

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АРГІНАЗО-NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Досліджено зміни ензиматичних активностей аргінази та сумарної NO-синтази у пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС) різних вікових груп. Установлено, що порушення функціонального стану ендотелію у хворих на ІХС характеризується зростанням активності сумарної NO-синтази, що призводить до гіперсинтезу "шкідливого" NO. Підвищення активності аргінази більш виражене у пацієнтів з ІХС похилого віку та є компенсаторним механізмом в обмеженні біодоступності L-аргініну. Припускається, що дисфункція аргіназо-NO-синтазної системи відіграє важливу роль у механізмах порушення NO-регуляторних властивостей та NO-гомеостазу ендотелію судин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемічна хвороба серця, оксид азоту, NO-синтаза, аргіназа.

ВСТУП. Значна поширеність різних клінічних форм ішемічної хвороби серця (ІХС), високий ризик розвитку тяжких ускладнень та передчасної смерті визначають вагоме медико-соціальне значення цієї патології. Згідно із сучасними уявленнями, серед патогенетичних механізмів ініціації та прогресування ІХС провідна роль належить ендотеліальній дисфункції, яку пов'язують із порушенням синтезу й активності оксиду азоту (NO) [5, 9].

У фізіологічних умовах NO забезпечує регуляцію судинного тону, проліферацію гладком'язових клітин та цілий ряд системних ефектів у просвіті судин. Зниження біодоступності NO для ендотеліоцитів зумовлює порушення ендотелієзалежної вазодилатації та відіграє важливу роль у прогресуванні багатьох серцево-судинних захворювань, зокрема ІХС [2].

У фізіологічних умовах ензиматичне утворення NO в організмі людини та тварин з амінокислоти L-аргініну відбувається під дією Р-450-подібних гемопротейнів – NO-синтаз (NOS, EC 1.14.13.39.) [11]. Синтез NO регулюється також аргіназою (EC 3.5.3.1.), яка конкурує з NOS за спільний субстрат – L-аргінін, перетворюючи його на L-орнітин та сечовину.

Співвідношення між NO-синтазним (окисним) та аргіназним (неокисним) шляхами метаболізму L-аргініну підтримує у клітинах фізіологічний пул цієї амінокислоти і визначає інтен-

сивність продукування NO та його метаболітів [1]. За різних патологічних станів організму це співвідношення змінюється, що може бути зумовлено зміною біодоступності L-аргініну, розвитком оксидативного стресу чи гіпоксичного стану, що характерно для ІХС.

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених дослідженню NO за розвитку ІХС, недостатньо вивченими залишаються механізми підтримання NO-гомеостазу з участю аргіназо-NO-синтазної системи, а також їх вікові зміни.

Метою роботи було дослідити інтенсивність обміну L-аргініну за двома альтернативними (неокисним аргіназним і окисним NO-синтазним) шляхами його метаболізму в плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено обстеження 50 пацієнтів із ІХС (32 чоловіків та 18 жінок) віком 45–75 років. Середній вік хворих становив $(56,8 \pm 1,7)$ року. Діагноз ІХС верифікували на основі скарг і анамнезу хвороби, а також на основі інструментальних даних (ЕКГ (включаючи добовий моніторинг ЕКГ), ехокардіографічне дослідження, велоергометрія).

Відповідно до завдань дослідження, пацієнтів з ІХС поділили на дві вікові групи: група А – пацієнти середнього віку (45–60 років), група Б – пацієнти похилого віку (61–75 років) (ВООЗ, 1963). За статтю, тривалістю захворювання, кількістю нападів болю чи відчуття стискання за грудниною групи хворих були

зіставними. У дослідження включено пацієнтів з ІХС, які не отримували курсового лікування нітропрепаратами, проте епізодично використовували нітрогліцерин для зняття нападів стенокардії. Групи контролю (порівняння) становили практично здорові донори без клінічних ознак серцево-судинної патології, репрезентативні за віком і статтю, яких також поділили на аналогічні дві вікові групи.

