинусів. Кінцеві відділи мали форму від округлої до бобоподібнозміненої. Міжацинарні щілини розширювалися. Навколо міжчасточкових проток визначалася велика кількість лімфоцитів, лейкоцитів та гістіоцитів. У розширених навколосудинних просторах також збільшувалася клітинна інфільтрація. В інтерстиції, що оточував посмуговані протоки, виявляли макрофаги, тканинні базофіли і плазмоцити. Навколо посмугованих проток плазматичні клітини утворювали групи, які щільно заповнювали простір між мікросудинами і залозистими структурами. Окрім перипротокової локалізації, виявляли групи плазмоцитів у периферичних відділах часточок навколо кінцевих відділів. Діаметр вставних внутрішньочасточкових проток збільшувався до (18,22±0,12) мкм при контролі (16,58±0,19) мкм з високим рівнем достовірної різниці ($p < 0,001$). Діаметр посмугованих внутрішньочасточкових проток становив (22,38±0,24) мкм. При цьому він переважав контрольні величини ((19,82±0,16) мкм) на 12,92 % і мав з ними достовірну різницю високого рівня значущості ($p < 0,001$). Епітеліоцити внутрішньочасточкових проток були дистрофічно зміненими. Міжклітинні щілини розширювалися.

Якщо у попередніх експериментальних групах спостерігали збільшення площі протокових стінок за рахунок зміни параметрів, як самих

епітеліоцитів, так і набряково-інфільтраційних процесів, то в даний термін експерименту мало місце зменшення площі поперечного перерізу стінки вставних внутрішньочасточкових проток до (161,41±1,85) мкм². Дана величина була нижчою від контрольних даних на 16,77 % з достовірною різницею ($p < 0,001$). Динаміка зменшення цього параметра, порівняно з тваринами з тижневим обтураційним холестазом, становила 38,51 %. У посмугованих внутрішньочасточкових протоках площа поперечного перерізу складала (215,02±2,73) мкм², що на 5,58 % було менше від попереднього терміну експерименту та на 12,09 % від такої у тварин контрольної групи ($p < 0,001$).

При місячній обтураційній жовтяниці рівень білірубину в плазмі крові залишався високим і достовірно не відрізнявся від аналогічного показника при двотижневому холестазі. У структурі привушної залози, поряд із дистрофічними та деструктивними процесами, виявляли розростання сполучної тканини і фіброзні зміни. При цьому відбувалися розширення міжчасточкових проміжків, кологенація периваскулярних та перидуктальних просторів, інфільтрація стромальних компонентів лімфоцитами, лейкоцитами і плазмоцитами. У самих часточках у багатьох випадках встановлено порушення міжклітинних контактів, форми та розмірів ацинусів.

Серед внутрішньочасточкових проток спостерігали зміни, які характеризувалися атрофічними процесами. Останні проявлялися вираженими дилатаціями просвітів вставних та посмугованих проток і зменшенням об'єму їх стінок. Часто в міжепітеліальних проміжках виявляли лімфоцити. Епітеліальні клітини у вставних відділах зменшувалися у розмірах. Спостерігали вкорочення відростків даних клітин.

У зв'язку з провідною роллю в розвитку патологічних процесів при механічній жовтяниці судинного русла і встановлення взаємо-

зв'язків між морфологічним станом внутрішньочасточкової протокової системи та судинного русла ми вивчали процеси ремоделювання внутрішньоорганних артерій резистивного типу в динаміці різних термінів експериментальної механічної жовтяниці. Результати досліджень свідчать про те, що вже на 3-тю добу обтураційного холестази виявляли ознаки набряку в стінках даних артерій, а також клітин їх внутрішньої оболонки. При цьому товщина медії збільшувалася на 7,01 %, індекс Вогенворта підвищувався на 20,81 %. Внутрішній діаметр зменшувався на 6,62 % (табл. 2). Така структурна перебудова артерій дрібного калібру пов'язана з їх гемодинамічними навантаженнями та високою реактивністю щодо зміни резистивних властивостей. Також спостерігали реакції ендотеліального шару. Висота їх ендотеліоцитів достовірно ($p < 0,05$) переважала контрольні величини, а відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів збільшувався у 2,78 раза ($p < 0,001$).

При тижневій тривалості механічної жовтяниці потовщення середньої оболонки артерій відбувалося за рахунок плазматичного просякнення та гідрофільних реакцій. Збільшення функціонального тону м'язового шару та набрякові процеси призводили до більш вираженого зменшення внутрішнього діаметра і зростання резистивних властивостей. Так, у досліджуваних судинах внутрішній діаметр був меншим від контрольних величин на 15,18 % ($p < 0,001$). Товщина середньої оболонки артерій середнього калібру збільшувалася, порівняно з попереднім терміном механічної жовтяниці, на 18,29 %, а індекс Вогенворта

підвищувався, відповідно, на 35,29 %. Зростали всі морфометричні параметри ендотеліоцитів. При цьому високими були показники відносного об'єму пошкоджених ендотеліоцитів. Орієнтовані відповідно до довжини ендотеліальні клітини часто змінювали веретеноподібну форму на овальну чи зигзагоподібну і виступали в просвіт.

Двотижнева механічна жовтяниця поглиблювала дистрофічні зміни у стінках кровонесних судин. Виявляли не тільки набряк гладком'язових клітин, плазматичне просякнення судинної стінки, але і гіпертрофію її та інфільтрацію полінуклеарами і лімфоцитами, розширення за рахунок набряку паравазальних просторів. Часто зустрічалися дрібні артерії замикаючого типу. Зміна просвіту артерій призводила до створення нових умов кровообігу та кровозабезпечення ацинусів і визначала їх низьку судинну спроможність. Особливо вираженими були зміни у дрібних артеріальних порядках, які утворювали кінцеві гілки галуження. Внаслідок таких процесів ремоделювання артерій відбувалися збільшення зовнішнього діаметра та зменшення внутрішнього просвіту у 1,29 раза ($p < 0,001$). Товщина медії становила $(12,01 \pm 0,14)$ мкм (при контролі $(8,43 \pm 0,11)$ мкм). Ємність артеріального русла зменшувалася також за рахунок зростання висоти клітин ендотеліальної вистілки, яка була більшою від контролю в 1,17 раза. Загальна площа ендотеліальних клітин зростала за рахунок збільшення об'ємів їх ядер.

Ремоделювання артеріального русла привушної слинної залози при місячній тривалості механічної жовтяниці характеризувалося до-

Таблиця 2 – Морфометрична характеристика внутрішньоорганних артерій дрібного калібру привушної слинної залози щурів у різні терміни експериментального моделювання механічної жовтяниці ($M \pm m$, $n=12$)

н Ов х 5 Внаруі п дара М ± орп	к Оррр 0 ип	Група жовт M ± m, рхр 0, гб 0 поспрут хп			
		бгт 0зуп	цт хп	еег хп	кОт хп
К0прх> рх гт хМ ± орп М6Мн	бмвсэльзЭОп	бмвсэльзЭеп	єьЭемльЗСДп	єєЗобльЗТДп	єєЗСльЗМДп
БрВорх> рх гт хМ ± орп М6Мн	юсцТльЗомп	юсцТльЗемДп	емцТльЗсеДп	ецЗмльЗоДп	етЗцльЗемДп
Г0пЛ урар М ± г х3М6Мн	СЭбльЗеп	мЗюльЗьДп	єьЗцльЗьМДп	єюэльЗьДп	єюТ/льЗьДп
ярг ± 6вг 501 ± рп 0рса38 п	емцЗселюзьп	юсцЗюлбЗцТДп	бюсцэлеЗсДп	єемЗьлцЗьбДп	/єєЗобльЗьДп
Бувоап ± рг 0с ± хТуох3 М6Мн	ТЗСльЗьеп	ТЗобльЗ/Дп	ТЗцельЗьДп	цЗмльЗьСДп	цЗСльЗьцДп
н хМ ± орпг ± рп ± рг 0с ± хТуох3М6Мн	бЗюльЗьп	бЗемльЗ/Дп	бЗьльЗТДп	бЗюльЗьДп	бЗСльЗ/Дп
2г ± рр 09гус0д а7Ма- оу <рхтх р0> ± ррсп ± рг 0с ± хТуохп	ьЗемльЗьТп	ьЗотльЗьОп	ьЗсельЗьєДп	ьЗьцльЗьСДп	ьЗюльЗьєДп
Бх р0врүі г0з4Мн д0 > 60г 5 ± рупп ± рг 0с ± хТуохп38 п	юсСльЗ/п	ТЗельЗь/Дп	єюцльЗьДп	юсМлеЗТДп	бсцТлеЗьМДп

повненням дистрофічних та деструктивних процесів склеротичними явищами. При цьому у стінках кровоносних судин спостерігали лімфоїдну інфільтрацію та розпушення інтими й адвентиції, десквамацію ендотелію. В артеріях резистивного типу мали місце набухання, розшарування і розриви волокон внутрішньої еластичної мембрани. У деяких випадках відзначали грижоподібні випинання в просвіт судин м'язового шару. В паравазальних просторах збільшувалася кількість колагенових волокон. Внаслідок морфологічних змін артеріальних стінок значно порушувалася пропускна здатність артерій. Індекс функціональної спроможності Вогенворта у 2,74 раза переважав контрольні величини, встановлені в інтактних тварин. Великий вплив на зміну умов кровотоку у внутрішньоорганних артеріях привушної слинної залози пов'язаний також

зі станом внутрішніх оболонок артерій, де відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів сягав $(38,76 \pm 1,79) \%$.

ВИСНОВКИ. При механічній жовтяниці настають атрофічні зміни у стінках вставних та посмугованих проток привушної слинної залози, які проявляються розвитком фіброзу, збільшенням діаметра, внутрішнього просвіту проток та зменшенням площі їх стінок. Структурні зміни, які розвиваються в артеріях резистивного типу, спрямовані на збільшення опірності кровотоку та погіршення кровопостачання органа в цілому.

Перспективи подальших досліджень. Важливо в подальшому провести дослідження, спрямовані на розробку коригувальних впливів структурних змін привушної слинної залози, які розвиваються при холемії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.
2. Афанасьев В. В. Роль сопутствующих заболеваний в этиологии хронического сиалоаденита / В. В. Афанасьев, И. Ф. Ромачева // *Стоматология*. – 1995. – № 2. – С. 46–48.
3. Бердников П. П. Сравнительная морфометрическая гистология околоушной слюнной железы жвачных и всеядных / П. П. Бердников, И. А. Чекарова // *Аграр. вестник Урала*. – 2009. – **63**, № 9. – С. 70–71.
4. Болевич С. Б. Особенности течения свободно-радикальных процессов у больных с механической желтухой и методы их коррекции / С. Б. Болевич, В. А. Ступин // *Хирургия*. – 2010. – № 7. – С. 66–70.
5. Єрошенко Г. А. Зміни структури привушної залози щурів після введення адреналіну та ацетилхоліну / Г. А. Єрошенко // *Укр. журн. клін. та лаб. медицини*. – 2008. – **3**, № 4. – С. 39–45.
6. Иванченкова Р. А. Хронические заболевания желчевыводящих путей / Р. А. Иванченкова. – М. : Атмосфера, 2006. – 154 с.
7. Прокоф'єва Т. І. Залежність фізико-хімічних властивостей слини від тону вегетативної нервової системи в умовах фізіологічного спокою та стимуляції слинних залоз / Т. І. Прокоф'єва, Б. Б. Івнев // *Арх. клин. и эксперим. медицины*. – 2008. – **17**, № 1. – С. 20–24.
8. Рибачук А. В. Клініко-морфологічні особливості хронічного сіалоаденіту привушних слинних залоз в різних вікових групах / А. В. Рибачук, Ю. В. Діброва // *Укр. наук.-мед. молодіж. журн.* – 2009. – № 3. – С. 37–41.
9. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчевыводящих путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – М. : ГЭОТАР, 1999. – 465 с.
10. Шорманов С. В. Морфологические изменения коронарных сосудов артерий при экспериментальной коарктации аорты и после ее устранения / С. В. Шорманов // *Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии*. – 1982. – **82**, № 1. – С. 98–102.
11. Halliwell B. Reactive Species and Antioxidants, Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life / B. Halliwell // *Plant Physiol.* – 2006. – **141**, № 2. – P. 312–322.
12. Hsu S. H. The effects of ursodeoxycholic acid in patients with severe obstructive jaundice after drainage procedure / S. H. Hsu // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. – 1997. – **60**, № 3. – P. 142–146.
13. Kucuk C. The effects of dimethylsulfoxide in experimental obstructive jaundice / C. Kucuk, Z. Yilmaz // *Acta. Chir. Belg.* – 2003. – **103**, № 4. – P. 392–395.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРИДОЛЬКОВЫХ ПРОТОКОВ И АРТЕРИЙ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХЕ

Резюме

В статье приведены данные относительно морфологических и морфометрических изменений внутридольковых протоков и артерий околоушной слюнной железы при механической желтухе. Установлено, что при длительной холемии наступают атрофические изменения в стенках вставных и исчерченных протоков околоушной слюнной железы, проявляющиеся развитием фиброза, увеличением диаметра внутреннего просвета протоков и уменьшением площади их стенок. Структурные изменения, которые развиваются в артериях резистивного типа, направлены на увеличение сопротивляемости кровотока и ухудшение кровоснабжения органа в целом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: механическая желтуха, вставные протоки, исчерченные протоки, артерии.

М. О. Levkiv, A. H. Shulhay
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF STRUCTURAL CHANGES OF INTRA-LOBULAR DUCTS AND ARTERIES OF PAROTID GLAND AT OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Summary

The data of morphological and morphometric changes in intra-lobular ducts and arteries of parotid salivary gland during obstructive jaundice were revealed in this article. It was found that during long-term cholemia, an atrophic change occurs in the walls of striated and intercalated ducts of parotid salivary gland, which show the development of fibrosis, increasing of diameters of internal lumen of ducts and reduction of their walls square. Structural changes that occur in arteries of resistive type are aimed at increasing of resistance to blood flow and deterioration of organ blood supply as a whole.

KEY WORDS: jaundice, intercalary ducts, striated ducts, arteries.

Отримано 06.12.12

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

ЗМІНА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УРАЖЕННІ ОРГАНІЗМУ АЛЮМІНІО ХЛОРИДОМ

За умов експериментального ураження тонкої кишки алюмінію хлоридом проведено імунологічні, морфологічні та морфометричні дослідження, які вказують на існування кореляції між циркулюючими імунними комплексами, імуноглобулінами класів А, М, G і показниками кута галуження судин порожньої та клубової кишок на 1-шу, 4-ту, 7-му та 14-ту доби після отруєння. Кількісним підтвердженням токсичної дії хлориду алюмінію є структурна перебудова артерій, потовщення стінки судин і звуження їх просвіту, інфільтративні та деструктивні зміни в оболонках досліджуваних відділів, що вказують на суттєве ураження тонкої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: циркулюючі імунні комплекси, імуноглобуліни, білі щури, алюмінію хлорид, морфологія, тонка кишка.

ВСТУП. Надлишкове надходження алюмінію за умов підвищеного вмісту його оксидів та солей у їжі, питній воді, повітрі, лікарських засобах, дезодорантах негативно впливає на організм людини, викликаючи порушення в системах органів травлення, серцево-судинній, видільній та нервовій [11, 17]. В організм людини алюміній, що зустрічається в природі, рідко потрапляє, але з технічним прогресом спостерігають тенденцію до збільшення впливу даного екзогенного чинника як на здоров'я людини, так і на інші живі організми.

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й автоантигенів, з утворенням циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та наступною їх елімінацією з організму, яка спрямована на підтримку імунобіологічного гомеостазу. Але за певних умов ЦІК можуть фіксуватися в судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах і викликати запальну реакцію [16, 18]. Тому проблемі дослідження ЦІК та імуноглобулінів приділяють значну увагу як одній з важливих ланок патогенезу імунного ураження органів і тканин організму [8, 12]. При цьому роль ЦІК у пошкодженні судинного русла та стінки тонкої кишки до кінця не вивчено. Серед опрацьованих джерел ми не знайшли праць, в яких було б розкрито питання впливу хлориду алюмінію на структурно-морфологічний стан досліджуваного органа та з'ясовано існування кореляційних зв'язків між імуноглобулінами і ЦІК.

© О. М. Ярема, 2013.

Метою даної роботи було дослідити зміни структурно-морфологічного стану порожньої, клубової кишок та їх артерій при експериментальному ураженні хлоридом алюмінію, а також встановити кореляційні зв'язки з концентраціями ЦІК та імуноглобулінів у сироватці крові піддослідних тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Імунологічні, морфологічні та морфометричні дослідження проводили на 77 білих статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували в умовах віварію. Усіх тварин поділили на п'ять груп. Щурів отруювали шляхом внутрішньочеревного введення їм розчину хлориду алюмінію в нашій модифікації [13]. Білих щурів дослідної групи виводили з експерименту на 1-шу, 4-ту, 7-му та 14-ту доби шляхом швидкої декапітації відповідно до Науково-практичних рекомендацій із утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5, 6].

У роботі використано метод кількісного визначення ЦІК шляхом преципітації в розчині поліетиленгліколю-6000 [14]. Принцип методу визначення кількості імуноглобулінів полягав у фракціонуванні білків сироватки крові органічними розчинниками і буферними розчинами [10]. Кількісну оцінку просторової організації артерій порожньої та клубової кишок білих щурів проводили за оригінальною методикою К. А. Шошенко і співавт. [15]. Забір та обробку вирізаних шматочків з порожньої і клубової кишок піддослідних тварин здійснювали відразу після їх евтаназії, яку виконували

шляхом кровопускання в умовах тіопентал-натрієвого наркозу. Також проводили морфометричні виміри порожньої та клубової кишок, при цьому визначали товщину всієї кишкової стінки, слизової з підслизовою основою, м'язової та серозної оболонки, висоту і ширину ворсинок, глибину і ширину крипт, площу ядра і висоту стовпчастих епітеліоцитів ворсинок і крипт, співвідношення епітеліоцитів і келихоподібних клітин, площу келихоподібних клітин та число міжепітеліальних лімфоцитів [1].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів. Достовірність різниці між порівнюваними величинами визначали за допомогою критерію Стьюдента [9], визначали кореляцію в програмному середовищі SPSS 10.0.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Протягом 14-ти діб ми досліджували наявність зв'язку між змінами концентрації в крові імуноглобулінів та ЦІК. Встановлено наявність достовірного ($p < 0,05$) сильного зв'язку (коефіцієнт кореляції $R = 0,963$) між ЦІК та Ig G у сироватці крові. Цей зв'язок, очевидно, пояснюється тим, що імуноглобуліни класу G більшою мірою, ніж інші імуноглобуліни, беруть участь в утворенні ЦІК. Наші припущення також підтверджуються результатами досліджень інших авторів [3, 8].

Високий, але недостатньо достовірний зв'язок виявлено між Ig A і ЦІК ($R = 0,949$). Тісний зв'язок відзначено також між Ig A й Ig M ($R = 0,944$). Дещо слабший зв'язок (середньої сили) встановлено між Ig M і ЦІК ($R = 0,805$) та Ig A й Ig G. Ще слабший зв'язок, але теж середньої сили, виявлено між Ig M і Ig G ($R = 0,676$). Очевидно, в останньому випадку сила зв'язку між цими факторами залежить ще від якихось не вивчених на сьогодні, а тому не врахованих нами при проведенні статистичних досліджень механізмів взаємодії.

В цілому наявність вказаних зв'язків свідчить про те, що всі ці ланки імунної системи тісно між собою пов'язані й стереотипно реагують на присутність солей алюмінію в організмі.

Ми досліджували наявність зв'язку між змінами кутів галужень протягом двох тижнів у артеріях першого, другого та третього порядків. В усіх трьох випадках встановлено наявність достовірної сильної кореляції. Так, коефіцієнт кореляції між змінами кутів галужень у судинах першого та другого порядків склав ($R = 0,996$), другого і третього порядків – ($R = 0,995$), першого та третього порядків – ($R = 0,986$). Для усіх трьох випадків $p < 0,01$. Отримані результати свідчать про те, що зміни

в судинах усіх рівнів відбувалися одночасно й ідентично.

Статистичний аналіз показав, що проліферативні процеси в судинах пов'язані з утворенням ЦІК та Ig G. Наші припущення підтверджуються результатами аналогічних досліджень інших авторів, які вказують на виражені зміни між мембранними порушеннями клітин ендотелію судин і рівнем ЦІК, а отже, на високу залежність між вираженням запальної реакції та аутоімунними процесами в тонкій кишці [2, 7].

Ми встановили порушення виведення ЦІК з організму, що сприяло тривалій їх циркуляції в кров'яному руслі й, відповідно, створювало умови для їх пошкоджувальної дії на тканини. У зв'язку з підвищеною концентрацією імунних комплексів у кров'яному руслі, можливе їх функціональне перевантаження, а також порушення функціонування епітеліальних клітин, на що звертає увагу ряд авторів. Таким чином, з огляду на дані літератури і беручи до уваги результати наших досліджень, можна стверджувати, що між впливом хлориду алюмінію на тонку кишку та реакцією імунної системи існують тісні зв'язки [2, 4].

Коефіцієнти кореляції між ЦІК та кутами судинних галужень першого, другого і третього порядків склали, відповідно $R_1 = -0,924$, $R_2 = -0,927$, $R_3 = -0,929$, а між Ig G та кутами судинних галужень першого, другого і третього порядків – $R_1 = -0,764$, $R_2 = -0,765$, $R_3 = -0,765$. Усі випадки статистично достовірні ($p < 0,05$). Наявність зворотної залежності (зниження концентрації імунокомплексів та Ig G) і зростання розгалуженості судин свідчить про те, що дані процеси відтерміновані у часі. Найімовірніше, це пов'язано зі зміною гемодинамічного тиску в судинах при посиленні периваскулярних запальних процесів, на що вказує зростання ЦІК та Ig G у крові. Очевидно, ЦІК і, можливо, Ig G є пусковими механізмами процесів, що призводять з часом до анатомічних змін у судинах. Аналогічні результати отримані іншими авторами, які досліджували залежність між запальними процесами в різних тканинах та утворенням ЦІК й Ig G [2, 4, 7]. Хоча остаточні висновки з такого питання можна було б зробити лише після детального вивчення даних процесів, однак на даному етапі це не є предметом наших досліджень.

Статистичний аналіз показав наявність у контрольній групі зв'язку ($R = -0,965$) між товщиною м'язової оболонки та висотою ворсинок ($R = 0,735$), між глибиною крипт і висотою ворсинок ($R = -0,605$). Разом із тим, протягом 1–14 діб в експериментальних тварин ці залежності відсутні. Отримані результати дають

підстави припускати, що з 1-ї до 14-ї доби експерименту продовжуються деструктивні процеси, а процес відновлення за цей період не завершується.

В умовах нашого досліду змінювалась структура клітин епітеліальної пластинки слизової оболонки порожньої кишки – стовпчастих епітеліоцитів. Реактивні зміни слизової оболонки представлені ворсинками, строми яких були потовщені, спостерігали їх деформацію та набряк. Стовпчасті епітеліоцити на верхівці ворсинки злущувались і були змінені за формою (рис. 1).

Біля змінених клітин виявляли лімфоцити. Спостерігали гетероморфність ендоплазматичної сітки: цистерни плоскі, подекуди можна було побачити вакуолі трохи збільшених розмірів, каналці розширені. Компоненти комплексу Гольджі виглядали набряклими, цистерни диктіосом сплюснені, вакуолі траплялися в невеликій кількості. Судини слизової, підслизової та м'язової оболонок були розширені і переповнені кров'ю, в них спостерігали стази формених елементів крові (рис. 2).