Активність ензимів окисного та неокисного шляхів метаболізму L-аргініну досліджували в цільній крові. Інтенсивність обміну L-аргініну в процесі окисного метаболізму оцінювали за рівнем активності сумарної NOS, активність якої тестували за кількістю нітрит-аніона, що утворюється у процесі реакції. Середовище інкубації для визначення сумарної NOS-активності містило: 0,1 М трис-НCl (pH=7,4), 5 мМ MgCl₂, 1,0 мМ NADPH ("Sigma", США), 1 мМ L-аргінін та 10 мМ CaCl₂. Реакцію ініціювали шляхом додавання 0,2 мл крові до інкубаційної суміші (кінцевий об'єм – 2,0 мл). Проби протягом 20 хв витримували на водяній бані при температурі 37 °С та постійному струшуванні. Ензиматичну реакцію зупиняли введенням до розчину 1,25 мл 85 мМ NaOH та 1,25 мл 75 мМ ZnSO₄. Контрольні зразки готували аналогічно, але до середовища не вносили субстрат. Після зупинки ензиматичної реакції проби центрифугували (15 хв, 3000 g). В аліквоті супернатанту визначали рівень NO₂⁻ з використанням реактиву Грися [13]. Активність сумарної NOS виражали в нмолях NO₂⁻/хв на 1 мл крові.

Інтенсивність неокисного метаболізму оцінювали за аргіназою активністю. Активність аргінази тестували за утворенням сечовини, вміст якої вимірювали за допомогою діагностичного набору фірми "Сімко" (Україна) відповідно до інструкції фірми-виробника [8]. Аліквоти лізатів інкубували 30 хв на шейкері при 37 °С у суміші такого складу (в М): трис – 2, MnCl₂ – 0,2; NaOH – 10, аргінін – 1. Реакцію зупиняли шляхом внесення до розчину 36 мкл 50 % трихлороцтової кислоти, після чого в ньому визначали загальний вміст сечовини. Крім дослідних, готували аналогічні до них зразки, в яких реакцію припиняли до інкубації, що дозволяло визначити вихідний вміст сечовини. До контрольної проби замість супернатанту вводили бідистильовану воду. Готували також пробу, яка містила стандартний розчин сечовини (16,65 ммоль/л) замість супернатанту. Всі зразки спектрофотометрували проти контрольних при 520 нм. Активність аргінази виражали в мікромолях утвореної сечовини/хв на 1 л крові.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента. Розбіжності вважали статистично вірогідними, якщо p≤0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень встановлено, що у практично здорових осіб активність сумарної NOS з віком дещо зростає, проте ці зміни не є статистично вірогідними (рис.). Так, сумарна

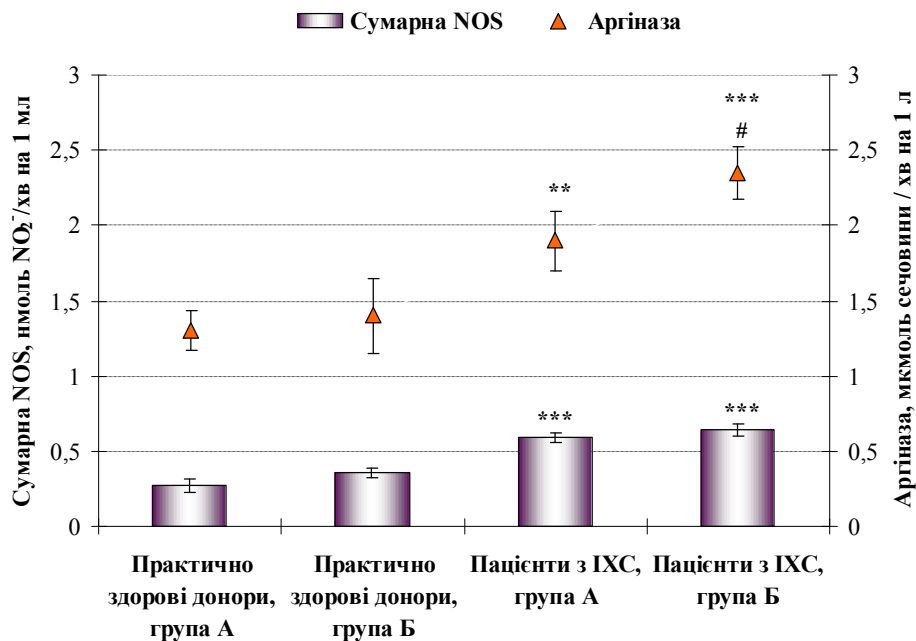


Рис. Активність сумарної NO-синтази (NOS) та аргінази в пацієнтів з ІХС різних вікових груп (***) – p<0,001; ** – p<0,01 вірогідно порівняно з показниками групи контролю; # – p<0,05 вірогідно стосовно показника в пацієнтів групи А).

NOS у практично здорових осіб середнього віку становить $(0,27 \pm 0,05)$ нмоль $\text{NO}_2^-/\text{хв}$ на 1 мл крові, а в осіб групи похилого віку – $(0,36 \pm 0,05)$ нмоль $\text{NO}_2^-/\text{хв}$ на 1 мл крові.

У пацієнтів з ІХС середнього віку активність сумарної NOS статистично вірогідно зростає у 2,2 раза стосовно здорових донорів цієї вікової групи і становить $(0,59 \pm 0,03)$ нмоль $\text{NO}_2^-/\text{хв}$ на 1 мл крові. У хворих похилого віку вона статистично вірогідно підвищується в 1,8 раза стосовно здорових донорів похилого віку і складає $(0,64 \pm 0,04)$ нмоль $\text{NO}_2^-/\text{хв}$ на 1 мл крові.

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників, які також показали збільшення активності NOS у пацієнтів з ІХС [12]. Підвищення активності сумарної NOS свідчить про гіперпродукцію NO і може бути зумовлене зростанням експресії індукцибельної ізоформи NOS (iNOS), яка постійно надекспресується на рівні транскрипції та забезпечує утворення додаткової кількості NO в клітині за умов розвитку різних патологічних станів організму. Показано, що активація iNOS призводить до синтезу NO в кількості, яка значно перевищує його синтез з участю eNOS [16].

Гіперпродукція NO з участю iNOS може бути компенсаторним механізмом, направленим на покращення перфузії тканин. З іншого боку, надлишок NO є більш небезпечним, ніж його нестача. Висока концентрація “шкідливого” NO активує в організмі процеси оксидативного та нітрозивного стресу, які призводять до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. У результаті цього відбуваються активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у кардіоміоцитах, ендотеліоцитах та інших клітинах, що викликає прогресування дисфункції серцево-судинної системи [10].

Оскільки L-аргінін є субстратом не лише для NOS, а й для аргінази, то було важливо дослідити інтенсивність неокисного шляху метаболізму цієї амінокислоти при ІХС. Аргіназа та NOS використовують спільний субстрат – L-аргінін, і в разі його дефіциту між ними можливе виникнення конкурентних взаємозв'язків. Аргіназа відіграє роль лімітуючого фактора в утворенні NO. Знижуючи концентрацію L-аргініну, аргіназа інгібує NOS, безпосередньо регулюючи синтез NO [14, 15].