Морфометричні показники тонкої кишки показали, що при отруєнні білих щурів хлоридом алюмінію в досліджуваному органі збільшувалася товщина стінки порожньої та клубової кишок за рахунок зростання показників слизової з підслизовою основою та м'язової оболонок. Підтвердженням цього є статистично достовірне ($p < 0,001$) зростання середньої величини довжини ворсинок експериментальних тварин на 7-му добу після введення хлориду алюмінію: відповідно, на 26,2 % у порожній кишці, що становило $(467,4 \pm 9,8)$ мкм, і на 27,9 %

у клубовій, що складало $(327,6 \pm 4,2)$ мкм порівняно з тваринами контрольної групи. Глибина крипт порожньої кишки уражених білих щурів уже на 1-шу добу після отруєння зменшилася на 8,9 % і дорівнювала $(162,9 \pm 2,5)$ мкм, у клубовій кишці дана величина становила $(167,7 \pm 1,4)$ мкм, що також було на 9,1 % нижчим порівняно з цим же параметром в неуражених тварин. Величина ширини крипт у порожній кишці білих щурів на 1-шу добу після отруєння складала $(34,3 \pm 0,9)$ мкм, на 4-ту – $(37,6 \pm 1,1)$ мкм, на 7-му – $(46,2 \pm 1,1)$ мкм, а на 14-ту добу експерименту було виявлено незначне зниження даного показника до $(39,2 \pm 1,2)$ мкм. Таку ж тенденцію спостерігали і при дослідженні ширини крипт клубової кишки експериментальних тварин.

Цитоморфометричні показники підтверджували динаміку морфометричних змін і зберігали ту ж тенденцію до зростання. Так, висота стовпчастих епітеліоцитів ворсинок досліджуваних органів білих щурів за даних умов патології збільшувалась і на 14-ту добу експерименту в порожній кишці становила $(25,2 \pm 0,2)$ мкм, що було вищим на 30 % від аналогічного показника в контрольній групі, а в клубовій цей показник був вищим на 73 % і складав $(31,5 \pm 1,1)$ мкм. Хоча в загальному помітна тенденція до відновлення показників на 14-ту добу, але морфологічний аналіз свідчить про те, що цей процес не завершений і продовжує тривати. Виявлено диспропорційне та нерівномірне збільшення площі ядер епітеліоцитів та крипт, яке вказувало на істотні порушення в цих клітинах. Величина площі ядра епітеліоцитів ворсинок у порожній кишці

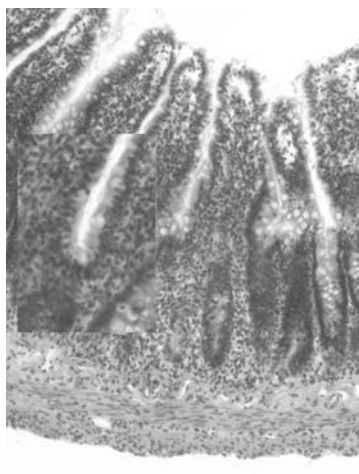


Рис. 1. Мікроскопічні зміни слизової оболонки клубової кишки білого щура на 4-ту добу після отруєння хлоридом алюмінію. Інфільтрація клітинними елементами всіх оболонок клубової кишки. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 100$.

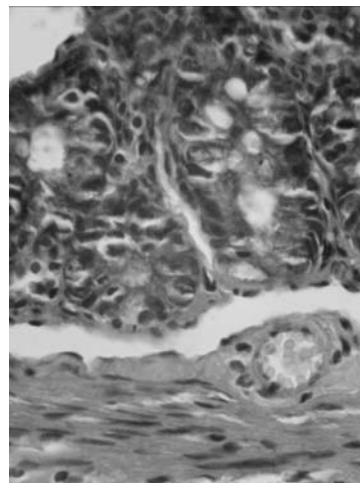


Рис. 2. Мікроскопічні зміни слизової оболонки порожньої кишки на 4-ту добу. Потовщення і деформація крипт слизової оболонки, розширені переповнені кров'ю судини. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 400$.

експериментальних тварин у динаміці мала такий вигляд: на 1-шу добу від початку експерименту вона становила $(30,4 \pm 0,8)$ мкм², на 4-ту – $(33,3 \pm 1,1)$ мкм², на 7-му – $(31,9 \pm 1,2)$ мкм², на 14-ту – $(29,8 \pm 0,8)$ мкм². Аналогічну тенденцію було виявлено і при дослідженні цього параметра в клубовій кишці отруєних білих щурів. За даних умов патології вже на 1-шу добу після отруєння зростала величина площі келихоподібних клітин у ворсинці як у порожній кишці й становила $(79,4 \pm 1,9)$ мкм², так і в клубовій – $(78,7 \pm 2,3)$ мкм² ($p < 0,001$). Статистично достовірне збільшення цього показника в піддослідних тварин спостерігали і в наступні дні експерименту, яке найвищим було на 7-му добу після отруєння. У порожній кишці він складав $(83,4 \pm 2,3)$ мкм², а в клубовій – $(87,2 \pm 2,6)$ мкм².

Результати проведених нами досліджень свідчать про вплив хлориду алюмінію на імунологічні показники крові та морфоструктуру тонкої кишки і можуть слугувати основою на-

ступних експериментів з використанням фармакологічних засобів для досягнення повної корекції структурно-функціональних розладів у тканинах порожньої та клубової кишок після дії вищевказаного токсиканта.

ВИСНОВКИ. Встановлено, що при експериментальному ураженні білих щурів хлоридом алюмінію достовірна наявність кореляційного зв'язку в динаміці між імуноглобулінами та ЦІК, найімовірніше, пояснюється активністю імунних реакцій, що вказують на зміни клітин ендотелію судин, а отже, на високу залежність між вираженням запальної реакції та автоімунними процесами в антигенозалежних органах і тканинах тварин. Даний зв'язок підтверджується морфологічною перебудовою порожньої та клубової кишок, а саме збільшується товщина м'язової оболонки та слизової з підслизовою основою тонкої кишки, що зумовлено набряком і судинними розладами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.

2. Білозоров О. П. Циркулюючі імунні комплекси і дослідження антигенного впливу при алергодерматозах, псоріазі і хламідіозах : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / О. П. Білозоров. – К., 2003. – 40 с.

3. Бойчук А. В. Діагностика і лікування запальних захворювань матки та її придатків в залежності від стану гормональної, імунної та антиоксидантної системи організму : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / А. В. Бойчук. – К., 2001 – 44 с.

4. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – К. : Полиграф плюс, 2006. – 481 с.

5. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.

6. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов. – К. : Авіцена, 2002. – 155 с.

7. Кравців Ю. Р. Імунітет слизових оболонок кишечнику тварин / Ю. Р. Кравців, Р. П. Масляк // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ. – 2009. – 11 (41). – С. 134–140.

8. Крушевський В. Д. Співвідношення вмісту та розміру циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові при експериментальному токсичному,

пиловому та токсикопиловому бронхіті у щурів / В. Д. Крушевський, В. А. Стежка // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2009. – № 1 (17).

9. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с.

10. Лоренко С. В. Кількісне визначення імуноглобулінів біохімічним методом / С. В. Лоренко, О. Б. Кравченко // Акушерство і гінекологія. – 1972. – № 6. – С. 26–29.

11. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення) : монографія / [М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін.]. – Суми : Вид-во СумДУ, 2010. – 147 с.

12. Основні наукові дослідження за останні роки та перспективи розвитку імунотоксикологічних досліджень у гігієні / О. І. Винарська, Н. О. Ніконова, Л. Є. Григоренко, С. В. Лук'ячук // Довкілля та здоров'я. – 2006. – № 3. – С. 28–32.

13. Пат. 59446 UA, МПК G09B 23/28, A61K 33/06. Спосіб моделювання токсичного ураження тонкої кишки алюмінію хлоридом / Котляренко Л. Т., Ярема О. М., Гнатюк М. С. – 201015005 ; заявл. 13.12.10 ; опубл. 10.05.11, Бюл. № 9.

14. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.

15. Шошенко К. А. Архитектоника кровеносного русла / К. А. Шошенко, А. С. Голуб, В. И. Брод. – Новосибирск : Наука, 1982. – 123 с.

16. Gleichmann H. Mechanisms of autoimmunity / H. Gleichmann, E. Gleichmann // Immunotoxicology (Ed.A.Berlin e.a.). – Martinus Nijhoff Publishers, 1987.– P. 39–60.

17. Hewitt C. D. Aspects of aluminium toxicity /

C. D. Hewitt, J. Savory, M. R. Wills / Clin. Lab. Med. – 1990. – **10**. – P. 403 – 422.

18. Morley J. Lung reactions to environmental chemicals / J. Morley // Immunotoxicology (Ed.A.Berlin e.a.). Martinus Nijhoff Publishers, 1987.– P. 473–481.

О. М. Ярема

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ОРГАНИЗМА ХЛОРИДОМ АЛЮМИНИЯ

Резюме

В условиях экспериментального поражения тонкой кишки хлоридом алюминия проведены иммунологические, морфологические и морфометрические исследования, которые указывают на наличие корреляции между циркулирующими иммунными комплексами, иммуноглобулинами классов А, М, G и показателями угла ветвления сосудов тощей и подвздошной кишок на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после отравления. Количественным подтверждением токсического действия хлорида алюминия являются структурная перестройка артерий, утолщение стенки сосудов и сужение их просвета, инфильтративные и деструктивные изменения в оболочках исследуемых отделов, указывающие на существенное поражение цитоархитектоники тонкой кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: циркулирующие иммунные комплексы, иммуноглобулины, белые крысы, алюминия хлорид, морфология, тонкая кишка.

О. М. Yarema

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

MODIFICATION IN THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE SMALL INTESTINE AT EXPERIMENTAL LESION WITH ALUMINUM CHLORIDE

Summary

According to the experimental lesion of the small intestine with aluminum chloride there were conducted the immunological, morphological and morphometric studies that indicate the existence of correlation between circulating immune complexes, immunoglobulin A, M, G and indicators of vessel angle branching of empty intestine and ileum on the first, fourth, seventh and fourteenth day after the poisoning. Quantitative verification of toxic action of aluminum chloride is restructuring of arteries, thickening of the vascular wall and narrowing of the lumen, infiltrative and destructive changes in the membranes of the studied sections, indicating substantial destruction of the small intestine.

KEY WORDS: circulatory immune complexes, immunoglobulins, white rats, aluminum chloride, morphology, small intestine.

Отримано 18.12.12i

Адреса для листування: О. М. Ярема, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: aksenia.82@mail.ru.

**АКТИВНІСТЬ АРГІНАЗИ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ
ХВОРИХ НА РЕАКТИВНИЙ АРТРИТ**

Досліджено зміни ензиматичної активності аргінази лімфоцитів периферичної крові хворих на реактивний артрит. Встановлено достовірне зростання максимальної миттєвої швидкості аргіназної реакції (у 3,3 раза) та максимальної кількості утвореного продукту реакції (у 2,5 раза) у лімфоцитах периферичної крові хворих порівняно з практично здоровими донорами. Визначено ряд кінетичних параметрів аргіназної реакції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: автоімунні захворювання, реактивний артрит, аргіназа, оксид азоту, лімфоцити.

ВСТУП. Ревматичні захворювання – одна з найпоширеніших патологій у світі. Вони являють собою гетерогенну групу захворювань з домінуючим ураженням суглобів, що об'єднані тенденцією до хронічного прогресуючого перебігу, негативним впливом на якість життя та високою вірогідністю інвалідизації [6, 9]. Серед них особливо виділяють реактивний артрит (РеА) – системне ураження суглобів і сечостатевого шляху, яке розвивається внаслідок хламідійної або, рідше, іншої інфекції [1, 3, 10].

У патогенезі РеА центральну роль відводять імунним порушенням, зокрема пов'язаним з функціонуванням Т-лімфоцитів [10, 21]. Також у патогенезі РеА суттєву роль відіграють порушення обмінних процесів. Протягом останнього десятиліття значну увагу приділяють вивченню метаболізму аргініну та ролі оксиду азоту (NO) в патогенезі ревматичних захворювань [20].

Імунні стреси, зумовлені дією цитокінів, у хворих на артрити стимулюють синтез NO [17, 18, 26]. За цих умов NO сприяє імунному захисту організму, відіграючи роль імунорегулятора, а у високих концентраціях також проявляє цитотоксичну дію, яка ускладнює різноманітні прояви автоімунного характеру [8, 27].

Тому, зважаючи на участь NO в імунотоксичних процесах та його вплив на міжклітинну кооперацію ефektorних і мішеневих клітин, об'єктом більш ґрунтовного вивчення все частіше стають NO-залежні механізми та їх роль у

розвитку автоімунних захворювань. Слід відзначити, що оксид азоту, субстратом для якого є амінокислота – L-аргінін, не обмежений лише синтазним шляхом метаболізму. Обмін L-аргініну здійснюється, як мінімум, двома шляхами: окисним (NO-синтазним) і неокисним (аргіназним) [5, 7]. Більшість досліджень метаболізму NO присвячена вивченню окисного NO-синтазного шляху метаболізму. Однак важливо підкреслити, що NO-синтаза та аргіназа можуть конкурувати за субстрат – L-аргінін.

Аргіназа (КФ. 3.5.3.1) – металоензим, який каталізує гідролітичне розщеплення L-аргініну до сечовини і L-орнітину. Аргіназа регулює утворення NO шляхом конкуренції з NO-синтазою за L-аргінін [22]. Фізіологічна роль аргінази, зумовлена її участю в численних метаболічних процесах у клітині, свідчить про те, що ензим належить до важливої ланки у розвитку багатьох патологічних станів організму, зокрема при автоімунних захворюваннях. Відомо, що аргіназа модулює імунну відповідь. Показано [23], що гуморальні протизапальні цитокіни IL-4, IL-10, IL-13 і TGF- β викликають експресію аргінази. Вважають, що висока експресія аргінази свідчить про гуморальну відповідь з боку імунної системи на антиген.

Метою даного дослідження було вивчити активність та кінетичні властивості аргінази в лімфоцитах периферичної крові хворих на реактивний артрит.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на лімфоцитах периферичної крові, яку

забирали у хворих ($n=11$), що перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні. Для об'єктивної клінічної оцінки початкового стану хворих, ефективності проведеного лікування діагноз встановлювали на основі уніфікованих діагностичних критеріїв, затверджених на об'єднаному Пленумі ревматологів і ортопедо-травматологів України (2003). Групу контролю становили практично (клінічно) здорові донори віком 20–30 років ($n=16$).

Моноядерні лімфоцити периферичної крові людини виділяли з гепаринізованої свіжо-отриманої венозної крові хворих і донорів у градієнті густини фікол-тріумбаст ($\rho=1,08$) [15]. Підраховували клітини у камері Горяєва, використовуючи як барвник 0,1 % трипановий синій. Цілісність і життєздатність лімфоцитів, яка в усіх досліджах становила не менше 95 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім.

Ензиматичну активність аргінази визначали на пермеабілізованих лімфоцитах периферичної крові. Для пермеабілізації мембран лімфоцитів периферичної крові до суспензії лімфоцитів додавали детергент – 0,1 % сапонін. Дана методика ґрунтується на роботах, виконаних на еритроцитах, лімфоцитах і сперматозоїдах, з вивчення іонотранспортувальних та антиоксидантних систем клітини [2, 4].

Ензиматичну активність аргінази визначали за утворенням сечовини, вміст якої визначали за допомогою діагностичного набору відповідно до інструкції фірми-виробника ("Simko", Україна). Ензиматичну реакцію ініціювали шляхом внесення аліквоти пермеабілізованих сапоніном лімфоцитів в інкубаційне середовище такого складу (мМ): 20 Трис HCl, 100 L-аргінін, 2 MnCl₂ (pH=9,5); кількість білка у пробі не перевищувала 50–100 мкг/мл. Вміст білка у лімфоцитарній суміші визначали методом Лоурі [24]. Інкубацію здійснювали протягом різних проміжків часу (1–30 хв) і при температурі 37 °С. Реакцію зупиняли шляхом внесення в інкубаційне середовище 50 % ТХО. У контрольні зразки, замість лімфоцитарної суміші, вносили відповідну аліквоту фізрозчину. Крім дослідних і контрольних проб, готували також пробу, яка містить стандартний розчин сечовини (16,65 мМ).

Активність аргінази визначали спектрофотометрично при 520 нм, реєструючи процес утворення сечовини. Кількість продукту реакції, що утворився в процесі ензиматичної реакції, визначали згідно з інструкцією і виражали у нмоль сечовини/хв·мг загального протеїну у пробі [11].

Дослідження кінетичних властивостей ензиматичної реакції аргінази проводили в стандартному середовищі інкубації, модифікованому за часом інкубації, кількістю білка лімфоцитарної суміші у пробі та концентрацією субстрату (L-аргініну). Уявні кінетичні параметри, такі, як максимальна миттєва швидкість реакції V_0 , максимальна (платова) кількість утворення продукту реакції P_{max} та характеристичний час реакції (період напівнасичення) τ , визначали, як описано в статті (Костерин С. А., Бучинская Н. Ф., 1987).

Кінетичні та статистичні розрахунки проводили в режимі програмного забезпечення MS Office. Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента. Абсолютне значення коефіцієнта кореляції становило 0,90–0,99. Достовірність розрахованих параметрів прямої перевіряли за F-критерієм Фішера; достовірною вважали апроксимацію, за якої $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вивчення змін активності аргінази при патологічних станах викликає значний інтерес у дослідників у медико-біологічній практиці. Однак у більшості медичних досліджень використовують визначення метаболітів окисного та неокисного обміну L-аргініну в плазмі крові. Дослідження активності аргінази в нормі та при різних патологічних станах організму в клітинах є незначними й обмеженими.

З метою вивчення особливостей і механізму роботи аргінази в лімфоцитах крові визначали ряд її кінетичних параметрів. Для цього досліджували динаміку утворення сечовини. Суспензію лімфоцитів інкубували в середовищі інкубації протягом різних проміжків часу. Дані експериментів показали, що кінетику аргіназної реакції сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами віддзеркалюють криві, які мають тенденцію до насичення (рис. 1). Аналіз отриманих результатів дозволяє дійти висновку, що кінетика реакції розкладу L-аргініну, каталізованого сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами, узгоджується із закономірностями реакції першого порядку в діапазоні 0–30 хв.

Тому в подальших експериментах тривалість інкубації лімфоцитів і, відповідно, реакції гідролізу L-аргініну становила 30 хв. Як впливає з рисунка 1, у всьому діапазоні фактора часу кількість утвореної сечовини з участю аргінази лімфоцитів хворих на РеА була у 3,3 раза більшою порівняно з величиною в донорів.

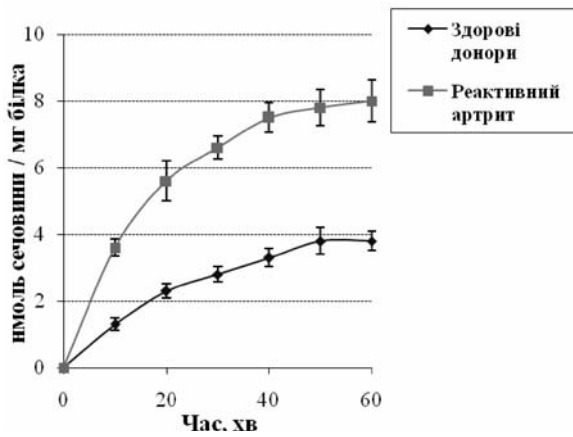


Рис. 1. Динаміка утворення сечовини сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами крові донорів і хворих на РеА (M±m, n=11).

При кінетичному аналізі залежності активності аргінази лімфоцитів периферичної крові від концентрації L-аргініну субстрат для ензиматичної реакції аргінази вносили в середовище інкубації у діапазоні концентрацій від 1 до 200 мМ (за сталої концентрації Mn^{2+} 2 мМ). При цьому спостерігали лінійне зростання ензиматичної активності аргінази з наступним виходом на плато. У всьому діапазоні досліджуваних концентрацій L-аргініну активність аргінази у хворих на РеА була підвищеною порівняно з величиною в донорів. Найбільше значення активності досліджуваного ензиму відзначали за наявності в середовищі інкубації 150 мМ L-аргініну (рис. 2).

Шляхом лінеаризації отриманих даних у координатах P/t від P обчислено основні кінетичні характеристики аргіназної реакції сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами (табл.).

З даних таблиці випливає, що величина максимальної миттєвої швидкості реакції у донорів та хворих на РеА істотно відрізнялась і складала (160,9±5,5) та (528,4±22,3) нмоль сечовини/хв·мг білка відповідно. Максимальна кількість утвореного продукту реакції у донорів та хворих на РеА також суттєво відрізнялась і становила (5,7±0,1) та (14,2±1,1) нмоль сечовини/хв·мг білка. На основі цього ми припускаємо, що у лімфоцитах периферичної крові хворих на РеА накопичення сечовини аргіназної реакції відбувалося швидше й активніше порівняно з донорами. Водночас

Таблиця – Кінетичні параметри гідролізу L-аргініну сапонін-пермеабілізованими лімфоцитами крові донорів і хворих на реактивний артрит

Додаток	Кт студ	ь Неуоср 1л
$n_0 = \text{спт } 2) \text{ Елнт Ндсдк еНл м- } \varnothing \text{Ф}$	звц-0, . =	. 67-4, 66-8±±
$0_{\text{max}} = \text{спт } 2) \text{ Елнт Ндсдкп м- } \varnothing \text{Ф}$. 9, цз	34-6, 3з±±±
. =eNe	8. =, з=	86±ц, 3=

Примітка. Зміни вірогідні стосовно величин у лімфоцитах осіб групи контролю: *** – p<0,001.

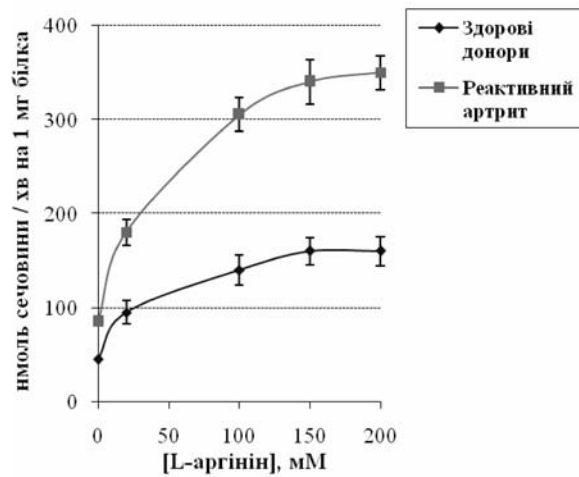


Рис. 2. Концентраційна залежність впливу L-аргініну на активність аргінази лімфоцитів периферичної крові донорів і хворих на реактивний артрит (M±m, n=11).

характеристичний час реакції в нормі й при ревматичній патології суттєво не відрізнявся.

Враховуючи те, що активність аргінази залежить від вмісту білка в лімфоцитарній суміші, аргіназну реакцію ініціювали шляхом внесення в інкубаційне середовище білка в діапазоні концентрацій від 30 до 150 мкг білка/мл. Установлено, що поступове підвищення концентрації лімфоцитарного білка у середовищі інкубації призводило до зростання V_0 аргіназної реакції. Максимальна величина досягалась приблизно при 120 мкг/мл і надалі вірогідно не змінювалась.

Проведені в останні роки дослідження засвідчують, що імунopatологічні процеси залежать від рівня оксиду NO в організмі. Вивчення змін ензиматичної активності аргінази – одного з ключових ензимів метаболізму NO дає інформативну оцінку про перебіг патологічних змін в організмі, зокрема і при аутоімунних захворюваннях.

Зростання аргіназної активності лімфоцитів свідчить про зміни функціональної активності в імунокomпетентних клітинах, що може бути зумовлено порушеннями метаболічних процесів у цих клітинах або також може опосередковуватись через інші регуляторні механізми клітини (іони Ca^{2+} , NO).

Щодо зростання активності аргінази при патологічних станах існують інші дані. Так, з'я-

совано, що при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда відбувається підвищення активності аргінази в уражених ділянках серця [12]. Показано зростання рівня аргіназної активності мононуклеарів периферичної крові у ВІЛ-позитивних пацієнтів [19]. Спостерігають підвищення активності аргінази мононуклеарів після травматичних станів [13].

Встановлено збільшення рівня аргіназної активності плазми крові лише у хворих на ревматоїдний артрит, тоді як у пацієнтів із системним червоним вовчаком і остеоартритом не спостерігають значних змін [14]. Показано зростання активності аргінази синовіальної рідини у макрофагах, виділених із синовіальної рідини хворих на ревматоїдний артрит [16, 25].

Більшість досліджень проведено на лізатах клітин, при отриманні яких відбувається певна

інактивація субклітинних структур. Використання пермеабілізованих детергентом клітин дозволяє забезпечити доступ реагентів (субстратів реакції) всередину клітин та зберегти високу нативність, природне співвідношення об'ємів внутрішньоклітинних структур, цілісність клітини і стабільність внутрішньоклітинних структур.

ВИСНОВОК. У результаті проведених досліджень визначено ряд кінетичних параметрів аргіназної реакції та встановлено достовірне зростання максимальної миттєвої швидкості аргіназної реакції в лімфоцитах периферичної крові хворих на РеА (у 3,3 раза) та максимальної кількості утвореного продукту реакції (у 2,5 раза) порівняно з практично здоровими донорами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Джус М. Б. Клініко-імунологічні особливості перебігу реактивного артриту / М. Б. Джус // Укр. ревматол. журн. – 2004. – **17**, № 3. – С. 44–48.
2. Коноварт О. В. Вплив омега-3 на активність ферментів глутатионової антиоксидантної системи лімфоцитів периферичної крові / О. В. Коноварт, З. Д. Воробець // Буковин. мед. вісник. – 2004. – **9**, № 2. – С. 112–114.
3. Корнійчук О. П. Реактивні артрити та інфекційні чинники / О. П. Корнійчук, О. В. Мельник, Н. Е. Личковська // Клін. та експерим. патологія. – 2012. – **11**, № 1. – С. 181–185.
4. Кочешкова Н. С. Еозин-чутлива АТФазна активність у сперматозоїдах чоловіків як біохімічний тест на олігозооспермію / Н. С. Кочешкова, З. Д. Воробець // Укр. біохім. журн. – 2007. – **79**, № 2. – С. 45–55.
5. Марков Х. М. О биорегуляторной системе “L-аргинин – окись азота” / Х. М. Марков // Пат. физ. експер. терапия. – 2000. – № 1. – С. 34–39.
6. Нейко Є. М. Ревматоїдний артрит: сучасний погляд на проблему / Є. М. Нейко, Р. І. Яцишин, О. В. Штефюк // Укр. ревмат. журн. – 2009. – **36**, № 2. – С. 35–39.
7. Перетятко Ю. Особливості аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів за хронічного рентгенівського опромінення / Ю. Перетятко, Н. О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 2. – С. 40–48.
8. Петухов В. И. Активные формы кислорода в прогрессировании хронического миелейкоза: перспективы применения натуральных антиоксидантов / В. И. Петухов // Тер. арх. – 2000. – **8**, № 72. – С. 64–67.
9. Ревматичні хвороби в Україні: сучасний стан проблеми і надання медичної допомоги та шляхи покращення / В. М. Коваленко, В. М. Корнацький, Н. М. Шуба, О. П. Борткевич. – Київ, 2002. – 42 с.
10. Спаська Г. О. Реактивний артрит: сучасний погляд на проблему / Г. О. Спаська // Укр. мед. часопис. – 2011. – **11–12**, № 6. – С. 55–59.
11. Шугалей В. С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду / В. С. Шугалей, А. С. Козина // Физиол. журн. СССР. – 1977. – № 8. – С. 1199–1202.
12. Юзків М. Я. Експериментальна гостра ішемія-реперфузія міокарда: роль системи оксиду азота : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / М. Я. Юзків. – К., 2004. – 20 с.
13. Arginase I Expression and activity in human mononuclear cells after injury / J. B. Ochoa, A. C. Bernard, W. E. O'Brien [et al.] // Ann Surg. – 2001. – **233**, № 3. – P. 393–399.
14. Arginase levels are increased in patients with rheumatoid arthritis / L. W. Huang, K. L. Chang, C. J. Chen [et al.] // Kaohsiung J. Med. Sci. – 2001. – **17**, № 7. – P. 358–363.
15. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – **21**, № 97. – P. 77–79.
16. Corraliza I. Increased expression of arginase II in patients with different forms of arthritis. Implications of the regulation of nitric oxide / L. Corraliza, S. Moncada // J. Rheumatol. – 2002. – **29**, № 11. – P. 2261–2265.
17. Elevated nitric oxide production in patients with primary Sjogren's syndrome / A. Wanchu, M. Khwar, A. Sud [et al.] // Clin. Rheumatol. – 2000. – **19**, № 5. – P. 360–364.
18. Evidence for a pathogenic role of nitric oxide in inflammation-induced osteoporosis / K. E. Amour,

R. J. Van't Hof, P. S. Grabovska [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 1999. – **14**, № 12. – P. 2137–2141.

19. Increased level of arginase activity correlates with disease severity in HIV-seropositive patients / T. E. Cloke, L. Garvey, B. S. Choi [et al.] // J. Infect Dis. – 2010. – **202**, № 3. – P. 374–385.

20. Influence of blood and synovia fluid immune complexes of patients with rheumatoid arthritis on production of nitric oxide and growth and viability of chondrocytes / A. Verbuen, L. S. de Clerck, C. H. Bridts [et al.] // J. Rheumatol. – 2000. – **27**, № 1. – P. 35–40.

21. Lower level of synovial fluid interferon-gamma in HLA-B27-positive than in HLA-B27-negative patients with Chlamidia trachomatis reactive arthritis / S. Bas, T. K. Kvien, N. Buchs [et al.] // Rheumatology (Oxford). – 2003. – **42**, № 3. – P. 461–467.

22. Morris S. M. Jr. Enzymes of arginine metabolism / S. M. Jr. Morris // J. Nutr. – 2004. – **134**, № 10. – P. 2743–2747.

23. Production of nitric oxide during graft rejection is regulated by the Th1/Th2 balance, the arginase ac-

tivity, and Larginine metabolism / V. Holan, J. Pindjakova, M. Krulova [et al.] // Transplantation. – 2006. – **81**. – P. 1708–1715.

24. Protein measurement with the Folin phenol-reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265–275.

25. Relationship between synovial fluid and plasma manganese, arginase, and nitric oxide in patients with rheumatoid arthritis / S. Sarban, U. E. Isikan, Y. Kocabey [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2007. – **115**, № 2. – P. 97–106.

26. Rivier C. Role of nitric oxide and carbon monoxide in modulating the ACTH response to immune and nonimmune signals / C. Rivier // Neuroimmunomodulation. – 1998. – **5**. – P. 203–213.

27. Virgili F. Procyanidins extracted from Pinus maritima: scavengers of free radical species and modulators of nitrogen monoxide metabolism inactivated murine RAW 264/7 macrophages / F. Virgili, H. Kobuchi, L. Packer // Free Radical Biol. Med. – 1998. – **24**, № 7–8. – P. 1120–1129.

О. В. Мельник, О. П. Корнийчук, З. Д. Воробец

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

АКТИВНОСТЬ АРГИНАЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ

Резюме

Исследовано изменения энзиматической активности аргиназы лимфоцитов периферической крови больных реактивным артритом. Установлено достоверное возрастание максимальной мгновенной скорости аргиназной реакции (в 3,3 раза) и максимального количества образованного продукта реакции (в 2,5 раза) в лимфоцитах периферической крови больных по сравнению с практически здоровыми донорами. Определены кинетические параметры аргиназной реакции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аутоиммунные заболевания, реактивный артрит, аргиназа, оксид азота, лимфоциты.

O. V. Melnyk, O. P. Korniiichuk, Z. D. Vorobets

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ARGINASE ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH REACTIVE ARTHRITIS

Summary

The changes of peripheral blood lymphocytes arginase enzymes activity were investigated in patients with reactive arthritis. Accurate growth of arginase activity in peripheral blood lymphocytes of patients (in 3.3 times) was set in comparison with the practically healthy persons. The raw of kinetic parameters of arginase reaction was determined.

KEY WORDS: autoimmune disease, reactive arthritis, arginase, nitric monoxide, lymphocytes.

Отримано 10.12.12

Адреса для листування: З. Д. Воробець, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 69010, Україна.

КОРЕКЦІЯ ЗМІН СТАНУ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ТВАРИН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ

Проведено аналіз змін показників антиоксидантної та прооксидантної систем у паратрахеальних лімфатичних вузлах тварин з експериментальним алергічним альвеолітом до і після корекції корвітином. Встановлено зростання активності прооксидантної та зниження активності антиоксидантної систем у паратрахеальних лімфатичних вузлах за умов експериментального алергічного альвеоліту і виражений коригувальний вплив корвітину на пізніх етапах розвитку даної патології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний алергічний альвеоліт, антиоксидантна система, прооксидантна система, корвітин, паратрахеальні лімфатичні вузли.

ВСТУП. Екзогенний алергічний альвеоліт (ЕАА) вперше було описано у 1932 р. J. Samrbell [13]. Це імунопатологічне захворювання, в патогенезі якого основну роль відіграють алергічні реакції III і IV типів (за класифікацією Gell і Coombs) [15]. Антигенами виступають здебільшого алергени грибкового, бактерійного походження, тваринні білки та низькомолекулярні хімічні сполуки. Імунокомплексні реакції (3-й тип) відбуваються в інтерстиції при взаємодії інгальованого антигену та Ig G з розвитком пошкодження інтерстицію і альвеол. Активовані нейтрофіли і макрофаги вивільняють прозапальні й токсичні продукти, що призводить до подальшого пошкодження, посилення гострого запального процесу та підтримання реакцій гіперчутливості сповільненого типу. Формуються гранульоми та розвивається інтерстиційний фіброз. Проведене ДНК-типуння алелів HLA II класу встановило наявність генетичних маркерів щодо спадкової схильності та резистентності у розвитку ЕАА в дітей і підлітків окремих популяцій [1]. Ступінь пошкодження і незворотність змін легеневої архітекτονіки залежать від багатьох факторів: характеру експозиції антигену, природи інгальованих частинок та імунної відповіді пацієнта.

Враховуючи те, що на пізніх стадіях розвитку ЕАА виникають незворотні зміни, які призводять до інвалідизації хворих [9], дане захворювання слід вважати тяжкою патологією, а вивчення всіх ланок патогенезу цього захворювання та шляхів його корекції – актуальним.

На сьогодні ще не вивченими залишаються стан про- й антиоксидантної систем у паратрахеальних лімфатичних вузлах у пізні періоди розвитку ЕАА та шляхи корекції виявлених змін. З цією метою використовували корвітин – модульовану форму кверцетину [4]. Кверцетин – представник флавонів класу флавоноїдів, який володіє високими антиоксидантними, антирадикальними, металохелатуючими, антигіпоксантиними, антиапоптичними, імуномодулюючими, мембраностабілізуючими та капіляроукріплювальними властивостями, має протизапальні, гіполіпідемічні властивості, пригнічує каталітичні властивості тромбіну, проявляє антигістамінну активність [3, 11, 14, 16]. Корвітин є одним з найбільш безпечних та ефективних фармакотерапевтичних засобів у лікуванні багатьох захворювань, що дозволило використати його для корекції ЕАА.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на мурчаках-самцях (n=36) масою 480–500 г, які перебували на стандартному раціоні віварію. Експериментальні дослідження на тваринах виконували з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Київ, 2001), та за погодження комісії з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Мурчаків поділили на три групи (n=12): 1-ша –

контрольні тварини; 2-га – тварини з ЕАА на 94-ту добу експерименту; 3-тя – тварини з ЕАА на 94-ту добу експерименту, яким протягом 10 днів вводили внутрішньочеревно препарат “Корвітин” (Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод) у дозі 40 мг/кг. Відтворювали модель ЕАА за методикою О. О. Орехова та Ю. А. Кірілова [12]. Викликали ЕАА шляхом введення 0,2 мл повного ад’юванту Фрейнда в задню лапку мурчака з метою нагромадження антигену в легеневій тканині. Через 2 тижні після імунізації 6 разів з інтервалом 10 діб внутрішньовенно вводили 0,2 мл 1 % суспензії вакцини БЦЖ (бацила Кальметта-Герена). Для біохімічних досліджень брали тканину паратрахеальних лімфатичних вузлів (ПЛВ), з яких готували гомогенат на мікропідробнювачі тканин РТ-2. Визначення процесів активності вільнорадикального окиснення та функціональний стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом у гомогенаті ПЛВ малонового діальдегіду (МДА) [8], вмістом дієнових кон’югатів (ДК) [5], активністю каталази (КТ) [18], пероксидази (ПО) [2], супероксиддисмутази (СОД) [17], рівнем церулоплазміну (ЦП) [7], активністю глутатіонредуктази (ГР) [10]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми “Statgraphics” із використанням t-критерію Стьюдента. Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Стан процесів пероксидного окиснення ліпідів при ЕАА характеризувався збільшенням МДА і ДК у тканинах ПЛВ порівняно з контрольними тваринами. Так, на 94-ту добу експерименту

вміст МДА зростав в 1,85 раза в ПЛВ (рис.) порівняно з контролем ($p < 0,05$). Достовірно збільшеним був і рівень ДК – у 2,24 раза порівняно з 1-ю групою тварин. Також спостерігали вірогідне зменшення активності антиоксидантних ферментів у мурчаків з ЕАА. Так, активність СОД становила відносно контролю 41,0 %, активність КТ – 52,4 % та активність ПО – 50,5 % відносно контрольної групи тварин. Аналогічно зниженими були активність ГР на 94-ту добу експерименту та рівень ЦП. Активність ГР становила у ПЛВ 41,2 % від контролю ($p < 0,05$), а рівень ЦП – 41,08 % ($p < 0,05$) відносно контролю.

Таким чином, у процесі розвитку ЕАА на 94-ту добу відбувалося порушення рівноваги між про- та антиоксидантними системами, що свідчило про ймовірне виснаження ресурсів АОС та патогенетичне значення активації пероксидного окиснення ліпідів для розвитку ЕАА.

Для корекції виявленого дисбалансу про- та антиоксидантної систем було застосовано корвітин, який істотно вплинув на досліджувані показники. Після введення корвітину активність антиоксидантних ферментів зазнала підвищення порівняно з нелікованими тваринами. Так, у ПЛВ активність СОД вірогідно зростала на 70,4 %, активність КТ – на 64,6 % ($p < 0,05$), активність ПО – на 71,7 % порівняно з мурчаків 2-ї групи ($p < 0,05$). Достовірно підвищеною була активність ГР – на 193,3 % порівняно з групою нелікованих тварин. Рівень ЦП зростав на 88,9 % відносно тварин з ЕАА ($p < 0,05$). Помітно знижувався рівень ДК і МДА у ПЛВ мурчаків після введення корвітину. Так,

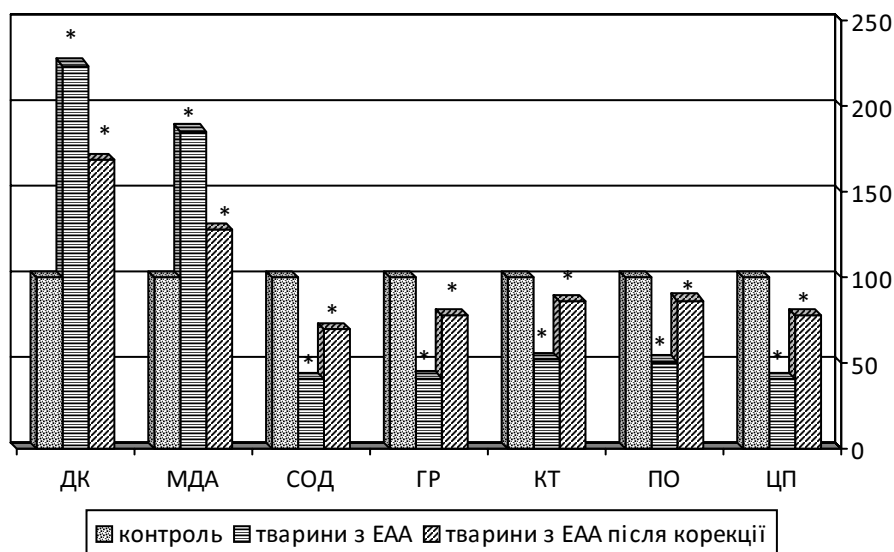


Рис. Стан про- та антиоксидантної систем у ПЛВ тварин з ЕАА та після корекції корвітином (у % від контролю) (* – ймовірна різниця порівняно з контрольною групою тварин, $p < 0,05$).

рівень ДК становив 75,3 % відносно нелікованих мурчаків ($p < 0,05$), вміст МДА складав 69,1 % відносно тварин 2-ї групи ($p < 0,05$). Такі отримані дані свідчать про те, що корвітин проявляє виражену антиоксидантну дію. Його антирадикальні властивості дозволили попередити інтенсифікацію вільнорадикальних реакцій та накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, усунули дестабілізацію ланок АОС захисту організму та розвиток розповсюдженої мембранопатії даної експериментальної моделі ЕАА.

ВИСНОВКИ. На пізніх етапах розвитку ЕАА корвітин проявляє виражену антиоксидантну дію, інгібує вільнорадикальні процеси. Усе це робить обґрунтованою і адекватною корекцію корвітином змін в імунних органах тварин у пізні періоди розвитку ЕАА. Таким чином, політропність фармакодинамічних ефектів з одночасною відсутністю побічної дії дозволяє стверджувати, що корвітин є одним з найбільш перспективних для вивчення сучасних препаратів фармакотерапії багатьох патологічних процесів, зокрема ЕАА.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдуллаев Ф. М. Иммуногенетические маркеры риска развития экзогенного аллергического альвеолита у детей и подростков Азейбарджанской популяции / Ф. М. Абдуллаев, А. А. Эюбова, Л. И. Аллахвердиева // Иммунология. – 2004. – № 2. – С. 98–100.
2. Архипова О. Г. Методы исследований в профпатологии / О. Г. Архипова. – М.: Медицина, 1988. – 230 с.
3. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин) / [Максютина Н. П., Мойбенко А. А., Мохорт Н. А. и др.]; под общ. ред. А. А. Мойбенко. – К.: Наукова думка, 2012. – 274 с.
4. Вигівська О. А. Клініко-фармакологічні властивості флавоноїду кверцетину / О. А. Вигівська, М. І. Загородний, Н. О. Горчакова // Ліки. – 2004. – № 1. – С. 8–12.
5. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме / В. Б. Гаврилов, М. И. Мышкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.
6. Добрянський С. Б. Активність супероксиддисмутазы в тимусі морських свинок за умов розвитку алергічного альвеоліту / С. Б. Добрянський // Здобутки клініч. і експерим. мед. – 2010. – № 2. – С. 123.
7. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск, 1982. – 358 с.
8. Коробейников Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейников // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
9. Косарев В. В. Экзогенный аллергический альвеолит в терапевтической и профпатологической практике семейного врача / В. В. Косарев, С. А. Бабанов // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2012. – № 1. – С. 56–63.
10. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Ленингр. ун-т, 1982. – С. 70–71.
11. Мойбенко А. А. Патогенетическое обоснование эффективности отечественного кардиопротектора Корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда / А. А. Мойбенко // Вісник фармакол. та фармац. – 2008. – № 5. – С. 38–47.
12. Орехов О. О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О. О. Орехов, Ю. А. Кириллов // Арх. патологии. – 1985. – № 10. – С. 54–61.
13. Регада М. С. Экзогенный алергічний альвеоліт / М. С. Регада. – Львів: Сполом, 2007. – 165 с.
14. Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання / М. Т. Ватутін, Т. С. Гончаренко, О. В. Склянна, С. Захма // Ліки. – 2005. – № 3–4. – С. 19–27.
15. Шмелев Е. И. Экзогенные аллергические альвеолиты / Е. И. Шмелев // Пульмонолог. и алергол. – 2003. – № 4. – С. 3–9.
16. Bozzi A. Induction of apoptosis by quercetin: different response of human chronic myeloid (K562) and acute lymphoblastic (HSB-2) leukemia cells / A. Bozzi // Mol. and Cell. Biochem. – 2007. – **296**, № 1–2. – P. 137–149.
17. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxidedismutase / R. Fried // Biochemie. – 1975. – **57**, № 5. – P. 657–660.
18. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver colase / R. Holmes, C. Masters // FEBS lett. – 1970. – **11**, № 1. – P. 45–48.

КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ АЛЬВЕОЛИТОМ

Резюме

Проведен анализ изменений показателей антиоксидантной и прооксидантной систем в паратрахеальных лимфатических узлах животных с экспериментальным аллергическим альвеолитом до и после коррекции корвитином. Установлено возрастание активности прооксидантной и снижение активности антиоксидантной систем в паратрахеальных лимфатических узлах в условиях экспериментального аллергического альвеолита и выраженное корригирующее влияние корвитина на поздних этапах развития данной патологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный аллергический альвеолит, антиоксидантная система, прооксидантная система, корвитин, паратрахеальные лимфатические узлы.

T. M. Matolinets, O. M. Matolinets
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

CORRECTION OF THE CHANGES IN THE STATE OF PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF ANIMALS WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS

Summary

The analysis of the results showed that after correction by Corvitin it was found a gradual increase in the activity of antioxidant enzymes and decreasing the level of diene conjugates and malonic dialdehyde in the paratracheal lymphadens of guinea pigs with experimental allergic alveolitis on the 94-th day of the experiment.

KEY WORDS: experimental allergic alveolitis, antioxidant system, prooxidant system, Corvitin, paratracheal lymphadens.

Отримано 11.01.13

Адреса для листування: Т. М. Матолінець, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна, e-mail: moksamat@ukr.net.

ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З ГОСТРИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Для вивчення впливу експериментального гіпотиреозу на стан ендогенної інтоксикації у щурів з гострою травмою м'яких тканин ясен було проведено визначення маркерів ендогенної інтоксикації, а також досліджено активність лізосомальних протеаз. Гіпотиреоз у тварин викликали введенням мерказолілу в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби. Запальний процес у пародонті моделювали шляхом однократного направлено впливу коливаннями ультразвукової частоти 50 кГц при експозиції впливу 60 с. Запалення в щурів з гострою травмою ясен на тлі гіпотиреозу призводило до пригнічення активності лізосомальних ферментів – катепсину D і кислій фосфатази у гомогенаті ясен та підвищення вмісту маркерів ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси й еритроцитарного індексу інтоксикації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запалення пародонта, гіпотиреоз, ендогенна інтоксикація.

ВСТУП. Останнім часом порушення функціонального стану щитоподібної залози набули значного розповсюдження. Дані літератури свідчать про часте ураження тканин організму, в тому числі пародонта, при дисфункції щитоподібної залози, а ступінь і вираження патологічного процесу залежать від тяжкості та тривалості гіпотиреозу [5, 15, 17, 19, 20]. Недостатньо вивчена роль гормонів щитоподібної залози в реалізації функціональної активності клітин імунної системи визначила актуальність вивчення особливостей перебігу запалення на фоні гіпотиреозу [11, 18]. Запальний процес, що триває на тлі гіпотиреозу як системна відповідь організму, має певні особливості формування і перебігу. Ці зміни зумовлені зниженням функціональної активності клітин, що беруть участь у формуванні запальної відповіді [9, 11, 14, 16–19]. З метою вивчення стану ендогенної інтоксикації ми використали модель запального процесу пародонта на тлі експериментального гіпотиреозу.