Як показали отримані нами результати, активність аргінази в практично здорових донорів середнього і похилого віку становить

$(1,3 \pm 0,1)$ та $(1,4 \pm 0,2)$ мкмоль сечовини/хв на 1 л крові відповідно. У пацієнтів з ІХС інтенсивність неокисного аргіназного шляху обміну L-аргініну зростає, на що вказує активація аргінази (в 1,5 раза у пацієнтів середнього віку та в 1,7 раза в пацієнтів похилого віку порівняно з групами практично здорових донорів). Так, активність аргінази у хворих на ІХС середнього віку становить $(1,9 \pm 0,2)$ мкмоль сечовини/хв на 1 л крові, а в пацієнтів похилого віку – $(2,35 \pm 0,17)$ мкмоль сечовини/хв на 1 л крові. Активність аргінази у пацієнтів з ІХС похилого віку достовірно відрізняється від цієї величини у хворих середнього віку.

Відомості стосовно змін активності аргінази з віком є суперечливими. Так, продемонстровано активацію неокисного метаболізму L-аргініну з віком у мітохондріях серця щурів [6]. Водночас показано зниження активності аргінази у старих тварин (на 42 %) порівняно з дорослими [3]. Отримані нами результати стосовно змін активності аргінази у пацієнтів з ІХС узгоджуються з даними, одержаними іншими дослідниками. Вони показали, що активність аргінази в еритроцитах хворих на ІХС була достовірно вищою порівняно з такою у здорових осіб [4].

Активація неокисного аргіназного шляху обміну L-аргініну вірогідно має компенсаторне значення, яке полягає в обмеженні доступності аргініну як субстрату для синтезу “шкідливого” NO за умов патології.

Отримані нами результати дозволяють припустити, що зміна функціонального стану аргіназо-NO-синтазної системи за умов розвитку ішемічної хвороби серця є визначальним механізмом, який зумовлює порушення NO-регуляторних властивостей та NO-гомеостазу і проявляється дисфункцією ендотелію судин.

ВИСНОВКИ. Встановлено порушення функціонального стану аргіназо-NO-синтазної системи у пацієнтів з ІХС, яке полягає в активації NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну. Показано, що зростання активності аргінази є більш вираженим для хворих на ІХС похилого віку, ніж середнього. Водночас вікової залежності підвищення активності сумарної NO-синтази у пацієнтів з ІХС не відмічають.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні активності ендотеліальної та індукцибельної ізоформ NO-синтази у пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барська М. Л. Дослідження окремих ланок окисного та неокисного шляхів обміну L-аргініну в лейкоцитах при цукровому діабеті 1-го типу / М. Л. Барська, І. В. Бродяк, Н. О. Сибірна // Мед. хімія. – 2006. – **8**, № 3. – С. 67–69.
2. Березин А. Е. Донаторы NO в лечении пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: перспективы клинического применения производных сидномина / А. Е. Березин // Укр. мед. часопис. – 2010. – 4 (78). – С. 49–53.
3. Вікові особливості стану системи оксиду азоту в судинній стінці / О. В. Ніжанковська, Р. І. Потапенко, С. М. Новікова [та ін.] // Биологические механизмы старения : VII Международный симпозиум : тез. докл. – Харьков, 2006.
4. Коваленко В. Н. Рівні циркулюючих метаболітів окисного та неокисного обміну L-аргініну залежно від рівня холестерину у пацієнтів з ішемічною хворобою серця та есенціальною гіпертензією / В. Н. Коваленко, Т. М. Корнієнко, Т. В. Семікопна // Укр. кардіол. журн. – 2003. – **5**. – С. 14.
5. Коноплева Л. Ф. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и методы ее коррекции / Л. Ф. Коноплева // Therapia. – 2011. – **3** (56). – С. 26–30.
6. Коцюруба А. В. Вікові особливості змін аргіназо-NO-синтазної системи в серці щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних навантажень плавання / А. В. Коцюруба, Ю. П. Коркач, С. О. Таланов // Фізіол. журн. – 2012. – **58**, № 1. – С. 27–35.
7. Оксид азоту, вік, стрес / О. К. Кульчицький, Р. І. Потапенко, С. М. Новікова [та ін.] // Проблеми старіння і довголіття : V Національний конгрес геронтологів і геріатрів України : тези доп. – 2010. – **19**, № 3. – С. 236.
8. Перетятко Ю. В. Особливості аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів за хронічного рентгенівського опромінення / Ю. В. Перетятко, Н. О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 2. – С. 40–48.
9. Роль дисфункції ендотелія в генезі серцево-сосудистих захворювань / В. Н. Ельський, Н. Т. Ватулін, Н. В. Калінкіна [и др.] // Журн. АМН України. – 2008. – **14**, № 1. – С. 51–62.
10. Роль корекції метаболізму оксиду азота в організмі при профілактиці гіпертонічного ремоделювання серцево-сосудистої системи / В. І. Бувальцев, С. Ю. Машина, Д. А. Покидьшев [и др.] // Рос. кардіол. журн. – 2002. – **5** (37). – С. 74–81.
11. Сибірна Н. О. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах / Н. О. Сибірна, М. Я. Люта, Н. І. Климишин // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2010. – **4**, № 1. – С. 143–160.
12. Телятников О. В. Особливості вторинної профілактики ішемічної хвороби серця у робітників транспорту / О. В. Телятников // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2010. – **4** (22). – С. 65–68.
13. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, D. F. Wagner, J. Glogowski [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – **126**, № 1. – P. 131–138.
14. Durante W. A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F. K. Johnson, R. A. Johnson // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – **34**, № 9. – P. 906–1911.
15. New insights into arginase. Part II. Role in physiology and pathology / M. Mielczarek-Puta, A. Chrzanowska, W. Grabon [et al.] // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2008. – **62**. – P. 214–221.
16. Role of NO and superoxide in acute cardiac allograft rejection in rats / E. Akizuki, T. Akaike, S. Okamoto [et al.] // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 2000. – **225** (2). – P. 151–159.