Оскільки стан і динаміка ендогенної інтоксикації залежать від інтенсивності катаболічних процесів в ураженій тканині й швидкості елімінації утворених продуктів [3, 13, 20], метою цієї роботи стало дослідження впливу зниженої продукції тиреоїдних гормонів на стан ендогенної інтоксикації та активність лізосомальних ферментів в організмі тварин з гострим експериментальним пародонтитом.

© Т. І. Дзецюх, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 180–200 г, отриманих з віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, відповідно до вимог Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин [6]. Тварини перебували на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Гіпотиреоз моделювали щоденним введенням *per os* за допомогою спеціального зонда фармакопейного тиреостатика мерказолілу ("Акрихин", Росія) у дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби [15]. Контроль здійснювали за рівнем тироксину, трийодтироніну і тиреотропного гормону, а також за масою тварин і їх руховою активністю. До групи порівняння входили тварини, яким мерказоліл не вводили. Вплив гіпотиреозу на перебіг запального процесу при пародонтиті вивчали на моделі запалення, викликаного гострою травмою м'яких тканин ясен [7]. Тваринам під тіопенталовим наркозом (30 мг/кг) з губної сторони до тканин пародонта нижнього різця підводили робочу головку ультразвукового генератора – випромінювач від ультразвукового скейлера ART (Великобританія), і впродовж 60 с здійснювали однократний направлений вплив коливаннями ультразвукової частоти при таких параметрах впливу, як: частота коливань – 50 кГц, потужність випромінювання – 1,2 Вт·см² при експозиції впливу 60 с. Операцію виконували на 14-ту

добу після першого введення мерказолілу. Через 1 і 8 діб після операції щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Групами порівняння слугували тварини з експериментальним гіпотиреозом і щури з гострою механічною травмою м'яких тканин ясен. Контролем був матеріал від інтактних тварин.

Ступінь вираження ендотоксемії оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові, де МСМ₁ – це вміст молекул середньої маси, визначений при довжині хвилі 254 нм, а МСМ₂ – при довжині хвилі 280 нм [1], за вираженням пошкодження еритроцитарної мембрани розраховували еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) [4].

Для приготування гомогенату зразки тканини ясен розтирали за допомогою гомогенізатора при 4 °С і суспендували в 9 об'ємах 0,25 М розчину цукрози з 0,001 М етилендіамінтетраоцтовою кислотою, рН 7,4. Сполучно-тканинні елементи, які залишились у середовищі, видаляли шляхом центрифугування (1000 об./хв протягом 3 хв) при охолодженні. Надосадову частину гомогенату ясен використовували для визначення. Активність катепсину D у гомогенаті тканини ясен визначали за методом Дингла [2] у модифікації [20] по гідролізу гемоглобіну при рН 3,2. Інкубацію проводили при 37 °С протягом 60 хв, часто струшуючи. Реакцію зупиняли, додаючи 5 % ТХУ, потім проби центрифугували протягом 15 хв. До 1 мл супернатанту додавали 0,5 N NaOH для нейтралізації ТХУ і 0,5 мл реактиву Фоліна. Активність ферменту виражали в мкМ тирозину/(мг білка·год). Концентрацію білка визначали методом Лоурі.

Активність кислій фосфатази визначали за методом Bodansky [10] з використанням набору реагентів фірми "Hospitex Diagnostix". Кисла фосфатаза каталізує гідроліз 1-нафтилфосфату до 1-нафтолу і фосфату. 1-Нафтол дає в реакції з 2-амінотолуолом комплексну сполуку – діазобарвник. Зміна забарвлення при довжині хвилі $\lambda=405$ нм пропорційна активності кислій фосфатази у зразку. Результати виражали у мкМ/(мг білка·год).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою оцінки функціонального стану щитоподібної залози при моделюванні гіпотиреозу було визначено концентрацію тиреоїдних гормонів у крові. Рівень тироксину в здорових щурів склав (18,39±0,61) пмоль/л, а у тварин, яким протягом 14-ти діб вводили мерказоліл, був нижчим у 2,2 раза і становив (8,51±0,35) пмоль/л. Вміст T₃ в інтактних щурів становив (6,27±0,23) пмоль/л, а через 14 днів з моменту

початку експерименту був в 1,9 раза меншим від показників у інтактних щурів і склав (3,2±0,086) пмоль/л. Показник ТТГ у нормі становив (1,77±0,06) мМО/л, після введення мерказолілу – (3,2±0,09) мМО/л. Це вказує на розвиток у тварин вираженого гіпотиреозу за введення мерказолілу в дозі 25 мг/кг.

Вважають, що основним токсичним субстратом, відповідальним за виникнення стадії автоагресії ендотоксикозу, можуть стати продукти клітинної дезорганізації, неповного розпаду і неферментного перетворення білків крові й тканин. Вони представлені в основному класом середньомолекулярних продуктів протеолізу й оксидативних процесів або молекул середньої маси. Підвищення рівня МСМ у крові зумовлене порушенням їх елімінації з організму, посиленням утворення в тканинах або поєднанням обох механізмів. Середньомолекулярні олігопептиди, будучи продуктами розпаду білків, діють як вторинні ендотоксини, викликаючи розлад різних фізіологічних процесів [1].

Як показали наші дослідження (табл. 1), у тварин з гіпотиреозом вміст МСМ у крові збільшувався, а також не на однаковому рівні у цих тварин перебували показники МСМ₁ і МСМ₂, що відображали, відповідно, вміст ланцюгових амінокислот (МСМ₁) і ароматичних амінокислот у середньомолекулярних пептидах і продуктах їх розпаду. Це можна пояснити особливостями метаболізму, які проявляються ймовірною активацією деградації окисномодифікованих білків, припиненням активності гідролаз, які їх розщеплюють, а також порушенням елімінації за умов дефіциту гормонів щитоподібної залози [9, 16].

Травма пародонта призводила до зростання МСМ у всі дні експерименту, при цьому спостерігали більш виражене підвищення МСМ₁, ніж МСМ₂. Так, через добу після нанесення травми ясен еутиреоїдним тваринам вміст МСМ₁ в крові щурів підвищився на 93,9 %, а вміст МСМ₂ – на 136,3 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст МСМ₁ і МСМ₂ на 8-му добу експерименту дещо зменшувався і становив 166,9 та 160,8 % від норми.

Зростання кількості МСМ в організмі тварин після травми ясен вказувало на посилення катаболічних процесів. Підвищення вмісту МСМ₁, до складу яких можуть входити олігопептиди, фрагменти нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, тригліцеролів, холестеролу, свідчило про порушення структури мембран, а МСМ₂, компонентами яких можуть бути пуринові основи, сечова кислота й ароматичні амінокислоти, – про пригнічення процесів їх елімінації [10].

Доступною для досліджень клітинних (плазматичних) мембран є еритроцитарна мембрана. Тест проникності еритроцитарних мембран, на думку багатьох авторів [4], є одним із критеріїв впливу токсичних агентів на плазматичну мембрану, оскільки всередині еритроцита відсутні органели. Порушення цілісності еритроцитарної мембрани, а також зміни властивостей поверхні ліпідного бішару та конформації білків під впливом токсичних речовин змінюють функціональну здатність еритроцитів зв'язувати різні сполуки, яка лежить в основі визначення ЕІІ.

Результати досліджень, наведені в таблиці 1, показують, що дія механічної травми порізного впливала на зазначений показник у тварин зі збереженою і зниженою функцією щитоподібної залози. На 1-шу добу експерименту ЕІІ в еутиреоїдних щурів зріс в 1,5 раза з поступовим зниженням до 8-ї доби, коли він становив 136 % від норми.

Гіпотиреоїдний стан спричинив більш суттєве зростання ЕІІ після нанесення травми ясен. Зокрема, на 1-шу добу показник становив 221 % від рівня здорових щурів, що достовірно вище як від інтактних, так і від еутиреоїдних тварин з гострим пародонтитом.

Таким чином, зниження продукування тиреоїдних гормонів призводило до посилення ендогенної інтоксикації. Причинами цього можуть бути надмірний розпад окисномодифікованих білків, а також порушення їх метаболізму, зокрема з участю лізосомальних гідролаз, і виведення даних продуктів.

Ми вивчали активність лізосомальних ферментів – катепсину D і кислій фосфатази у гомогенаті ясен, щоб перевірити одне з цих при-

пущень. Отримані результати дозволяють констатувати, що на тлі зниженого продукування тиреоїдних гормонів катаболічні процеси суттєво пригнічувалися (табл. 2). Навіть у тварин групи порівняння, в яких викликали гіпотиреоз без моделювання пародонтиту, ми зафіксували зменшення активності катепсину D на 18 % від рівня здорових щурів. Нанесення механічної травми ясен еутиреоїдним тваринам призвело до вірогідного зростання показника в 1,8 раза через добу, що можна пояснити більш масивною міграцією нейтрофілів у вогнище ураження. До 8-ї доби протеазна активність знижувалась і склала 139 % від рівня інтактних тварин. На 1-шу добу після нанесення травми щурам з гіпотиреозом активність катепсину D у гомогенаті ясен також зростала, однак була меншою на 30 % від аналогічного рівня у тварин з нормальною функцією щитоподібної залози, перевищуючи в 1,4 раза показник інтактних тварин. Звертає на себе увагу той факт, що до 8-ї доби протеазна активність знизилась на 8 % від 1-ї доби, тоді як у групі еутиреоїдних тварин ми відмітили суттєве зменшення активності катепсину D – на 29 %.

Аналогічні зміни ми відмітили у динаміці лужної фосфатази (табл. 2). В еутиреоїдних тварин з гострим пародонтитом ензимна активність складала 168 і 138 % у досліджувані нами терміни відносно інтактних тварин. У щурів з гіпотиреозом нанесення травми супроводжувалось значно меншими змінами активності ферменту. Зокрема, через добу вона складала 121 % від норми, що на 39 % менше, ніж в еутиреоїдних тварин, а до 8-ї доби активність лужної фосфатази становила 111 %

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації у щурів з гострим пародонтитом на тлі мерказоліндукованого гіпотиреозу ($M \pm m$)

іі хнкшгхп ое, вн мГнетш цТі яя	лмнхмш мГнетш цТі яя	Дві мґесі к цТі яя	Д аметр внеі уі шгм		Д аметр внеі уі шгм ові мґесі к	
			ї цВн уі Кн цТі яя	бцБн уі Кн цТі яя	ї цВн уі Кн цТі яя	бцБн уі Кн цТі яя
8 ± 8 ₁ 0,59і у9	23і 024і 70	7жі 034і ж0 едж0ж3	- 6ї 0 4ї 20і е,дж0жї	36- 024і 70 е,дж0жї	62б04і 10і е,дж0жї е ₂ дж0жб	661024і і 0 е,дж0жї е ₂ дж0жї
8 ± 8 ₂ 0,59і у9	бж7024і і 0б	63і 06460 едж0ж3	76б064і ж0 е,дж0жї	262064і 107 е,дж0жї	- 7і 034і б0 е,дж0жб е ₂ дж0жї	-- 602430б е,дж0жї е ₂ дж0жб
* л0%	69094і 0б	210і 4ж0б едж0ж3	7- 024ж0 е,дж0жї	7ж0і 4і 0б е,дж0жб	370 4і 02 е,дж0жї е ₂ дж0жї	3і 094і 07 е,дж0жб е ₂ дж0жї

Примітки. Тут і в таблиці 2:

- 1) p – достовірність різниці щурів з гіпотиреозом відносно інтактних тварин;
- 2) p_1 – достовірність різниці еутиреоїдних і гіпотиреоїдних щурів з гострим пародонтитом відносно інтактних тварин;
- 3) p_2 – достовірність різниці щурів з гострим пародонтитом на тлі гіпотиреозу відносно еутиреоїдних тварин з гострим пародонтитом у відповідні терміни дослідження.

Таблиця 2 – Показники активності лізосомальних ферментів у гомогенаті ясен щурів з гострим пародонтитом на тлі мерказоліліндукованого гіпотиреозу ($M \pm m$)

Група тварин (n = 10)	Вік (місяці)	Стать	Дослідження		Дослідження	
			Активність ферменту	Активність ферменту	Активність ферменту	Активність ферменту
Здорові щури	3	♂	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза
			мг/мл	мг/мл	мг/мл	мг/мл
Щури з пародонтитом	3	♂	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза	α-глюкозидаза
			мг/мл	мг/мл	мг/мл	мг/мл

від рівня здорових щурів (на 24 % менше від показника тварин з нормальною функцією щитоподібної залози).

ВИСНОВОК. Зниження рівня тиреоїдних гормонів супроводжується пригніченням лізо-

сомального апарату клітин, впливає на синтез і деградацію лізосомальних ферментів як в інтактній тканині, так і в пошкодженій, що може бути причиною накопичення молекул середньої маси внаслідок порушення їх подальшої деградації і виведення.

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. Дингл Дж. Методы исследования / Дингл Дж. – М.: Мир, 1980. – 344 с.
3. Леонтьева Е. А. Влияние лизосомальных соединений на функциональную активность лизосомального аппарата клетки : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук / Е. А. Леонтьева. – СПб., 2003. – 26 с.
4. Метод определения эндогенной интоксикации / [Тогайбаев А. А., Кургузкин А. В., Рикун И. В., Карибжанова Р. М.] // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
5. Москвина Т. С. Эффективность лечения пародонтита у больных с нарушением функции щитовидной железы / Т. С. Москвина // Стоматология. – 2001. – № 1. – С. 47–50.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Пат. на корисну модель 65771. Спосіб моделювання пародонтиту / Мачоган В. Р., Авдеев О. В. – 2011. – Бюл. № 23.
8. Подунай Ю. А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания среднемолекулярных пептидов в мышцах морского ерша / Ю. А. Подунай, И. Н. Залевская, И. И. Руднева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия". – 2009. – 22 (61), № 4. – С. 128–134.

9. Титов В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы // Клин. лаб. диагн. – 2003. – № 12. – С. 3–10.
10. Bodansky O. Acid phosphatase / O. Bodansky // Adv. Clin. Chem. – 1972. – 15. – P. 143–147.
11. Cellular metabolism as a basis for immune privilege / M. K. Newell, E. Villalobos-Menuet, S. C. Schweitzer [et al.] // J. Immune Based Ther. Vaccines. – 2006. – № 4. – P. 1.
12. Hypothyroidism attenuates protein tyrosine nitration, oxidative stress and renal damage induced by ischemia and reperfusion: effect unrelated to antioxidant enzymes activities. / V. M. Tenorio-Velazquez, D. Barrera, M. Franco [et al.] // BMC Nephrol. – 2005. – № 6. – P. 12.
13. Influence of membrane physical state on the lysosomal proton permeability / G. J. Zhang, H. W. Liu, L. Yang [et al.] // J. Membr. Biol. – 2000. – 175 (1). – P. 53–62.
14. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine, contributes to the pathogenesis of non-thyroidal illness mainly via the central part of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis / A. Boelen, J. Kwakkel, M. Platvoet-ter Schiphorst [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2004. – 151, № 4. – P. 497–502.
15. Isman C. A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C. A. Isman, B. C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – 177, № 3. – P. 471–476.
16. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidism / K. Asayama, K. Dobashi, H. Hayashibe [et al.] // Endocrinology. – 1987. – 121, № 2. – P. 112–118.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

17. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes / E. Mezosi, J. Szabo, E. V. Nagy [et al.] // J. Endocrinol. – 2005. – **185**, № 1. – P. 121–129.

18. Rao M. K. Extracellular metabolism of thyroid hormones by stimulated granulocytes / M. K. Rao, A. L. Sagone // Infect. Immun. – 1984. – **43**, № 3. – P. 846–849.

19. Thyroid hormone regulation of cell migration and oxidative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy / F. Marino, L. Guasti, M. Cosentino [et al.] // Life Sci. – 2006. – **78**, № 10. – P. 1071–1077.

20. Wiederanders B. Accumulation of inactive cathepsin D in old rats / B. Wiederanders, B. Oelke // Mech. Ageing Dev. – 1982. – **24**, № 3. – P. 265–271.

Т. И. Дзецюх

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС С ОСТРЫМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Резюме

С целью изучения влияния экспериментального гипотиреоза на состояние эндогенной интоксикации у крыс с острой травмой мягких тканей десен было проведено определение маркеров эндогенной интоксикации, а также исследовано активность лизосомальных ферментов. Гипотиреоз у животных вызывали введением мерказолила в дозе 25 мг/кг в течение 21-х суток. Воспалительный процесс в пародонте моделировали путем однократного направленного воздействия колебаниями ультразвуковой частоты 50 кГц при экспозиции воздействия 60 с. Воспаление у крыс с острой травмой десен на фоне гипотиреоза приводило к угнетению активности лизосомальных ферментов – катепсина D и кислой фосфатазы в гомогенате десен и повышению содержания маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы и эритроцитарного индекса интоксикации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспаление пародонта, гипотиреоз, эндогенная интоксикация.

T. I. Dzetsiukh

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH AN ACUTE PARODONTITIS AGAINST THE BACKGROUND OF MERCAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

Summary

In order to study the effects of experimental hypothyroidism on the endogenous intoxication condition in rats with an acute injury of the soft gum tissues, the determination of endogenous intoxication markers was conducted and the activity of lysosomal enzymes was analyzed. Hypothyroidism in rats was caused by the injection of Mercazolil in dose of 25 mg/kg over a 21-day period. Inflammation in parodontium was modelled by a single directed influence with the vibrations of ultrasonic frequency of 50 kHz at the exposure of influence of 60 sec. Inflammation in rats with an acute injury of the gum tissues against the background of hypothyroidism resulted in the decreased activity of lysosomal enzymes – Cathepsin D and acid phosphatase in gum homogenate and increased content of endogenous intoxication markers – molecules of average weight and erythrocytic index of intoxication.

KEY WORDS: parodontal inflammation, hypothyroidism, endogenous intoxication.

Отримано 04.01.13

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

ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН ПРИ ХРОНІЧНОМУ ПРОСТАТИТІ Й ДОБРОЯКІСНІЙ ГІПЕРПЛАЗІЇ НА ФОНІ ОДНОЧАСНОГО ВПЛИВУ ТОКСИЧНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ

В експерименті на нелінійних білих щурах із хронічним простатитом з доброякісною гіперплазією передміхурової залози за допомогою біохімічних методів проведено дослідження показників синдрому ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету. Встановлено поглиблення ендогенної інтоксикації організму та активацію гуморальної ланки імунітету, інтенсивність яких домінує при додатковому введенні токсичного екстракту протягом 8-ми діб спостереження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний простатит з доброякісною гіперплазією передміхурової залози, токсичний екстракт, ендогенна інтоксикація, гуморальна ланка імунітету.

ВСТУП. Одними з найбільш поширених захворювань чоловіків є хронічний простатит (ХП) та доброякісна гіперплазія передміхурової залози (ДГПЗ). При цьому ХП складає, за різними даними, від 20 до 70 % урологічної патології у чоловіків [7]. Вплив ХП на якість життя можна порівняти з інфарктом міокарда, що зумовлює значні психологічні та соціальні проблеми у хворих працездатного віку. Потрібно відмітити, що на сьогодні це захворювання все частіше діагностують в осіб молодого та середнього віку (85 %) [1].

Поруч із ХП серйозну проблему для багатьох чоловіків становить ДГПЗ. За сучасними уявленнями, однією з головних причин формування ДГПЗ є простатит [12, 15]. Саме останній, на думку О. Б. Лоран і співавт. [8], складає патофізіологічне і морфологічне підґрунтя цієї патології. Так, на думку А. Л. Шабад і співавт. (1982) та А. В. Сивкова і співавт., 100 % чоловіків перенесли в минулому або у них встановлено при обстеженні простатит [9–11]. ДГПЗ спостерігають у віці 40–49 років у 13,8 % чоловіків, у віці 60–69 років – у 43 %, а до 80-річного віку її поширеність сягає 81,4 % [13]. У хворих із ДГПЗ значно знижується якість життя, насамперед у зв'язку з еректильною дисфункцією.

Зважаючи на те, що експериментальний патологічний процес у вигляді ХП і ДГПЗ створює передумови для розвитку дисфункції на

© І. М. Кліщ, В. Я. Хорош, 2013.

рівні імунного гомеостазу, перш за все через порушення структури та функції залози і клітин імунітету системи, наприклад у вигляді автогенної інтоксикації, підвищеного антигенного навантаження за рахунок деструкції тканинних білків та їх ферментного автолізу [16, 17], важливим, з огляду на патогенез експериментальної патології, є виявлення особливостей взаємозв'язку наведених порушень із проявами інтоксикаційного синдрому.

Тому метою даного дослідження було вивчити зміни показників ендогенної інтоксикації і гуморального імунітету в щурів при простатиті й доброякісній гіперплазії на фоні одночасного впливу токсичного ксенодермального екстракту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 78 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 190–245 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Утримування тварин та експерименти проводили відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [14].

Усіх лабораторних тварин умовно було поділено на чотири групи. До 1-ї групи ввійшло 6 інтактних щурів (1-ша контрольна група); 2-гу дослідну групу склали 12 щурів з експериментальним ХП із ДГПЗ без додаткового

впливу токсичного чинника, поділених на дві підгрупи залежно від часу спостереження: 2-а – на 2-гу добу, 2-б – на 8-му добу (2-га контрольна група); до 3-ї дослідної групи ввійшло 12 тварин з експериментальним ХП із ДГПЗ на фоні додаткового впливу токсичного чинника, поділених на три підгрупи залежно від часу спостереження: 3-а – на 2-гу добу, 3-б – на 8-му добу.

ХП із ДГПЗ ініціювали кастрацією щурів-самців з одночасним підшкірним введенням упродовж 21-ї доби ампульного тестостерону в дозі 1 мг/кг маси із додатковим підшкірним введенням стандартизованої токсичної субстанції у вигляді водного екстракту ксеногенного субстрату кріоліофілізованої шкіри свині тваринам 3-ї дослідної групи. Останній, з метою надання йому токсичних властивостей, витримували у сухожаровій шафі при 350 °С впродовж 90 хв, після чого до 10 г термічно обробленого субстрату в колбі додавали 60 мл дистильованої води і витримували при 20 °С протягом 4 год, потім центрифугували при 1500 об.·хв⁻¹ упродовж 30 хв. Отриманий надосад стандартизували за вмістом амінів до рівня 10 г/л. Додатково двічі з інтервалом у 3 дні підшкірно вводили стандартизований водний екстракт токсичної субстанції термічно обробленої ксеношкіри в дозі 1 мл/кг. На 2-гу і 8-му доби від початку експерименту піддослідних тварин під ефірним наркозом виводили з експерименту, забирали кров на дослідження. Ступінь вираження ендogenousного токсичного синдрому оцінювали за вмістом у сироватці крові МСМ на двох максимумах довжин хвиль та еритроцитарного індексу інтоксикації (EII) [2, 5]. Вміст імуноглобулінів визначали спектрофотометричним методом з використанням наборів діагностичних моноспецифічних сироваток, вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у крові – спектрофотометричним методом [3].

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході аналізу представлених цифрових параметрів встановлено, що при ХП із ДГПЗ, як і при деяких інших патологічних процесах, активуються катаболічні процеси, знижується детоксикаційна здатність організму, утворюються проміжні продукти протеолізу – пептиди середньої молекулярної маси, збільшується вміст ендотоксинів і розвивається синдром “метаболічної

інтоксикації”, який супроводжується пригніченням адаптаційних можливостей [6]. Із наведених у таблиці 1 даних видно, що при відтворенні ХП і ДГПЗ як відомим способом, так і при додатковому введенні токсичного екстракту має місце помітне підвищення вмісту МСМ₁ і МСМ₂, досягаючи при цьому максимального рівня у дослідній групі 3-а (p<0,001). Звертає на себе увагу дещо різний характер змін досліджуваних показників у 2-й і 3-й експериментальних групах. Так, на 8-му добу в щурів з ХП і ДГПЗ, відтвореними за усталеною методикою, МСМ₁ мали тенденцію до зростання, а МСМ₂ істотно перевищували на 38,9 % аналогічні показники у 2-й контрольній групі (p<0,001). У тварин 3-ї дослідної групи на 8-му добу експерименту відмічали тенденцію до зниження МСМ₁, а також достовірне зменшення МСМ₂ на 19,5 % стосовно 2-ї групи (p<0,001).

Порівнюючи отримані дані щодо вмісту МСМ на двох максимумах довжин хвиль, можна говорити про односпрямовані їх зміни, які характеризуються наростанням ендogenousної інтоксикації при моделюванні ХП і ДГПЗ відомим способом, тоді як за умови додаткового введення токсичного екстракту має місце стабілізація метаболічних порушень на 8-му добу при початковому зростанні на 2-гу добу експерименту. Потрібно також відмітити достовірно вищі показники ендogenousної інтоксикації у тварин 3-ї групи порівняно з 2-ю дослідною групою, що свідчить про залежність вказаних показників від індукованого екстрактом ксеношкіри стану інтоксикації організму як цілого.

У ході аналізу наведених цифрових параметрів EII встановлено, що при відтворенні ХП і ДГПЗ на 2-гу добу відомим способом даний показник зріс на 9,7 % (p<0,02), при додатковому введенні токсичного екстракту підвищився на 22,0 % (p<0,001) порівняно з 1-ю контрольною групою та практично не змінювався протягом спостереження (табл. 1).

Показники системи гуморального імунітету вивчали у всіх дослідних групах (табл. 2). Істотне збільшення вмісту в крові імуноглобулінів, зокрема Ig A, Ig G та Ig M, відмічено в обох піддослідних групах тварин. При цьому зростання вмісту всіх названих класів імуноглобулінів спостерігали вже на 2-гу добу, що вказувало на високий рівень чутливості гуморальної ланки імунітету до патологічних змін у передміжуровій залозі.

Як і названим вище динамічним змінам у системі імунного захисту, коливанням концентрації показників імуноглобулінів у крові тварин обох піддослідних груп притаманний фазовий характер. Так, вміст імуноглобулінів

Таблиця 1 – Динаміка змін показників ендogenousної інтоксикації у лабораторних тварин у процесі формування експериментального ХП із ДГПЗ (M±m)

та і (N, m) д	Досліди на гогргууд				
	-Сі дау оаЕкуі ду і) уі дослі д	Кт дн Дг (д			
		н=2 дау оаЕкуі дослі д	н= дзцО,д	н= дзцО,д	е= пдланЕкуі дослі д
6 76 1д	e4- 8±- 084д	09081±98д o _{1-2-a} <585- д	45e8±p8 д o ₁₋₂₋₆ <585- д o _{2-a-2-6} 3584д	/e08±098д o _{1-3-a} <585- д o _{2-a-3-a} <585- д o _{2-6-3-a} <585- д	o/ o8±98д o ₁₋₃₋₆ <585- д o ₂₋₆₋₃₋₆ <585- д o _{3-a-3-6} 3584д
6 76 2д	n508±- - 8д	e5/ 8±- 584д o _{1-2-a} <585- д	45e8±- 58д o ₁₋₂₋₆ <585- д o _{2-a-2-6} <585- д	4e08±08д o _{1-3-a} <585- д o _{2-a-3-a} <585- д o _{2-6-3-a} <585- д	00/ 8±- n8д o ₁₋₃₋₆ <585- д o ₂₋₆₋₃₋₆ <585- д o _{3-a-3-6} <585- д
>8д	e58±58д	e08±58д o _{1-2-a} <58д	ee8±- 8д o ₁₋₂₋₆ <58д o _{2-a-2-6} 3584д	e/ 8±58д o _{1-3-a} <585- д o _{2-a-3-a} <58д o _{2-6-3-a} <58д	e/ 8±- 8д o ₁₋₃₋₆ <585- д o ₂₋₆₋₃₋₆ <58д o _{3-a-3-6} 3584д

Примітка. Тут і в таблиці 2: р – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

взятих у дослідження класів, як видно з даних таблиці 2, максимального рівня досягав на 8-му добу: концентрація їх у крові тварин з ХП і ДГПЗ без додаткового впливу токсичного екстракту складала 212,0, 112,2 і 135,1 % для Ig A, Ig G та Ig M відповідно. Натомість у групі щурів з додатковим впливом токсичного екстракту в аналогічні терміни (8-ма доба) збільшення вмісту імуноглобулінів було істотно вищим, ніж у 1-й контрольній групі тварин, а саме 544,4, 128,3 і 182,0 % для Ig A, Ig G та Ig M відповідно (p<0,001). Варто відмітити, що концентрація імуноглобулінів у щурів за умови моделювання ХП і ДГПЗ при додатковому введенні токсичного екстракту на 2-гу та 8-му доби експерименту була значно вища, ніж при моделюванні відомим способом (p<0,02).

Отже, встановлені зміни вказують на гіперреактивність В-клітин, що проявлялася вірогідним збільшенням вмісту сироваткових

імуноглобулінів, викликаючи пошкодження органів внаслідок утворення ЦІК. Утворення ЦІК та їх елімінація з організму спрямовані на підтримку імунобіологічного гомеостазу, але за певних умов ЦІК можуть викликати запальну реакцію, що є важливою ланкою патогенезу імуного ураження органів та тканин організму [3, 4].

Як видно з рисунка, вміст ЦІК в сироватці крові щурів усіх груп спостереження зріс, досягнувши максимального рівня на 8-му добу. Так, у крові тварин із ХП і ДГПЗ без додаткового впливу токсичного екстракту він перевищував на 87,9 %, у групі тварин з додатковим впливом токсичного екстракту в аналогічний термін – на 106,9 % дані 1-ї контрольної групи тварин (p<0,001).

Виявлене збільшення продукції токсичних продуктів в організмі щурів із ХП і ДГПЗ призводило до деструкції клітинних мембран

Таблиця 2 – Динаміка змін показників системи гуморального захисту лабораторних тварин у процесі формування експериментального ХП із ДГПЗ (M±m)

с йнкбмІН	Структурний етелемвн				
	±30 кНім тй29мк нм кН мкндрукн 38465н	оснбн Ссфн			
		язкнНім тй29мкндрукн		, з вніи29 мкндрукн	
		язкн8465н	язлн8465н	, зкн8465н	, злн8465н
ім(н	±п- ахпн	, п) -ахпн	, гб-ахпн	, пяхахпн	6п - ахпн
	т _{1-2-a} Пхпх±н	т ₁₋₂₋₆ Пхпх±н	т _{2-a-2-6} Г хпх-н	т _{1-3-a} Пхпх±н	т ₁₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-a-3-a} Г хпх-н	т ₂₋₆₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-6-3-a} Пхпх±н	т _{3-a-3-6} Пхпх±н
імГн	6п-8ахпн	- п) хахпн	- п) 8ахпн	- г68ахпн	8п) 8ахпн
	т _{1-2-a} Пхпх±н	т ₁₋₂₋₆ Пхпх±н	т _{2-a-2-6} Г хпх-н	т _{1-3-a} Пхпх±н	т ₁₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-a-3-a} Г хпх-н	т ₂₋₆₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-6-3-a} Г хпх-н	т _{3-a-3-6} Пхпх±н
імМн	, пяхахпн) п) ахпн) п) 8ахпн	, п) ахпн	- п) хахпн
	т _{1-2-a} Пхпх±н	т ₁₋₂₋₆ Пхпх±н	т _{2-a-2-6} Г хпх-н	т _{1-3-a} Пхпх±н	т ₁₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-a-3-a} Пхпх±н	т ₂₋₆₋₃₋₆ Пхпх±н
				т _{2-6-3-a} Г хпх-н	т _{3-a-3-6} Пхпх±н

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

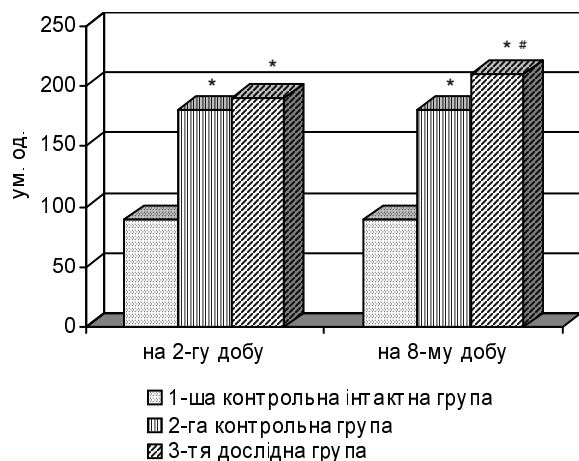


Рис. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів при простатиті й доброякісній гіперплазії на фоні одночасного впливу токсичного ксенодермального екстракту (* – достовірність відмінностей між 1-ю контрольною та іншими групами ($p < 0,01$); # – достовірність відмінностей між 2-ю контрольною та 3-ю дослідною групами ($p < 0,05$)).

та посилення гуморальної ланки імунітету. На це вказувало підвищення концентрації ЦІК та імуноглобулінів класів А, М, G у сироватці крові уражених тварин.

Отже, підводячи підсумок даної частини дослідження, слід зазначити, що фактор додаткового токсичного впливу на організм піддослідних тварин, як такий, що містить продукти

розпаду біологічних сполук у вигляді водного екстракту термічно денатурованої кріоліофілізованої ксеношкіри, спричиняє розвиток синдрому ендогенної інтоксикації та активацію гуморальної ланки імунної системи у щурів за умови ХП із ДГПЗ. Наведені порушення в організмі лабораторних тварин при досліджуваній патології у цілому мають адаптаційний характер із збереженою спроможністю до відновлення.

ВИСНОВКИ. 1. У тварин за умови експериментального хронічного простатиту з доброякісною гіперплазією передміхурової залози розвивається синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчить зростання її маркерів – молекул середньої маси (MCM_1 , MCM_2) та еритроцитарного індексу інтоксикації.

2. Показано, що при досліджуваних патологіях активується гуморальна ланка імунної системи, що проявляється зростанням вмісту імуноглобулінів класів А, М і G та циркулюючих імунних комплексів у периферійній крові.

3. При зіставленні показників ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету в щурів з хронічним простатитом із доброякісною гіперплазією передміхурової залози виявлено істотно вищі їх рівні за умови додаткового введення токсичного екстракту протягом 8-ми днів спостереження ($p < 0,02$).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бардов П. В. Комплексна терапія хронічного простатиту й простатовезикуліту, ускладнених порушенням копулятивної та репродуктивної функцій / П. В. Бардов, О. І. Літус, В. І. Степаненко // Укр. журн. дерматології, венерології, косметології. – 2002. – № 1. – С. 86–91.
2. Гаврилов В. Б. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра / В. Б. Гаврилов, Н. Ф. Лобко, С. В. Конев // Клини. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 3. – С. 12–16.
3. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – Одеса : АстроПринт, 1999. – С. 240–243.
4. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. – Вінниця : Нова книга, 2006. – С. 267–275.
5. Корякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Корякина, С. В. Белова // Клини. лаб. диагн. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
6. Куриліна Т. В. Патогенетичні механізми формування перинатальної патології у доношених ново-

народжених за умов звичного невиношування вагітності у матерів / Т. В. Куриліна // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2006. – № 1. – С. 5–8.

7. Лопаткин Н. А. Урология : национальное руководство / Н. А. Лопаткин. – М. : ГЭОТАР – Медиа, 2009. – С. 852–853.

8. Лоран О. Б. Хронический простатит / О. Б. Лоран, А. С. Сегал // Материалы X Рос. съезда урологов. – М., 2002. – С. 209–222.

9. Морфологические изменения в ткани предстательной железы больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы при лечении Пермиксоном / А. В. Сивков, Ю. В. Кудрявцев, А. А. Медведев [и др.] // Урология. – 2004. – № 5. – С. 10–16.

10. Сивков А. В. Применение α_1 -адреноблокаторов у больных хроническим простатитом / А. В. Сивков, В. Н. Ощепков, А. А. Егоров // Consilium medicum. – 2002. – № 4. – С. 385–390.

11. Сивков А. В. Терапия хронического абактериального простатита / А. В. Сивков, В. Н. Ощепков, А. А. Егоров // Материалы пленума Правления Российского общества урологов. – Саратов, 2004. – С. 42.

12. Шатов А. В. Магнитно-резонансная томография в диагностике клинически локализованного рака предстательной железы /А. В. Шатов, Н. А. Огнерубов // Урология. – 2004. – № 3. – С. 25–30.

13. Яковлева Л. В. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози, діагностика і лікування (огляд літератури) / Л. В. Яковлева, Н. Я. Музика // Клін. фармація. – 2009. – **13**, № 4. – С. 66–70.

14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

15. Lefaucheur J. P. Assesment of penile small nerve fiber damage after l transurethral resection of the

prostate by measurement of penile thermal sensation / J. P. Lefaucheur, R. Yiou, L. Salamon // J. Urol. (Baltimore). – 2000. – **164**, № 4. – P. 1416–1419.

16. Pharmacological effects of the lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on rat prostate hyperplasia induced by hyperprolactinemia: comparison with finasteride / F. Van Coppenole, X. Le Bourhis, F. Carpentier [et al.] // Prostate. – 2000. – **43**, № 1. – P. 49–58.

17. Truss M. Steroid hormone receptors/ interaction with disoxyribonucleic acid and transcription factors / M. Truss, M. Beato // Endocr Rev. – 1993. – **14**. – P. 459–479.

И. Н. Клищ, В. Я. Хорош

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЖИВОТНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПРОСТАТИТЕ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ НА ФОНЕ ОДНОВРЕМЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧЕСКОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО ЭКСТРАКТА

Резюме

В эксперименте на нелинейных белых крысах с хроническим простатитом с доброкачественной гиперплазией предстательной железы с помощью биохимических методов проведено исследование показателей синдрома эндогенной интоксикации и гуморального иммунитета. Установлено углубление эндогенной интоксикации организма и активацию гуморального звена иммунитета, интенсивность которых доминирует при дополнительном введении токсического экстракта в течение 8-ми суток наблюдения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический простатит с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, токсический экстракт, эндогенная интоксикация, гуморальное звено иммунитета.

I. M. Klishch, V. Ya. Khorosh

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND HUMORAL IMMUNITY IN ANIMALS AT CHRONIC PROSTATITIS AND BENIGN HYPERPLASIA ON THE BACKGROUND OF SIMULTANEOUS INFLUENCE OF TOXIC XENODERMAL EXTRACT

Summary

The endogenous intoxication syndrome and humoral immunity criteria were studied in the experiment on nonlinear white rats with chronic prostatitis together with benign prostatic hyperplasia, using biochemical methods. It was established the increasing of endogenous intoxication and activation of humoral immunity indices, which dominates in animals with additional toxic extract introduction during the 8 days of experiment.

KEY WORDS: chronic prostatitis with benign prostatic hyperplasia, toxic extract, endogenous intoxication, humoral immunity.

Отримано 11.12.12

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

**ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ АМІНОКИСЛОТ L-ОРНІТИНУ ТА L-АРГІНІНУ
НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО
ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ**

В умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном у дозі 2 мл·кг⁻¹ маси тіла у піддослідних тварин відмічають розвиток ниркової недостатності, що проявляється зниженням добового діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, підвищенням вмісту креатиніну як у сироватці крові, так і в сечі та зменшенням рівня його екскреції. Застосування з корегувальною метою L-орнітину (1000 мг·кг⁻¹) та L-аргініну (500 мг·кг⁻¹) супроводжується вираженим позитивним впливом на функціональний стан нирок, найбільшу ефективність якого спостерігають при поєднаному використанні.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тетрахлорметан, печінка, нирки, L-орнітин, L-аргінін.

ВСТУП. Незважаючи на значні успіхи в галузі сучасної гепатології, проблема лікування токсичних уражень печінки є складною і, в ряді випадків, далекою від ефективного вирішення. У патогенезі інтоксикацій першочергово розвивається патологія гепатобіліарної системи, оскільки печінка є центральним органом, який забезпечує процеси детоксикації організму, а нирки – виділення енд- та екзогенних токсинів [12]. Зменшення виділення токсичних метаболітів, пов'язане з ураженням паренхіми нирки, призводить до їх затримки в організмі й поглиблення інтоксикації, що сприяє розвитку гострої або хронічної печінково-ниркової недостатності. Клінічні прояви поєднаного токсичного ураження печінки й нирок зустрічаються більше ніж у 30 % випадків гострих отруєнь [11, 12]. Зниження ефективності механізмів, які забезпечують водно-сольовий гомеостаз в умовах гострого токсичного гепатиту, залежить від тяжкості патологічних змін паренхіми печінки. Тому зміни функціонального стану нирок є супутнім і одним з ранніх діагностичних критеріїв функціональної недостатності печінки.

Перспективним напрямком корекції токсичного ураження печінки вважають використання препаратів на основі природних амінокислот, які, включаючись у процеси метаболізму, мають позитивний вплив на відновлення

© О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима, В. Є. Городецький, 2013.

функцій печінки. Ефективність застосування L-орнітину та L-аргініну при патології печінки показано у ряді праць [8, 13]. Однак функціональні відхилення нирок на тлі інтоксикації тетрахлорметаном вивчено недостатньо, немає даних про ефективність поєднаного використання вищевказаних біологічно активних субстанцій.

Метою даної роботи було оцінити вплив L-аргініну та L-орнітину на показники функціонального стану нирок в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Терапевтичний вплив амінокислот L-орнітину та L-аргініну на функціональний стан нирок при токсичному гепатиті вивчено на 40 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Тварин поділили на п'ять груп: 1-шу групу склали контрольні тварини, в яких імітували отруєння тетрахлорметаном та лікувальні впливи шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину хлориду натрію; 2-гу – щури, в яких моделювали гострий токсичний гепатит шляхом одноразового внутрішньочеревного введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 2 мл·кг⁻¹ маси тіла тварини [4] та імітували лікувальний вплив шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину; в 3-й групі через добу після моделювання гепатиту протягом 7-ми днів внут-

рішньочередно проводили корекцію розчином L-орнітину в дозі 1000 мг·кг⁻¹ [9]; у 4-й – розчином L-аргініну в дозі 500 мг·кг⁻¹ [10]; у 5-й – комбінували обидва препарати.

На 8-му добу від початку корекції досліджували функціональний стан нирок методом водного навантаження [3]. Після забору сечі під тіопентало-натрієвим знеболюванням, відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), проводили забій щурів методом тотального кровопускання із серця і виконували біохімічні дослідження сироватки крові: визначали концентрацію іонів натрію, калію та креатиніну. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Провідним порушенням недостатності функції нирок є зниження добового діурезу та клубочкової фільтрації з розвитком ретенційної азотемії, що характеризується підвищенням концентрації в сироватці крові креатиніну і зменшенням рівня його екскреції (табл.), що лежить в основі розвитку синдрому інтоксикації [1]. Так, згідно з результатами проведених досліджень, на 8-му добу після введення піддослідним щурам тетрахлорметану добовий діурез знизився стосовно контрольної групи на 40,37 % (p<0,001),

швидкість клубочкової фільтрації – на 54,51 % (p<0,001), а вміст креатиніну в сироватці крові збільшився в 1,5 раза (p<0,001). При цьому рівень креатиніну в сечі зріс на 13,77 % (p<0,001), а екскреція креатиніну знизилась в 1,5 раза (p<0,001) щодо контрольної групи тварин. Отримані результати вказують на виражене порушення функціонального стану нирок на тлі інтоксикації тетрахлорметаном, що підтверджує дослідження інших авторів [9].

При корекції даного патологічного стану амінокислотними субстанціями L-орнітином та L-аргініном відмічали покращення функціонального стану нирок. Так, семиденне введення піддослідним тваринам L-орнітину сприяло статистично достовірному підвищенню рівня добового діурезу на 33,15 % (p<0,001) стосовно групи тварин з гепатитом, проте даний показник залишався на 20,60 % нижчим, ніж у щурів контрольної групи (p<0,001). Після введення L-аргініну добовий діурез у пролікованих особин зріс на 16,87 % (p<0,01) щодо тварин з гепатитом, при цьому залишаючись на 30,31 % (p<0,01) меншим стосовно щурів контрольної групи. Поєднане введення L-орнітину та L-аргініну призвело до найбільш вираженої нормалізації добового діурезу: даний показник функціональної здатності нирок зріс на 46,17 % (p<0,01) стосовно групи тварин з гепатитом та залишався на 12,83 % (p<0,001) нижчим, ніж у щурів контрольної групи.

Таблиця – Вплив L-орнітину та L-аргініну на фільтраційну здатність нирок і добовий діурез (з розрахунку на 100 г маси тварини) в умовах гострого токсичного гепатиту (M±m)

Група хрв	оГаиГкзв нцетів	яСуиуиив нцедів	яСуиуииз 60ГПамхав нцелів	яСуиуииз 60УПьав нцелів	яСуиуииз рГ(1ауе)в нцетів
шОПЮт(ркю5 ¹ в	±л7т847тв	337г847й###в	3й76847й###22в	3д76847л±###22в	±373847г##222в
А5хсрфизрк91Г.рГ5Г ¹ в	636783д7в	гй±78г476###в	36/78г37###22в	3г378л7д###в	±3т78347и#222в
ТмжиПусм(ркю5 ¹ в				П,ч47дв	П,ч47гв П,ч474гв
оПСуиуама нфГГ5уиру7 (рГкзю ¹ в	лг7/483д±в	г4/7д8±7###в	г4г7/837###в	г4т7/837###в	т±7837###222в
				П,ч47дв	П,ч474гв П,ч474гв
оПСуиуама нфС.уі7 (рГкзю ¹ в	тгг7д8гд7в	й3678гл7и###в	тбд7л83т7±2в	тй±78г67###в	т±7/83г7/22в
				П,ч47дв	П,ч474гв П,ч474гв
ІррГСеміерГСуиуама97 (рГкзю5 ¹ в	47±48474г гв	47348474г###в	473д8474г##22в	473±8474г###в	473л8474г222в
				П,ч47дв	П,ч474гв П,ч474гв

Примітки:

1) # – вірогідність відмінностей показників стосовно тварин контрольної групи (# – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001);

2) * – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001);

3) р₁ – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом, корегованим L-орнітином;

4) р₂ – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом, корегованим L-аргініном.

При порівнянні ефективності корегувальних чинників було встановлено, що на тлі застосування L-орнітину діурез виявився статистично достовірно вищим, ніж після L-аргініну (на 12,22 %, $p_1 < 0,01$). Після комбінації досліджуваних субстанцій величина діурезу була істотно більшою, ніж після самого L-орнітину (на 9,78 %, $p_1 < 0,05$) та L-аргініну (на 25,07 %, $p_2 < 0,001$).

Подібні результати отримано при оцінці швидкості клубочкової фільтрації в уражених тварин після проведеної корекції вищевказаними біологічно активними речовинами. Так, парентеральне введення L-орнітину призвело до покращення рівня даного показника на 27,46 % ($p < 0,01$) стосовно такого у нелікованих щурів, при цьому він залишався в 1,7 рази ($p < 0,01$) нижчим від норми для даної популяції особин. Звертає на себе увагу той факт, що застосування L-аргініну з метою стабілізації даного показника не дало видимого результату: швидкість клубочкової фільтрації у щурів з гострим токсичним гепатитом, пролікованих даною субстанцією, залишалася практично у 2 рази ($p < 0,001$) нижчою, ніж у тварин контрольної групи. При використанні комбінації біологічно активних речовин L-орнітину та L-аргініну відмічали найбільш повне відновлення швидкості клубочкової фільтрації у пролікованих щурів, зокрема покращення її на 70,25 % ($p < 0,001$) стосовно тварин з гепатитом, що було на 22,55 % ($p < 0,05$) менше, ніж у тварин контрольної групи.

Рівень креатиніну сироватки крові, який достовірно підвищився після введення отрути, зменшувався лише після поєданого застосування вищевказаних амінокислот (на 22,06 %, $p < 0,001$), при цьому залишався на 15,92 % ($p < 0,01$) нижчим від норми. Щодо креатиніну сечі видимий достовірний ефект на його рівень відмічали після використання самого L-орнітину (на 8,50 %, $p < 0,05$) та в комплексі з L-аргініном (на 9,52 %, $p < 0,01$), при цьому даний показник достовірно не відрізнявся від норми. За ефективністю впливу на екскрецію креатиніну досліджувані субстанції розподілилися так: L-аргінін (достовірних змін, порівняно з нелікованими тваринами, не відзначали) < L-орнітин (підвищилась в 1,25 рази, $p < 0,01$) < комбінація (зросла в 1,35 рази, $p < 0,001$). Після введення L-орнітину екскреція креатиніну була в 1,2 рази ($p < 0,01$) нижчою, ніж у тварин контрольної групи, а після введення комбінації субстанцій – достовірно не відрізнялася від норми.

Отже, в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном виникають істотні порушення функціонального стану нирок, прояв яких зни-

жується на тлі застосування амінокислот L-орнітину та L-аргініну. Отримані результати узгоджуються з результатами наших попередніх досліджень, які довели, що використання даних субстанцій на тлі гострої тетрахлорметанової інтоксикації сприяло пригніченню пероксидного окиснення ліпідів, стимуляції активності супероксиддисмутази, забезпечувало протекторний вплив на витрати SH-груп та сприяло покращенню функціонального і морфологічного стану клітин печінки [6]. Оцінивши ступені вираження патологічних змін клітин печінки та нирок у цих експериментальних умовах, варто відмітити, що поєдане застосування L-орнітину та L-аргініну супроводжувалося більшим ефектом. Дані результати свідчать про те, що обидві амінокислоти, задіяні в орнітиновому циклі синтезу сечовини, забезпечують утилізацію аміаку, тим самим зменшуючи токсичний вплив останнього на організм і попереджуючи розвиток печінкової енцефалопатії та гострої ниркової недостатності [5]. Крім того, L-орнітин з участю орнітиндекарбоксілази перетворюється в путресцин, на основі якого синтезуються спермідин і спермін, що містяться в усіх клітинах органів і локалізовані в основному в ядрі. Вони входять до складу хроматину і беруть участь в реплікації ДНК, концентрація їх значно збільшується в період активного поділу клітин та росту тканин, саме завдяки цьому він проявляє виражений регенераторний ефект. Проте, на думку багатьох учених [7], даний вплив можливий тільки при нормалізації печінкової гемодинаміки, що в цьому випадку можливо завдяки стимуляції синтезу оксиду азоту (NO) в ендотеліоцитах [2]. Фізіологічна роль останнього полягає в релаксації гладкої м'язової тканини у складі кровоносних судин, чим і покращуються мікроциркуляція та кровообіг печінки і нирок. Зв'язувальною ланкою між орнітиновим циклом та циклом оксиду азоту вважають амінокислоту L-аргінін, яка є безпосереднім попередником L-орнітину та субстратом для NO-синтази – ферменту, що каталізує синтез оксиду азоту (NO). У результаті можна припустити, що амінокислоти L-аргінін і L-орнітин є синергістами, потенціюють дію одна одної, а їх поєдане застосування призводить до найбільшої нормалізації структурної та функціональної здатності уражених тетрахлорметаном як печінки, так і нирок.

ВИСНОВКИ. 1. На тлі гострого токсичного ураження тетрахлорметаном внутрішньочеревно у дозі $2 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$ маси тіла через 8 діб відмічають зниження добового діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, підвищення вмісту

креатиніну як у сироватці крові, так і в сечі та зниження рівня його екскреції, що свідчить про розвиток ниркової недостатності у піддослідних щурів.

2. Корегувальне застосування L-орнітину в дозі 1000 мг·кг⁻¹ і L-аргініну в дозі 500 мг·кг⁻¹ та їх поєднання сприяють стабілізації і відновленню функціональної здатності нирок. За ефективністю впливу на функціональний стан нирок в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном досліджувані субстанції розподілилися так: L-аргінін < L-орнітин < комбінація.

3. Однонаправленість гепато- і нефропротекторного впливу досліджуваних субстанцій вказує на універсальність їх впливу на патогенну дію тетрахлорметану та перспективність використання в умовах гепатитів різного походження.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати щодо сумісної дії L-аргініну та L-орнітину як стабілізаторів функціональної здатності нирок при токсичному ураженні тетрахлорметаном націлюють на дослідження їх корегувальної ефективності в умовах гострих інтоксикацій іншими нефротропними отрутами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойчук Т. М. Патофізіологія гепаторенального синдрому при немічній гіпоксії / Т. М. Бойчук, Ю. Є. Роговий, Г. Б. Попович. – Чернівці : Медичний університет, 2012. – 192 с.

2. Ванін А. Ф. Оксид азота в біомедицинських дослідженнях // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3–5.

3. Гаїна Ж. М. Фактор статі при дослідженні впливу мілдронату на функцію нирок / Ж. М. Гаїна, Р. Б. Косуба // Буковин. мед. вісник. – 2012. – **16**, № 3 (63). – С. 77–79.

4. Короленко Т. А. Субклеточное распределение кислых гидролаз печени крыс при токсическом гепатите / Т. А. Короленко, А. Е. Кондакова, В. Г. Титова // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1975. – **80**, № 7. – С. 34–36.

5. Креховська-Лепявко О. М. Особливості впливу амінокислот L-орнітину та L-аргініну на стан про- та антиоксидантної систем у печінці та крові щурів в умовах гострого токсичного гепатиту / О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима // Здобутки клініч. та експерим. медицини. – 2011. – № 1. – С. 77–79.

6. Креховська-Лепявко О. М. Структурні зміни печінки щурів при гострому тетрахлорметановому гепатиті та його корекції L-аргініном та L-орнітином / О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима, М. Я. Фурдела // Вісник морфології. – 2012. – **18**, № 1. – С. 40–43.

7. Лопаткина Т. Н. L-орнітин-L-аспартат в комплексній терапії порто-системної енцефалопатії /

Т. Н. Лопаткина, Є. В. Намісників // Захворювання печінки та печінкова енцефалопатія : сателітний симпозиум. – 2002. – С. 3.

8. Олещук О. М. Зміни морфофункціонального стану печінки щурів при гострій інтоксикації тетрахлорметаном на фоні введення L-аргініну та глутаргіну / О. М. Олещук, Т. В. Дацко // Світ медицини та біології. – 2007. – № 3. – С. 24–28.

9. Central antinociceptive effect of L-ornithine, a metabolite of L-arginine, in rats and mice / A. Kawabata, K. Iwatsubo, S. Takaya [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 1996. – № 1. – P. 23–31.

10. Does Pharmacconutrition with L-Arginine and/or 6-Tocopherol Improve the Gut Barrier in Bile Duct Ligated Rats? / P. Tuncyurek, M. Sari, O. Firat [et al.] // Eur. Surg. Res. – 2006. – № 38. – P. 4–10.

11. Liano F. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group / F. Liano, J. Pascual // Kidney Int. – 1996. – **50** (3). – P. 811–818.

12. The spectrum of acute renal failure in the intensive care unit compared with that seen in other settings. The Madrid Acute Renal Failure Study Group / F. Liano, E. Junco, J. Pascual [et al.] // Kidney Int. Suppl. – 1998. – **66**. – P. 16–24.

13. Treatment of cirrhotic rats with L-ornithin-aspartate enhances urea synthesis and lowers serum ammonia levels / R. Gebhardt, G. Beckers, F. Gaunits [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1997. – 283. – P. 1–6.

О. Н. Креховская-Лепявко, А. А. Гудыма, В. Е. Городецкий
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ АМИНОКИСЛОТ L-ОРНИТИНА И L-АРГИНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Резюме

В условиях острой интоксикации тетрахлорметаном в дозе $2 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$ массы тела у подопытных животных отмечают развитие почечной недостаточности, что проявляется снижением суточного диуреза, скорости клубочковой фильтрации, повышением содержания креатинина как в сыворотке крови, так и в моче и уменьшением уровня его экскреции. Применение с целью коррекции L-орнитина ($1000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) и L-аргинина ($500 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) сопровождается выраженным положительным влиянием на функциональное состояние почек, наибольшую эффективность которого наблюдают при совместном использовании.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тетрахлорметан, печень, почки, L-орнитин, L-аргинин.

O. M. Krehovska-Lepyavko, A. A. Hudyma, V. Ye. Horodetskyi
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE PECULIARITIES OF AMINO ACIDS L-ORNITHINE AND L-ARGININE INFLUENCE ON RENAL FUNCTION IN RATS WITH AN ACUTE TOXIC HEPATITIS

Summary

On the background of an acute tetrachlormethane intoxication at a dose of $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of body weight the development of renal failure manifested by a decrease in daily urine output, glomerular filtration rate, increase of creatinine in both serum and urine and reduction of its excretion was observed in experimental animals. The application of L-ornithine ($1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and L-arginine ($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) leads to the positive impact on renal function, with the greatest efficiency observed at their combined usage.

KEY WORDS: carbon tetrachloride, liver, kidney, L-ornithine, L-arginine.

Отримано 15.01.13

Адреса для листування: О. М. Креховська-Лепявко, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

**ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ СЕРОТОНІНУ В МОЗКУ ЩУРІВ
ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ**

Досліджено особливості функціонування шляху біосинтезу серотоніну в мозку щурів за умов експериментального цукрового діабету 2-го типу. В ході досліджень встановлено зниження вмісту триптофану та серотоніну, зростання триптофан-гідроксилазної та моноаміноксигеназної активності в головному мозку тварин. Отримані результати свідчать про залучення шляху біосинтезу серотоніну в розвиток стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2-го типу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серотонін, триптофан, триптофан-гідроксилаза, моноаміноксидаза, цукровий діабет 2-го типу.

ВСТУП. Серед великої кількості хворих на цукровий діабет (ЦД), захворюваність на який можна порівняти з неінфекційною епідемією, 85–90 % становлять пацієнти з ЦД 2-го типу [2, 7]. Останні десятиріччя були відзначені великими досягненнями у розумінні природи інсулінонезалежного діабету, його діагностики та лікування. Однак не всі сторони патогенезу даного захворювання достатньо вивчено, й доказом цього є неухильне зростання захворюваності, високі смертність і частота ускладнень.

Особливості організації серотонінергічної системи мозку зумовлюють її участь у регуляції багатьох функцій організму і складних форм поведінки. При цьому велику роль відіграє серотонінергічний контроль нейроендокринних регуляцій серцево-судинної системи, водно-сольового обміну, репродукції, циркадних ритмів опосередковано через гіпоталамус і гіпофіз [10, 11]. Серотонінергічна система мозку впливає на збудливість вазомоторних та терморегулюючих центрів, бере участь у регуляції активності ЦНС, загальної рухової активності, емоційної поведінки і т. д.

Порушення в серотонінергічній системі призводять до розвитку різних патологічних станів організму, в тому числі психічних розладів, таких, як маніакально-депресивний психоз, шизофренія, депресія і тривожні стани. На фоні депресії часто збільшується споживання їжі, що може супроводжуватися ожирінням – однією з причин розвитку ЦД 2-го типу. Зва-

© К. Р. Середницька, В. В. Конопельнюк, О. М. Савчук, 2013.

жаючи на це, можна припустити залучення серотонінергічної системи в патогенез цього захворювання. Відомо, що серотонін бере участь у діяльності центральної нервової системи, залучений в енергетичний обмін та підвищує рівень глюкози [12, 13]. Особливий інтерес викликає аналіз шляху синтезу серотоніну в головному мозку щурів за умов розвитку експериментального ЦД 2-го типу, оскільки одним з основних порушень при даному патологічному стані є збільшення вмісту глюкози в крові хворих.

Метою роботи було дослідити метаболіти та ферменти шляху біосинтезу серотоніну в головному мозку щурів із стрептозотоциніндукованим ЦД 2-го типу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей. Експериментальний ЦД 2-го типу викликали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення 1–2-добовим щурят розчину стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла тварини [10]. Піддослідних тварин утримували на стандартному раціоні віварію. В експериментах використовували дорослих щурів масою 230–250 г. Розвиток діабету підтверджували на основі неодноразового виявлення гіперглікемії натще і за зміною показників вуглеводного та ліпідного обмінів [1]. До контрольної групи входили інтактні щури таких же маси, статі, віку.

Вміст серотоніну і триптофану визначали, використовуючи іонообмінну хроматографію

[4], вміст серотоніну – спектрофлуориметричним методом [12], вміст триптофану – за методом [15], триптофан-гідроксилазу (КФ 1.14.16.4) активність – згідно з методом [6], вміст 5-гідрокситриптофану – за рекомендаціями [3], триптофан-декарбоксилазу (КФ 4.1.1.28) активність – спектрофлуориметричним методом [14], моноаміноксидазу (КФ 1.4.3.4) активність у мозку – методом [8]. РНК отримували за допомогою набору реагентів “Проба НК” (“ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ”, Росія). Одержували кДНК та проводили полімеразну ланцюгову реакцію згідно з [5]. Послідовності праймерів, які використовували при проведенні полімеразної ланцюгової реакції: 5'-cga cat caa ccg aga aca gct g-3' (ТрГ – прямий), 5'-gta gtt cat agc sag ctc tgc g-3' (ТрГ – зворотний), 5'-tgg ctg ctg cca aac tgt tgt ctg-3' (МАО – прямий), 5'-gaa tgc acc acg gaa tgg gta agt-3' (МАО – зворотний), 5'-tgg aca ttg ttg cca tca acg acc-3' (ГАФДГ – прямий), 5'-cat ttg atg tta gcg gga tct cgc-3' (ГАФДГ – зворотний). Вміст білка визначали за методом [9].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми “MS Excel XP”.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З огляду на дані про мультифакторність патогенезу ЦД 2-го типу, без сумніву, є актуальним дослідження різних експериментальних моделей інсулінової недостатності, які б на патогенетичному рівні відповідали розвитку цього захворювання в людини і могли б бути основою для пошуку нових перспективних протидіабетичних засобів, шляхів корекції різноманітних ускладнень, які виникають за умов ЦД 2-го типу. Класичною експериментальною моделлю з відтворення різних гіперглікемічних станів є стрептозотоциніндукована модель.

Для підтвердження розвитку ЦД 2-го типу через 180 діб після введення стрептозоточину визначали вміст глюкози в крові щурів з мо-

деллю ЦД 2-го типу та у групі контрольних тварин. У ході досліджень ми показали, що у піддослідних тварин розвиток експериментального ЦД 2-го типу супроводжувався появою гіперглікемії натще, змінами ліпідного обміну та показників чутливості тканин до інсуліну [1].

На наступному етапі роботи було досліджено метаболіти та ферменти шляху біосинтезу серотоніну за умов розвитку ЦД 2-го типу.

Попередником для синтезу серотоніну є широко розповсюджена в природі незамінна амінокислота – триптофан. Порушення його обміну в людини може сигналізувати про ряд захворювань, таких, як туберкульоз, рак, цукровий діабет тощо. Тому певний інтерес викликає визначення вмісту даного метаболіту в мозку як першої ланки біосинтетичного шляху.

В ході досліджень встановлено зниження на 33 % вмісту триптофану в мозку щурів з експериментальним ЦД 2-го типу порівняно з показниками контрольної групи тварин (рис. 1, А). Причинами зменшення вмісту триптофану можуть бути зниження швидкості його надходження в клітини-мішені, активація альтернативних шляхів метаболізму або підвищення потреб клітини у біосинтезі серотоніну, конкуренція триптофану з іншими метаболітами за шляхи проходження гематоенцефалічного бар'єру.

Встановлено підвищення на 31 % вмісту безпосереднього попередника біосинтезу серотоніну – 5-гідрокситриптофану в головному мозку щурів із стрептозотоциніндукованою моделлю ЦД 2-го типу порівняно зі значеннями контрольної групи тварин, що може бути зумовлено зростанням активності ферменту триптофан-гідроксилази (рис. 1, Б).

Особливості організації серотонінергічної системи мозку та її широкі зв'язки з іншими відділами мозку зумовлюють участь цієї системи в регуляції багатьох функцій організму. У зв'язку з цим, особливу увагу звернуто на визначення вмісту серотоніну в головному мозку

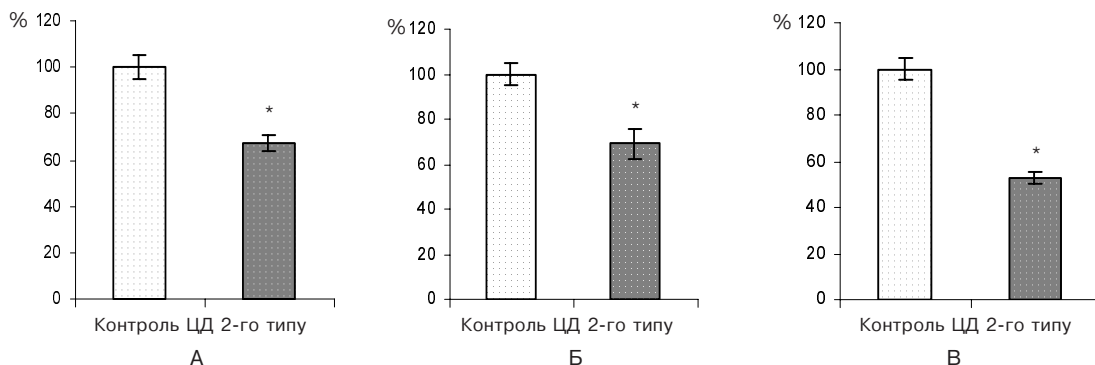


Рис. 1. Вміст триптофану (А), 5-гідрокситриптофану (Б) та серотоніну (В) в головному мозку щурів за умов розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2-го типу (* – $p < 0,05$ порівняно з контролем).

щурів за умов розвитку ЦД 2-го типу. Проведені дослідження свідчать про зниження на 53 % вмісту серотоніну в головному мозку діабетичних щурів порівняно з показниками контрольної групи тварин (рис. 1, В).

Зниження вмісту серотоніну в головному мозку щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом 2-го типу може бути пов'язане зі зменшенням запасів серотоніну при даній патології; послабленням синтезу за умов порушення метаболічних процесів, які спрямовані на підтримання фізіологічного рівня серотоніну в організмі; посиленням використання серотоніну в шляхах його катаболізму; порушенням функцій регуляторних структур головного мозку.

В ході досліджень встановлено підвищення активності швидкістьлімітуючого ферменту – триптофан-гідроксилази на 30 %, не виявлено змін триптофан-декарбоксілазної активності. Оскільки триптофан-декарбоксілазна активність не зазнає змін, а вміст серотоніну знижується у головному мозку щурів із ЦД 2-го типу порівняно з показниками контрольної групи, можна припустити, що посилюється деградація даного метаболіту. Цей процес забезпечується ферментом моноаміноксидазою. В результаті досліджень встановлено підвищення на 70 % моноаміноксидазної активності в головному мозку щурів за умов експеримен-

тального ЦД 2-го типу порівняно з показниками контрольної групи (рис. 2, В).

Досліджено рівень експресії гена ключового ферменту шляху біосинтезу серотоніну – триптофан-гідроксилази (ТрГ) у мозку щурів. Як видно з графіка, наведеного на рисунку 3, що відображає співвідношення між кількістю кДНК гена ТрГ і кДНК ГАФДГ, рівень експресії гена ТрГ у мозку щурів за умов експериментального ЦД 2-го типу знижувався на 36 % порівняно з контролем. Незважаючи на зменшення рівня гена ТрГ у мозку за умов ЦД 2-го типу, ми фіксували підвищення активності триптофан-гідроксилази. Моноаміноксидаза забезпечує катаболізм серотоніну шляхом окиснювального дезамінування. Показано, що за умов розвитку моделі ЦД 2-го типу в мозку щурів показник співвідношення кДНК генів MAO/ГАФДГ залишався в межах показника контрольного стану, що може вказувати на однаковий рівень експресії гена MAO у контролі та при даному патологічному стані (рис. 3, А).

ВИСНОВКИ. Встановлено зміни показників серотонінового шляху метаболізму триптофану в головному мозку щурів за умов експериментального ЦД 2-го типу. Це вказує на можливість залучення цієї нейротрансмітерної системи у патогенез розвитку даної патології.

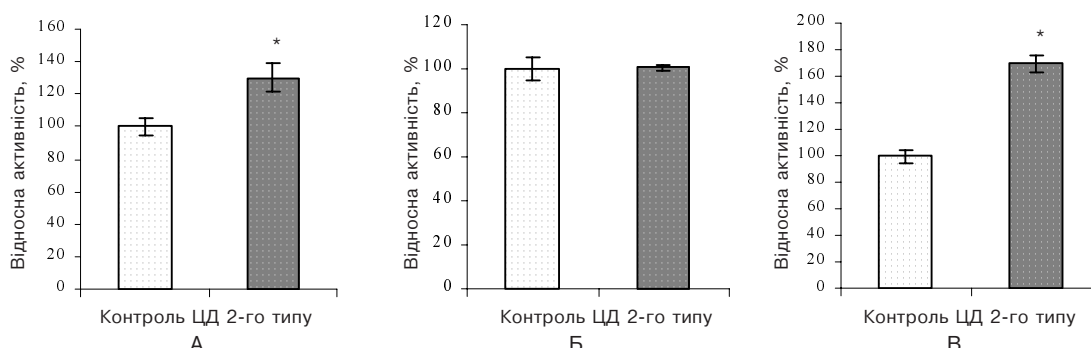


Рис. 2. Відносна триптофан-гідроксилазна (А), триптофан-декарбоксілазна (Б), моноаміноксидазна (В) активність у головному мозку щурів за умов розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2-го типу (* – $p < 0,05$ порівняно з контролем).

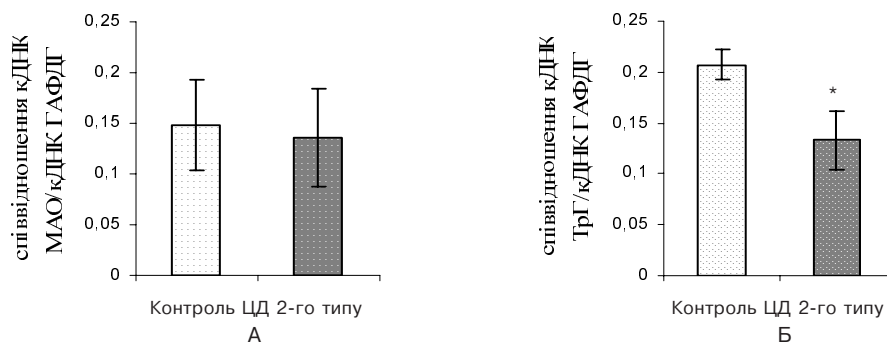


Рис. 3. Рівень кДНК гена MAO (А) та ТрГ (Б) у перерахунку на рівень кДНК гена ГАФДГ у мозку в групі контрольних тварин та за умов експериментального ЦД 2-го типу (* – $p < 0,05$ порівняно з контролем).

Таким чином, отримані нами дані свідчать про суттєве зниження вмісту серотоніну в центральній нервовій системі тварин із стрептозотоциніндукованою моделлю ЦД 2-го типу, можливий взаємозв'язок між серотонінергічною системою та енергетичним обміном в

організмі. Це вказує на необхідність проведення подальших ґрунтовних досліджень процесів, які лежать в основі функціонування серотонінергічної системи за умов ЦД 2-го типу, для встановлення причинно-наслідкових зв'язків розвитку цього патологічного стану.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Відтворення експериментальної стрептозотоциніндукованої моделі цукрового діабету 2 типу у щурів / Т. І. Галенова, В. В. Конопельнюк, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко // Фізика живого. – 2010. – № 2. – С. 23–26.
2. Иззати-Заде К. Ф. Нарушение обмена серотонина в патогенезе заболеваний нервной системы / К. Ф. Иззати-Заде, А. В. Баша, Н. Д. Демчук // Журн. неврол. и психиат. – 2004. – № 9. – С. 62–70.
3. Калниня И. Э. Флуориметрическое определение 5-гидрокситриптофана в крови / И. Э. Калниня, Р. К. Блума // Медицина. – 1991. – № 1. – С. 29–39.
4. Максименко Е. Г. Уровень триптофана и серотонина в условиях судорожной активности головного мозга / Е. Г. Максименко, В. Н. Савченко // Вісник Харківського нац. університету ім. В. Н. Каразіна. Медицина. – 2000. – 1, № 494. – С. 40–43.
5. Маниатис Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук ; пер. с англ. под ред. А. А. Баева, К. Г. Скрябина. – М. : Мир, 1984. – 479 с.
6. Activation of brain tryptophan hydroxylase by ATP-Mg²⁺: Dependence on calmodulin / D. M. Kuhn, P. O'Callaghan, J. Juskevich, W. Lovenberg // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1980. – 77 (8). – P. 4688–4691.
7. Adeghate E. Distribution of serotonin and its effect on insulin and glucagon secretion in normal and diabetic pancreatic tissues in rat / E. Adeghate // Neuroendocrinol. Lett. – 1999. – P. 315–322.
8. Ali B. H. Inhibition of monoamine oxidase by furazolidone in the chicken and the influence of the alimentary flora thereon / B. H. Ali, A. L. Bartlett // Br. J. Pharmac. – 1980. – 71. – P. 219–224.
9. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. – 72, Issues 1–2. – P. 248–254.
10. Hemmings S. J. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors / S. J. Hemmings, D. Spafford // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2000. – 32. – P. 905–919.
11. Influence of serotonin on the development and migration of gonadotropin-releasing hormone neurons in rat fetuses / T. Pronina, M. Ugrumov, E. Adamskaya [et al.] // J. Neuroendocrin. – 2003. – 15. – P. 549–558.
12. Kang Y. M. Serotonin modulates hypothalamic neuronal activity / Y. M. Kang // Int. J. Neurosci. – 2004. – 114, № 3. – P. 299–319.
13. Lam D. D. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes / D. D. Lam, L. L. Heisler // Cambridge University Press. – 2007. – 9. – P. 5.
14. Sangwan R. Direct fluorometry of phase-extracted tryptamine-based fast quantitative assay of L-tryptophan decarboxylase from Catharanthus roseus leaf / R. Sangwan, S. Mishra, S. Kumar // Analytical biochemistry. – 1998. – 255, № 1. – P. 39–46.
15. Tryptophan metabolism in central nervous system: medical implication / J. Ruddick, A. Evans, D. Nutt [et al.] // Cambridge University Press. – 2006. – 8.

Е. Р. Середницькая, В. В. Конопельнюк, А. Н. Савчук
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА СЕРОТОНИНА В МОЗГЕ КРЫС С СТРЕПТОЗОЦИНИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

Резюме

Исследованы особенности функционирования пути биосинтеза серотонина в мозге крыс в условиях экспериментального сахарного диабета 2-го типа. В ходе исследований установлено снижение содержания

триптофана и серотонина, рост триптофан-гидроксилазной и моноаминоксигеназной активности в головном мозге крыс. Полученные результаты свидетельствуют о привлечении пути биосинтеза серотонина в развитие стрептозоточининдуцированного сахарного диабета 2-го типа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серотонин, триптофан, триптофан-гидроксилаза, моноаминоксидаза, сахарный диабет 2-го типа.

K. R. Serednytska, V. V. Konopelniuk, O. M. Savchuk
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF SEROTONIN SYNTHESIS IN THE BRAIN OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Summary

The peculiarities of biosynthesis of serotonin in the brain of rats with experimental model of type 2 diabetes mellitus were studied. Conducted experiments indicate that the content of tryptophan and serotonin decreases, and activity of tryptophan-hydroxylase and monoamineoxydase increases in rat's brain. The results show that biosynthesis of serotonin is involved into pathogenesis of streptozotocin-induced 2 type diabetes mellitus.

KEY WORDS: serotonin, tryptophan, tryptophan-hydroxylase, monoamineoxydase, 2 type diabetes mellitus.

Отримано 03.12.12

Адреса для листування: К. Р. Середницька, вул. Васильківська, 94, Київ, Україна, e-mail: kateserednytska@gmail.com.

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОЗ ПЕЧІНКИ ТА СТЕАТОГЕПАТИТ У ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ АТОКСІЛОМ

Проведено дослідження впливу атоксілу на біохімічні показники функціонального стану печінки та ліпідний спектр крові у хворих на неалкогольний стеатогепатит і стеатоз печінки на тлі ожиріння. Доведено, що застосування атоксілу в складі комплексної терапії хворих на неалкогольний стеатогепатит та стеатоз печінки на тлі ожиріння усуває прояви цитолітичного, холестатичного синдромів, посилює білковосинтетичну функцію печінки, сприяє нормалізації ліпідного спектра крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: неалкогольний стеатоз печінки, неалкогольний стеатогепатит, функціональний стан печінки, ліпопротеїни крові, атоксіл.

ВСТУП. Сучасні наукові дослідження доводять, що близько 80 % криптогенних цирозів печінки у дорослого населення є наслідком неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) [2, 10]. Але на сьогодні не розроблено чітких стандартів лікування даної патології. Наявність у пацієнтів ознак ожиріння, ліпідного дистрес-синдрому обтяжує загальний стан, клінічні та лабораторні показники, погіршує прогноз захворювання [1, 4, 5, 7]. Оpubліковані результати дослідження впливу нанодисперсного силіцію діоксиду (атоксілу (А)) щодо корекції наслідків токсичного впливу ксенобіотиків у галузі промислової медицини доводять, що А істотно знижує токсичність нітратів, нітритів, фторидів, протитуберкульозних препаратів, гальмує інтенсивність оксидативного стресу, знешкоджує низькомолекулярні токсини, зв'язує холестерол (ХС) та жовчні кислоти у шлунково-кишковому тракті [3, 8, 9].

Метою дослідження було встановити вплив атоксілу в складі комплексної терапії на функціональний стан печінки у хворих на неалкогольний стеатоз печінки (НАСП) та стеатогепатит на фоні ожиріння.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для визначення ефективності лікування відібрали 2 групи пацієнтів, які були рандомізовані за віком, статтю, ступенем ожиріння та активністю цитолітичного синдрому. Контрольна група (К) (20 осіб, хворих на НАСП (1к), 20 осіб, хворих на

НАСГ (2к)) отримувала гіпокалорійну дієту, ліволін – препарат есенціальних фосfolіпідів як гепатопротекторний препарат (по 1 капсулі 3 рази на день) та біфіформ упродовж 30 днів. Основна група (О) (20 осіб, хворих на НАСП (1о), 20 осіб, хворих на НАСГ (2о)), крім ліволіну, метформіну та біфіформу, отримувала нанодисперсний силіцію діоксид – А у добовій дозі 18 г (по 6 г тричі на день). Рекомендовану дозу високодисперсної пудри розчиняли до однорідної суспензії у 250 мл нейтральної мінеральної або охолодженої кип'яченої води впродовж 30 днів. Протягом дослідження випадків побічної дії ліків не було встановлено.

Кров для біохімічного дослідження брали з ліктьової вени вранці натще. Біохімічні тести (загальний білірубін, вміст кон'югованого і некон'югованого білірубину, протеїнограму, ліпідний спектр крові, активність ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), γ -глутамілтрансферази (γ -ГТ)) визначали за допомогою уніфікованих методик, затверджених МОЗ України [6].

Ліпідний спектр крові вивчали за вмістом у крові загальних ліпідів, ХС, триацилгліцеролів (ТГ), ХС ліпопротеїнів низької (ЛПНГ) та високої густини (ЛПВГ) за допомогою діагностичних стандартних наборів фірми "Danush Ltd" (м. Львів). Рівень ліпопротеїнів дуже низької густини (ЛПДНГ) у крові обчислювали шляхом застосування математичної формули: вміст ТГ/2,2. Розраховували також індекс

атерогенності (ІА) за співвідношенням вмісту загального ХС/ЛПВГ [4, 6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Через 2 тижні від початку лікування було зареєстровано зниження вмісту загального білірубіну в крові хворих О групи у середньому в 4,1 раза проти 2,0 (p<0,05) у хворих К групи з наявністю вірогідної міжгрупової різниці (p<0,05). Вміст кон'югованого білірубіну у хворих О групи зменшився у 8,2 раза проти 2,2 раза у групі контролю (p<0,05), що свідчило про потужні дезінтоксикаційні властивості А та його спроможність усувати синдром цитолізу гепатоцитів і холестатичний компонент стеатогепатиту (табл. 1). Слід також зауважити, що корекція пігментного обміну під впливом А була стабільною і нормалізацію зазначених показників ми спостерігали ще впродовж місяця після лікування. Комплексна терапія з участю А також вірогідно активізувала процеси кон'югації вільної фракції білірубіну у 2,6 раза (p<0,05) на відміну від традиційної терапії.

Ще одним підтвердженням можливості усувати прояви цитолітичного синдрому у хво-

рих на НАСГ впродовж двотижневого терміну є вірогідне зниження активності АлАТ у крові хворих О групи у 2,7 раза (p<0,05) проти 1,2 раза (p>0,05) у хворих К групи, а також зменшення активності АсАТ у 2,8 раза (p<0,05) проти 1,4 раза (p>0,05) у групі контролю з вірогідною міжгруповою різницею (p<0,05) (табл. 1).

Слід також підкреслити той факт, що застосування ентеросорбенту А, на відміну від традиційної терапії, призвело до зниження інтенсивності холестатичного синдрому. Так, підвищена до лікування активність маркерів холестази (γ-ГТ та ЛФ) після лікування А зменшилася в обох випадках у 1,9 раза (p<0,05) (табл. 1), поряд із тим, у групі контролю зміни показників активності γ-ГТ лише мали тенденцію до зниження (p>0,05).

Активність ЛФ знизилась в 1,3 раза (p<0,05) з наявністю вірогідної міжгрупової різниці (p<0,05), однак її значення все ж перевищувало норму (p<0,05). Вміст у крові хворих О групи жовчних кислот після лікування вірогідно зменшився на 39,2 % (p<0,05) з нормалізацією показника (p>0,05 порівняно

Таблиця 1 – Біохімічні показники функціонального стану печінки у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння у динаміці лікування метформіном, ліволіном, біфіформом (К група) і метформіном, ліволіном, біфіформом та атоксілом (О група) (M±m)

Фаз розст	ФуНт±м % п±т	5) Плт	г а і в Г А оонт	е7) 7р94тКоат	е7) 7р(птКоат	е7) 7р906нт1±лєбі нтАслсбГ А оонт
у 8 і 1ос+тСя я) ГБюи 0з0аі 1фт	9ви п9и4т	8т Нт	ДД п9чив3т Дви п9чюч3т	(ви пчи93фт ч-дпчи9-3т	(4и-п4жч3фт чпжп9и-43т	(пжп(и-3фт 9ви4п9илч3т
Ф) н0с+тСя я) ГБюи 0з0аі 1фт	-4ппиДг	8т Нт	- (и п Дв-3т -ч4п-иДг	9ви п(юч3фт -и п9юч3т	чпДпч-3фт -и ппи-3т	9-и п9и-3фт -4ппи43т
Н7л) н0с+тСя я) ГБюи 0з0аі 1фт	9-дпни(т	8т Нт	(-юп4и в3т (Дп-и-3т	чпипчи-3фт 9хи ппи4-3т	9-дпчиД3т 94и-ппи в3т	94дпчи(3фт 94илппи-3т
-6-Ти00аі 1фаКі т	ни-ппи9т	8т Нт	9и-ппив3т 9и-ппиД3т	9илппи43фт ни ппи-3т	ни ппи93фт ни4ппи43т	пжппи43фт ни4ппи93т
-і-Ти00аі 1фаКі т	ни-ппи4т	8т Нт	9и-ппиД3т 9и-ппиВ3т	9и-ппи43фт ни4ппи43т	ни-ппи(3фт ни4ппи93т	ни-ппи43фт ни-ппи43т
·фТи00аі 1фаКі т	4и-ппи(п	8т Нт	9и ппж43т 9и-ппи(3т	виДпжч3фт Дюппи-3фт	ви-ппи4-3фт 4и4ппи43т	ви-ппи-3фт 4и ппи9-3т
Дг и00аі 1фаКі т	9и-ппи9т	8т Нт	чи4ппи43т чи4ппи9-3т	чи ппи-3фт 9и-ппи43фт	чипппи43фт 9и ппи93т	9и ппи43фт 9и-ппи93т
Тс0аі аА т) аS иє-Пдц	(и ппи(т	8т Нт	хи-ппи в3т хи4ппи43т	4и-ппи-3т -и-ппи(3т	4и ппи4(3фт -и-ппи в3т	4и-ппиД3фт (дпниД3т
у 8 і 1ос+тСя азифт	Джип(ю-т	8т Нт	хДД-и 4п х4и п-дт	хви пчи-#т ·ни-пчи-п	Д9и4пчи4т ·чи пчи43т	Дп п-ивчт ·ни-п(и-дт
-і 1SГюсиг т	4ви-пчи4т	8т Нт	-хи4п9и п3т -хи п9и-3т	-и п9и х3фт 4Дю п9иД-3т	4и-п9иД3фт 4ви п9и43т	4чип9и43фт хпю п9и-3т
ЖаАюзсбі атсиє-00аі 1фт	9и-ппи4т	8т Нт	(Дкппи(93т (и пппи4ч3т	(ю4ппи4(3фт чи-ппи4ч3фт	(и-ппиДв3фт 9и4чппи43т	чи4чппиД3фт 9и-4ппи-ч3фт

Примітки:

1) К група (контрольна), n=40 – хворі на неалкогольну жирову хворобу печінки, які отримували метформін та ліволін, біфіформ; О група (основна), n=40 – хворі на неалкогольну жирову хворобу печінки, які отримували метформін, ліволін, біфіформ та атоксіл;

2) * – різниця вірогідна порівняно з показником у практично здорових осіб (ПЗО) (p<0,05); ** – різниця вірогідна порівняно з показником до лікування (p<0,05); # – різниця вірогідна порівняно з показником після лікування у хворих О групи (p<0,05).

з групою ПЗО), тоді як у К групі зміни мали лише незначну тенденцію до зниження ($p > 0,05$). У динаміці лікування А було встановлено вірогідне підвищення білоксинтезувальної функції печінки (вміст альбумінів у О групі зріс на 28,4 % ($p < 0,05$) проти 7,7 % ($p > 0,05$) у К групі) (табл. 1). Таким чином, А усуває прояви цитолізу, холестазу, підсилює альбумінсинтезувальну та дезінтоксикаційну функції печінки у хворих на НАСГ.

Аналізуючи показники ліпідного спектра крові (табл. 2) у динаміці лікування обстежених хворих, слід вказати на потужні метаболічні властивості А відносно корекції ліпідного дисбалансу у хворих на НАСГ та НАСП з ожирінням. Незважаючи на те, що у 1к та 2к групах лікувальний комплекс включав потужний ліпотропний препарат – ліволін, динамічні показники вмісту ліпідів крові у цих групах були вірогідно вищими від показників після ліку-

вання у хворих О групи ($p < 0,05$). Зокрема, вміст ХС на 15-й день лікування у 1к групі знизився на 8,3 % ($p > 0,05$), у 1о – на 33,5 %, у 2к – на 5,1 % ($p > 0,05$), 2о – на 36,3 % ($p < 0,05$). Слід також зазначити, що вміст у крові ХС після лікування у хворих О групи не лише нормалізувався на 30-й день лікування, але й був вірогідно меншим від показників у контролі ($p < 0,05$). Таким чином, А можна віднести до класу засобів ліпідокоригувальної дії. Доказом цього твердження є вірогідне зниження вмісту в крові на 15-й день лікування ЛПНГ на 36,3 % у хворих 1о групи та на 42,4 % ($p < 0,05$) у хворих 2о групи (табл. 2). На противагу цим даним, у К групі зміни вмісту в крові ЛПНГ були невірогідними, хоча і мали тенденцію до зниження ($p > 0,05$). На 30-й день лікування вміст у крові ЛПНГ у 1к групі знизився на 26,1 %, 1о – на 40,6 %, 2к – на 28,5 %, 2о – на 51,3 % ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Показники ліпідного спектра крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння у динаміці лікування метформіном, ліволіном, біфіформом (К група) і метформіном, ліволіном, біфіформом та атоксілом (О група) ($M \pm m$)

%в(тпс=о		Фаз рстгНм,о		Фаз рстгНм%о	
		5(ф Плтө пі я5Аю	5з(Плтө пі я5Аю	е(ф Плтө пі я5Аю	ез(Плтө пі я5Аю
%г-о	7т)90т4ККз06т0о	185ДА4Ао			
	и, 4ККз06т0о	е48ДА4Ач			
	в%у, 4ККз06т0о	58пДА4Ач			
	в%ф, 4ККз06т0о	е4пДА4Аз			
	хю	ч48ДА4Ач			
Sзә: ОфГатссН	7т)90т4ККз06т0о	84 8ДА4538о	84 3ДА45ч8о	+4+ДА4 88о	+4пДА4е8о
	и, 4ККз06т0о	54чДА4е58о	548ДА4е18о	ч45ДА4еА8о	ч48ДА4п8о
	в%у, 4ККз06т0о	34 8ДА4ч8о	34 пДА4ч8о	· 4чДА4138о	· 4пДА4188о
	в%ф, 4ККз06т0о	А4АДА4е8о	А4еДА4е8о	А4пДА4е8о	А4пДА4А58о
	хю	п48пДА4А58о	п41ДА4А38о	+43ДА4А18о	+418ДА4А58о
- Т Тпә: еЗәфсрю	7т)90т4ККз06т0о	845ДА4518о	· 45ДА4е88т*о	845ДА438о	35+ДА4538т*о
	и, 4ККз06т0о	54 еДА4еА8о	54еДА488т*о	541ДА4ч8о	54пДА4ч88т*о
	в%у, 4ККз06т0о	ч4· ДА4е 8о	54· ДА4ч88т*о	145ДА4е8о	ч45+ДА45ч88т*о
	в%ф, 4ККз06т0о	е45ДА4А18о	е45· ДА4388т*о	е4чДА4ч8о	е4пДА4ч88т*о
	хю	84+ДА4А58о	345ДА4ч88т*о	· 4АДА438о	14пДА4А588т*о
- Т Тпә: чАәфсрю	7т)90т4ККз06т0о	· 43ДА4ч58о	34 3ДА4588т*о	84чДА4ч8о	34ДА45188т*о
	и, 4ККз06т0о	54· ДА4А88о	541ДА4ч88т*о	54чДА4ч 8о	54АДА4А188т*о
	в%у, 4ККз06т0о	ч41· ДА4е8188о	54· ДА4ч 88т*о	14· ДА4ч8188о	548ДА4е88т*о
	в%ф, 4ККз06т0о	е4еДА4А58188о	е4еДА4А588т*о	е4е1ДА4ч8188о	е45+ДА4А588т*о
	хю	· 48ДА4ч8о	14еДА4ч88т*о	· 4 еДА488о	ч4еДА4А588т*о
- Т Тпә: еКДН+6ә: лДОНә: ОфГатссН	7т)90т4ККз06т0о	· 48ДА45е8о	345ДА4588т*о	84еДА4ч8о	341ДА4588т*о
	и, 4ККз06т0о	54 +ДА4А38о	545· ДА488т*о	54еДА4А18о	543ДА4п88т*о
	в%у, 4ККз06т0о	ч413ДА4ч8188о	ч4чДА4е88т*о	148ДА4е8о	54еДА4е88т*о
	в%ф, 4ККз06т0о	А4пДА4А58о	е43ДА4А588т*о	е45ДА4А58о	е451ДА4А588т*о
	хю	п48ДА4ч8о	1415ДА4ч88т*о	84· ДА4А18о	14еДА4А588т*о

Примітки:

1) 1к група (контрольна), n=20 – хворі на НАСП, які отримували метформін, ліволін та біфіформ; 1о група (основна), n=20 – хворі на НАСП, які отримували метформін, ліволін, біфіформ та атоксіл; 2к група (контрольна), n=20 – хворі на НАСГ, які отримували метформін, ліволін та біфіформ; 2о група (основна), n=20 – хворі на НАСГ, які отримували метформін, ліволін, біфіформ та атоксіл;

2) * – різниця вірогідна порівняно з показником у практично здорових осіб ($p < 0,05$); ** – різниця вірогідна порівняно з показником до лікування ($p < 0,05$); # – різниця вірогідна порівняно з показником після лікування у хворих 1к та 2к груп ($p < 0,05$).

Важливим, на нашу думку, аспектом фармакологічних властивостей А є його вірогідний вплив на корекцію вмісту ТГ у крові, що складає патогенетичну основу стеатозу печінки за умов ожиріння. Так, після лікування у хворих 1о групи вміст ТГ у крові зменшився на 23,2 %, у 2о групі – на 27,8% ($p < 0,05$), у хворих К групи показники лише мали тенденцію до зниження ($p > 0,05$) (табл. 2).

Лікування із застосуванням А також призвело до нормалізації вмісту в крові класу протиатерогенних ліпопротеїнів – ЛПВГ, що у групах контролю спостерігали лише на 30-й день лікування ($p < 0,05$). Зокрема, у хворих 1к групи зареєстровано зростання вмісту ЛПВГ на 23,3 %, 1о – на 44,0 %, 2к – на 26,7 %, 2о – на 39,1 % ($p < 0,05$). Слід також зазначити, що курсове призначення А призвело до тривалої стабілізації оптимального ліпідного спектра крові (1 міс.), що перебував у межах нормативних значень на відміну від груп контролю,

де через 1 міс. після лікування зміни ліпідного профілю не відрізнялися від вихідних параметрів ($p > 0,05$) (табл. 2).

Таким чином, нанодисперсний силіцію діоксид у комплексному лікуванні хворих на НАСП та НАСГ із супровідним ожирінням усуває прояви цитолітичного, холестатичного синдромів, підсилює білоксинтезувальну функцію печінки.

Атоксил володіє вірогідними ліпідокоригувальними, гіполіпідемічними властивостями, оскільки сприяє нормалізації ліпідного обміну, відновленню нормального ліпідного спектра крові.

ВИСНОВОК. Застосування нанодисперсного силіцію діоксиду (атоксилу) в комплексній терапії хворих на НАСГ та НАСП із супровідним ожирінням з метою усунення основних клінічних проявів захворювань є патогенетично обґрунтованим і доцільним.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анохіна Г. А. Дієтична та медикаментозна терапія неалкогольного стеатогепатиту / Г. А. Анохіна, В. В. Харченко, С. В. Бойко // *Здоров'я України*. – 2009. – № 6(1). – С. 55–56.
2. Буеверов А. О. Неалкогольная жировая болезнь печени: обоснование патогенетической терапии / А. О. Буеверов, П. О. Богомолов // *Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии*. – 2009. – № 1. – С. 3–9.
3. Нанотехнології в медицині, фармації та фармакології / Л. Г. Розенфельд, І. С. Чекман, А. І. Тертишна [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2008. – № 1–3. – С. 3–7.
4. Петухов В. А. Липидный дистресс-синдром: методические рекомендации / В. А. Петухов, В. С. Савельев; под ред. В. С. Савельева. – М.: МАКС Пресс, 2006. – 268 с.
5. Современный взгляд на формирование неалкогольной жировой болезни печени у больных с метаболическим синдромом / И. А. Трошина, О. Н. Кичигина, Р. Н. Багиров [и др.] // *Медицинская наука и образование Урала*. – 2010. – 11, № 3. – С. 160–165.

6. Сучасні методик експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: навч.-метод. посіб. / [В. М. Магальяс, А. О. Міхеєв, Ю. Є. Роговий та ін.]. – Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. – 42 с.
7. Ткач С. М. Современные подходы к диагностике и лечению жировой болезни печени / С. М. Ткач // *Здоров'я України*. – 2008. – № 22. – С. 64–65.
8. Чекман І. С. Нанонаука: історичний аспект, перспективи досліджень / І. С. Чекман // *Укр. мед. часопис*. – 2009. – № 3 (71). – С. 19–21.
9. Чекман І. С. Нанофармакологія: експериментально-клінічний аспект / І. С. Чекман // *Лік. справа. Врacheб. дело*. – 2008. – № 3–4. – С. 104–109.
10. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis: An international collaborative study / N. Bhala, P. Angulo, D. van der Poorten [et al.] // *Hepatology*. – 2011. – 54, № 4. – P. 1208–1216.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОЗОМ ПЕЧЕНИ И СТЕАТОГЕПАТИТОМ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ АТОКСИЛОМ

Резюме

Проведено исследование влияния атоксила на функциональное состояние печени и липидный спектр крови у больных неалкогольным стеатогепатитом и стеатозом на фоне ожирения. Доказано, что применение атоксила в составе комплексной терапии больных неалкогольным стеатогепатитом и стеатозом печени на фоне ожирения устраняет проявления цитолитического и холестатического синдромов, усиливает белковосинтетическую функцию печени, способствует нормализации липидного спектра крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неалкогольный стеатоз печени, неалкогольный стеатогепатит, функциональное состояние печени, липопротеины крови, атоксил.

I. Yu. Korniychuk
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC LIVER STEATOSIS AND STEATOHEPATITIS IN THE DYNAMICS OF TREATMENT WITH ATOXIL

Summary

Research of atoxil influence on biochemical indices of liver functional state and lipid spectrum of blood in patients with non-alcoholic steatohepatitis and steatosis of the liver on the background of obesity was conducted. It was proved that application of atoxil as a part of complex therapy of patients with non-alcoholic steatohepatitis and steatosis of the liver against obesity eliminates the manifestations of cytolytic and holestatic syndromes, strengthens the protein-synthetic function of the liver, and also promotes the normalization of lipid blood spectrum.

KEY WORDS: non-alcoholic steatohepatitis, non-alcoholic steatosis, liver function, blood lipoproteins, atoxil.

Отримано 04.02.13

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

В. В. Гнатів¹, Х. С. Демчак², О. М. Бабуленко²ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА²**АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ В ПАТОГЕНЕЗІ АНГІОПАТІЙ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2-ГО ТИПУ**

В оглядовій статті охарактеризовано активні форми кисню: їх утворення, біологічну роль в організмі в нормі та при патологічних станах, зокрема при гіперглікемії. Показано роль оксидного стресу у формуванні ускладнень при цукровому діабеті – макро- та мікроангіопатій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **цукровий діабет, активні форми кисню, ангіопатії.**

Цукровий діабет (ЦД) – одне з найпоширеніших захворювань з неухильною тенденцією до зростання, “неінфекційна епідемія XXI століття” [11]. Частота його серед усього населення в розвинутих країнах світу становить 5–6 %.

У розвитку цукрового діабету та його ускладнень, зокрема ангіопатій, важливу участь беруть активні форми кисню (АФК): іони кисню, вільні радикали та пероксиди.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ. Невід’ємною умовою існування живих організмів є окисні процеси з участю активованих кисневих метаболітів. АФК мають дуже короткий період життя: супероксидний аніон-радикал кисню – 10^{-6} с, гідроксильний радикал – 10^{-9} с, пероксидний – 10^{-12} с [23]. Вони виконують функцію між- і внутрішньоклітинних месенджерів, модуляторів та індукторів у біохімічній регуляції і реалізації метаболічних процесів, є найпершою і найбільш мобільною ланкою в адаптаційній перебудові організму при екстремальних ситуаціях [4]. Для клітини дуже важливо, щоб молекула кисню, приєднавши чотири електрони, повністю відновлювалася до двох молекул води. У результаті перенесення першого електрону до молекули O_2 утворюється супероксидний іон-радикал, порівняно малоактивний. На наступному етапі перенесення другого електрону і двох протонів призводить до утворення пероксиду водню (H_2O_2) внаслідок розриву одного з двох зв’язків між атомами у молекулі кисню. Пероксид водню не має неспарених електронів і не є вільним радикалом. При взаємодії з O_2^- або за присутності іонів заліза (Fe^{2+}) пероксид вод-

© В. В. Гнатів, Х. С. Демчак, О. М. Бабуленко, 2013.

ню швидко розпадається з утворенням гідроксильного радикала: $H_2O_2 + Fe^{2+} = HO \cdot + OH^- + Fe^{3+}$ (реакція Фентона – основне джерело $OH \cdot$ в більшості біологічних систем); $H_2O_2 + O_2^- + Fe^{2+} = HO \cdot + OH^- + O_2$ (реакція Хабера–Вейса) [7]. Після розриву другого зв’язку між атомами кисню та акцепції третього електрону утворюється гідроксильний радикал $OH \cdot$ – основний пошкоджувальний агент у клітині, який може розривати будь-які С-Н- та С-С-зв’язки. Приєднання четвертого електрону закінчує процес відновлення молекули кисню утворенням двох молекул води [8].

Вільні радикали поділяють на 3 великі групи: радикали реактивного кисню, реактивного азоту (монооксид азоту, діоксид азоту) та реактивного хлору (атомний хлор) [1].

Рівень АФК у нормі настільки малий, що клітина або інактивує їх за допомогою антиоксидантної системи, або замінює пошкоджені молекули. Будь-який адаптивний або патологічний процес перебігає на тлі утворення АФК та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів. При неспроможності клітини подолати гіперпродукування АФК розвивається оксидний стрес, що проявляється пошкодженням клітинних структур [10]. Оксидний стрес призводить до деструкції на клітинному, тканинному й організменому рівнях.

Активація процесів вільнорадикального окиснення є однією з важливих ланок розвитку цукрового діабету [5]. При цьому відмічають чотири головні джерела АФК у клітині: 1 – ферментативне глікозилювання; 2 – дихальний ланцюг (при діабеті він активується); 3 – НАДФ-оксидазу, яка активується багатьма фак-

торами (ангіотензином II, інсуліном, продуктами неферментативного глікозилювання тощо); 4 – гіперінсулінемію, що активує симпатичну нервову систему. Під впливом катехоламінів зростає утворення вільних радикалів, як безпосередньо, так і внаслідок гіперпродукування неетерифікованих жирних кислот [1, 17].

При ЦД відбувається одночасно виснаження антиоксидантів: при гіперглікемії спостерігають зниження рівня глутатіону (одна з причин зменшення активності NO); активація ферментів поліольного шляху окиснення глюкози супроводжується зниженням вмісту відновленого глутатіону, діальдегіду, а також активності глутатіону. Внаслідок порушення концентрації іонів деяких металів і глікозилювання змінюється активність супероксиддисмутази [8].

При гіперглікемії активуються такі шляхи метаболізму глюкози:

1. Автоокиснення глюкози та її метаболічних інтермедіатів (глюкозо-6-фосфату і фруктозо-6-фосфату), яке каталізується перехідними металами. Цей процес призводить до апоптозу клітин [8].

2. Глікозилювання протеїнів [1, 15]. Продукти автоокиснення глюкози (метилгліоксаль і 3-дезоксиглюкозон) запускають процес неферментативного глікозилювання білків. Ініціюється експресія генів колагену та інших білків капілярної мембрани, що володіють проатерогеними властивостями. Окрім цього, глюкоза та її метаболіти за наявності Fe і Cu реагують із H_2O_2 з утворенням $OH\cdot$, що поглиблює процеси окисної деструкції макромолекул [21]. Окиснені модифіковані білки активують протеоліз, посилюючи деструктивні процеси і запалення, пошкоджують ДНК, знижують функцію білків-переносників, змінюють активність АТФ-ази, викликають порушення каскаду дихального ланцюга [8].

3. Обмін сорбітолу, що призводить до генерації вільних радикалів і зниження активності відновленого глутатіону.

4. Утилізація глюкози по гексозаміновому шляху з утворенням уридинфосфат-N-ацетилглюкозаміну, який може брати участь у глікозилюванні білків по залишках серину і треоніну. Цей процес корелює з інсулінорезистентністю, а також із продукуванням АФК [8].

5. Пригнічення гліколізу сприяє накопиченню тріозофосфатів, які можуть перетворюватися в α -гліцерофосфат – попередник діацилгліцеролу, з подальшою активізацією протеїнкінази С. Крім того, накопичення тріозофосфатів також призводить до утворення карбонільних сполук, що беруть участь в окисній модифікації білків, ліпідів і ДНК [2].

6. Активація окисного фосфорилування з інтенсифікацією функції електронно-транспортного ланцюга мітохондрій. Мембранний потенціал зростає до критичної межі, й електрон із коензиму Q починає передаватися молекулі кисню з утворенням радикала супероксид-аніона ($O_2^{\cdot-}$) [6].

ПОЛ – причина порушення цілісності та властивостей біологічних мембран.

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є фізіологічним процесом. Відхилення його від норми призводить до пошкодження і загибелі клітини. Необхідним компонентом реакції ПОЛ є фосфоліпіди, що містять ненасичені жирні кислоти, кисень, іони заліза і відновники іонів заліза. Порушення цілісності мембран внаслідок ПОЛ викликає зниження мембранного потенціалу, порушення функцій ферментів, рецепторів і каналотворювальних білків, вбудованих у мембрани [9]. Процес ПОЛ розвивається автокаталітично за наявності сприятливих умов: температури, вільного доступу молекулярного кисню і достатньої кількості радикалів-ініціаторів. У результаті змінюється функціональна активність клітин, у них розвивається метаболічний ацидоз, знижується поглинання глюкози та вільних жирних кислот. Це призводить до стійкої гіперглікемії та гіперліпідемії.

Слід зазначити, що ПОЛ – невід’ємна частина таких життєво важливих процесів, як перенесення електрону флавіновими елементами, оновлення складу ліпідів біомембран, окисне фосфорилування, мітогенез, проведення нервового імпульсу та ін. ПОЛ є попередниками простагландинів і їх похідних – тромбоксанів і простагліну. Низький рівень кисню і АФК у клітині забезпечує перебіг корисних реакцій ПОЛ у біологічних мембранах [3].

Дієнові кон’югати, які є первинними продуктами ПОЛ, чинять шкідливий вплив на ліпопротеїни, білки і нуклеїнові кислоти. Подальшими продуктами ПОЛ є альдегіди і кетони, яким належить важлива роль у процесі синтезу простагландинів, прогестерону та інших стероїдів. Внаслідок взаємодії діальдегіду з вільними групами мембранних сполук утворюються кінцеві продукти ПОЛ, безперервне накопичення яких дестабілізує мембрани і сприяє деструкції клітин [3].

Основним джерелом АФК в організмі є нейтрофіли. Протягом секунд після їх активації рівень продукції АФК у них збільшується у понад 100 разів внаслідок роботи NADPH-оксидази, яка каталізує відновлення молекулярного кисню до супероксидного радикала. Активовані нейтрофіли виробляють велику

кількість різних біологічно активних речовин, які взаємодіють з тромбоцитами та ендотеліальними клітинами. Виникає агрегація тромбоцитів, утворюються такі продукти: серотонін, адреналін, АТФ і АДФ, які посилюють адгезивні властивості нейтрофілів. Присутність тромбоцитів індукує хемотаксис нейтрофілів, а також генерацію ними АФК [18]. Збільшення супероксиду призводить до пошкодження клітин організму [20].

У ряді досліджень показано, що в основі розвитку інсулінорезистентності лежить дисфункція судинного ендотелію, внаслідок чого зменшується транспорт інсуліну до тканин [14].

Формування ангіопатій. Токсична дія високих концентрацій глюкози на судинну стінку, порушення метаболізму ліпопротеїнів, білків спричиняє розвиток діабетичних судинних ускладнень. Мікроангіопатія супроводжується порушенням мікроциркуляції в тканинах, а макроангіопатія зумовлює прогресування атеросклерозу, який стає одним з етіологічних факторів розвитку зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози. Ендотеліальні клітини першими контактують з АФК, окисненими ліпопротеїнами низької щільності (оЛПНЩ), гіперхолестеринемією та гіперглікемією [14].

Оксид азоту викликає розширення судин, перешкоджає адгезії клітин крові. NO стимулює синтез ендотеліального фактора росту й ангіогенез, але гальмує проліферацію і міграцію гладком'язових клітин (перешкоджаючи тим самим утворенню неоінтимі і гіпертрофії судин), зменшує (у невеликих концентраціях) або збільшує (у великих концентраціях) апоптоз, пригнічує синтез позаклітинного матриксу, підтримуючи нормальну структуру судинної стінки. NO має протизапальну й антитромбогенну дію, перешкоджає патогенним впливам ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). Він є базовим чинником антиатерогенезу [6, 12]. NO-продукуюча функція ендотелію найбільш вразлива через нестабільність молекули NO, який є вільним радикалом. У результаті сприятлива антиатерогенна дія NO нівелюється і поступається місцем токсичній атерогенній дії інших факторів пошкодженого ендотелію.

Надлишок АФК викликає суттєві зміни функції ендотелію судин: гальмування ендотелієзалежної вазодилатації, збільшення синтезу адгезивних молекул, що призводить до прилипання і проникнення моноцитів у судинну стінку, перетворення їх у макрофаги; збільшення продукції факторів росту, підвищення агрегації тромбоцитів, активності апоптозу та ін. [3, 12].

Рецептори для продуктів глікозилювання (рКПНГ) знайдено на макрофагах, ендотеліальних клітинах [3]. Після взаємодії КПНГ з рКПНГ посилюється продукування молекул адгезії, які є початковою ланкою у процесі пошкодження судин [16]. Інкубація ендотеліальних клітин зі специфічними КПНГ призводить до внутрішньоклітинної генерації пероксиду водню через NADPH-оксидазу. В цілому виникає виражена дисфункція судинного ендотелію [22].

Вільні радикали активують ядерний фактор транскрипції (NF-κB). Він опосередковує виділення цитокінів, які призводять до ендотеліальної дисфункції, а також до дефіциту секреції та дії інсуліну [8].

Серед патогенних ефектів надлишку АФК необхідно також відзначити посилення проліферації гладком'язових клітин, що призводить до потовщення медіального шару судинної стінки, порушення складу позаклітинного матриксу [19]. Збільшення маси гладких м'язів у судинах сприяє посиленню їх скорочення і звуженню просвіту у відповідь на судинозвужувальні фактори [12]. Оксидний стрес через ядерний фактор транскрипції активує протеїнкіназу С. Багато авторів вказує на роль протеїнкінази в активації експресії гена судинного ендотеліального фактора росту, що сприяє розвитку мікро- і макроангіопатій [8].

Показано, що супероксид-аніон має здатність пригнічувати експресію та активність eNOS, а також зв'язувати й інактивувати NO, зменшуючи його концентрацію в ендотеліальних клітинах. Можна припустити, що це відбувається внаслідок порушення структури лізину й аргініну, а отже, і порушення синтезу оксиду азоту. Отже, супероксид-аніон пригнічує судинорозширювальну дію NO. Поряд з прямим вазоконстрикторним ефектом, він забезпечує підвищення синтезу ендотеліну [6, 12].

Як супероксид-аніон, так і NO є вільними радикалами кисню. При зустрічі вони вступають у реакцію, яка перебігає з винятково великою швидкістю ($6,7 \cdot 10^9$ моль/л-9с-1), утричі вищою, ніж при реакції супероксид-аніона із супероксид-дисмутазою. Можна цілком обґрунтовано вважати, що в будь-який момент життєдіяльності ендотеліальних клітин має місце взаємодія між супероксид-аніоном (O_2^-) і NO. Однак у фізіологічних умовах ця взаємодія мінімізується і підтримується певний баланс між O_2^- і NO. Порушення рівноваги в бік O_2^- призводить до утворення високотоксичного пероксинітриду [12].

Внаслідок інсулінорезистентності при цукровому діабеті 2-го типу з везикул бета-клітин

передчасно вивільняється проінсулін, який має значні атерогенні властивості.

При ожирінні порушується здатність інсуліну до регуляції активності ліпопротеїнази і кліренсу тригліцеридів, зростають синтез і секреція ЛПНЩ, порушується їх елімінація.

Ліпідна пероксидація і неферментативне глікозилювання включають аналогічні реакції і проміжні продукти та, ймовірно, можуть посилювати один одного. Глікозилювання ЛПНЩ перешкоджає їх взаємодії з рецепторами клітинних мембран, що здійснюють подальші перетворення холестерину. В результаті в крові накопичується надлишок ЛПНЩ та холестерину. Глікозилювання апопротеїнів, що входять до складу ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), які транспортують холестерин з периферичних тканин у печінку, призводить до прискорення видалення ЛПВЩ із кров'яного русла. У крові збільшується співвідношення ЛПНЩ/ЛПВЩ. Під впливом оЛПНЩ підвищуються тонус і скоротливість судин, інгібуючи дію ендотелієзалежних вазодилаторів і підвищуючи експресію ендотеліну. Крім цього, оЛПНЩ сприяють апоптозу та гальмують виділення NO ендотеліальними клітинами [9].

Усі вищеперераховані фактори, що призводять до мікро- та макроангіопатій, в остаточному результаті клінічно проявляються небезпечним ускладненням – синдромом діабетичної ступні, при якому спостерігається

некроз усіх тканин нижніх кінцівок з генералізацією процесу, безпосередньою загрозою життю хворих, потребують адекватного хірургічного лікування та часто призводять до інвалідизації [13].

При гіперглікемії внаслідок самоокиснення глюкози виникає оксидний стрес. Активні форми кисню поглиблюють інсулінорезистентність, сприяють розвитку ангіопатій. У хворих спостерігають глибоке виснаження балансу прооксиданти/антиоксиданти, порушення структурно-функціональної цілісності мембран. Дестабілізація ліпідного бішару, порушення трансмембранної фосfolіпідної асиметрії і, як наслідок, зміна активності мембранозв'язаних ферментів лежать в основі гемореологічних розладів і виникнення інсулінорезистентності за умов окисної деструкції.

Автоокиснення глюкози та окисне неферментативне глікозилювання аміногруп білків і фосfolіпідів призводять до акумуляції кінцевих продуктів обміну, які погано елімінуються і тривало циркулюють у крові. Вони також є генераторами активних форм кисню, оскільки імітують властивості металовмісних окисних систем.

Тому одним з основних профілактичних та лікувальних завдань при цукровому діабеті для попередження виникнення ангіопатій та синдрому діабетичної ступні є боротьба з оксидним стресом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений : руководство для врачей / М. И. Балаболкин. – М. : Медицина, 2005. – С. 60–67.
2. Балаболкин М. И. Особенности модификации липопротеинов низкой плотности в развитии атеросклероза и сахарного диабета типа 2 / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская // Кардиол. вестник. – 2008. – № 1. – С. 60–67.
3. Балаболкин М. И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете / М. И. Балаболкин // Сахарный диабет. – 2002. – № 4. – С. 8–16.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестник РАМН. – 1998. – № 7. – С. 43–51.
5. Деримедвідь Л. В. Возможности застосування комбінацій природних антиоксидантів за умов первинної інсулінорезистентності / Л. В. Деримедвідь, І. П. Бухтіярова // Фармакологія та лікарська токсикологія : двомісячне науково-практичне медичне видання. – 2011. – № 2. – С. 37–42.

6. Дрель В. Р. Основні механізми виникнення та розвитку діабетичних ускладнень: роль нітративного стресу / В. Р. Дрель // Біологічні Студії. – 2010. – № 2. – С. 141–158.
7. Зайчик А. Ш. Основы общей патологии. Часть 1. Основы общей патофизиологии : учеб. пособ. для мед. вузов / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов – М. : Элби, 1999. – 557 с.
8. Занозина О. В. Свободнорадикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк // Современные технологии в медицине. – 2010. – № 3. – С. 104–112.
9. Климанов В. В. Клиническая патофизиология детского возраста / В. В. Климанов, Ф. Г. Садыков. – М. : Лань, 1997. – 157 с.
10. Колісник М. І. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник // Біологія тварин. – 2009. – **11**, № 2. – С. 59–70.
11. Литвинова Л. О. Сучасний стан поширеності

цукрового діабету серед населення країн Європейського регіону ВООЗ / Л. О. Литвинова, О. Б. Тонковид // Східноєвропейський журнал громадського здоров'я. – 2008. – № 3. – С. 92–96.

12. Марков Х. М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х. М. Марков // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62–72.

13. Хірургічні ускладнення цукрового діабету / [І. І. Чонка, А. Д. Беденюк, В. В. Гнатів та ін.]. – Тернопіль : ТДМУ, 2012. – 135 с.

14. Христич Т. М. Можлива роль функціонального стану підшлункової залози у розвитку та прогресуванні метаболічного синдрому / Т. М. Христич, Т. Б. Кендзерська // Мистецтво лікування. – 2006. – № 4. – С. 53–58.

15. Baynes J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J. W. Baynes // Diabetes. – 1991. – **40**, № 4. – P. 405–412.

16. Chappey O. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions / O. Chappey, C. Dosquet, M. P. Wautier // European Journal of Clinical Investigation. – 1997. – **27**, № 2. – P. 97–177.

17. Evans J. L. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2

diabetes / J. L. Evans, I. D. Goldfine, B. A. Maddux // Endocrine Reviews. – 2002. – **23**, № 5. – P. 599–622.

18. Ferreiro J. L. Platelet abnormalities in diabetes mellitus / J. L. Ferreiro, J. A. Gomez-Hospital, D. J. Angiolillo // Diabetes and Vascular Disease Research. – 2010. – **7**, № 4. – P. 251–259.

19. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival : a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling / K. Irani // Circulat. Res. – 2000. – **87**, № 3. – P. 179–183.

20. Sahng Y. Kim. Neutrophils Are Associated With Capillary Closure in Spontaneously Diabetic Monkey Retinas / Y. Sahng Kim, A. Mary Johnson, D. Scott McLeod // Diabetes. – 2005. – **54**, № 5. – P. 1534–1542.

21. Shacter E. Y. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples / E. Y. Shacter // Drug metabolism reviews. – 2000. – **32**, № 3. – P. 307–326.

22. Wautier J. L. Blood cells and vascular cell interactions in diabetes / J. L. Wautier M. P. Wautier // Clin Hemorheol Microcirc. – 2001. – **25**, № 2. – P. 49–53.

23. Yu B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species / B. P. Yu // Physiol. Rev. – 1994. – **74**, № 1. – P. 139–162.

В. В. Гнатів¹, Х. С. Демчак², О. М. Бабуленко²

*ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО²*

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В ПАТОГЕНЕЗЕ АНГИОПАТИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

Резюме

В обзорной статье проанализировано активные формы кислорода: их образование, биологическую роль в организме в норме и при патологии, в частности при гипергликемии. Показано роль оксидного стресса в формировании осложнений при сахарном диабете – макро- и микроангиопатий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, активные формы кислорода, ангиопатии

V. V. Hnativ, Kh. S. Demchak, O. M. Babulenko

*I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY²*

REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE PATHOGENESIS OF ANGIOPATHY AT DIABETES MELLITUS OF TYPE 2

Summary

The reactive oxygen species is described in a review article: their formation, biological role in the body in the case of normal and pathological conditions, particularly in hyperglycemia. It is shown the role of the oxide stress in formation of complications at diabetes mellitus as – macro- and microangiopathies.

KEY WORDS: diabetes, reactive oxygen species, angiopathy.

Отримано 27.12.12

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