А. С. Беседина

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ АРГИНАЗО-NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**Резюме**

Исследованы изменения ферментативных активностей аргиназы и суммарной NO-синтазы у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) различных возрастных групп. Установлено, что нарушение функционального состояния эндотелия у больных с ИБС характеризуется ростом активности суммарной NO-синтазы, что ведет к гиперсинтезу “вредного” NO. Повышение активности аргиназы более выражено у пациентов с ИБС пожилого возраста и является компенсаторным механизмом в ограничении

биодоступности L-аргинина. Предполагается, что дисфункция аргиназо-NO-синтазной системы играет важную роль в механизмах нарушения NO-регуляторных свойств и NO-гомеостаза эндотелия сосудов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемическая болезнь сердца, оксид азота, NO-синтаза, аргиназа.

A. S. Besedina

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

AGE-RELATED PECULIARITIES OF ARGINASE-NO-SYNTHASE SYSTEM IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

Summary

The alterations of arginase and total NO-synthase enzyme activities in patients with ischemic heart disease (IHD) in different age groups have been studied. It has been found that disturbance of endothelial function in patients with IHD is characterized by increased activity of total NO-synthase, which leads to hypersynthesis of "harmful" NO. Increase in arginase activity is more expressed in elderly patients with IHD and is the compensatory mechanism to limit the L-arginine bioavailability. It is assumed that dysfunction of arginase-NO-synthase system plays an important role in the mechanisms of disturbance of NO regulatory properties and NO homeostasis of vascular endothelial.

KEY WORDS: **ischemic heart disease, nitric oxide, NO-synthase, arginase.**

Отримано 01.04.13

Адреса для листування: А. С. Беседіна, вул. Івасюка 4, кв. 8, Львів, 79006, Україна, e-mail: annabes@ukr.net.

ВІДХИЛЕННЯ ВМІСТУ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСІВ А, М, G СИРОВАТКИ КРОВІ В ДИНАМІЦІ ПЕРІОДУ ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНУ КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ

У період гострої реакції на експериментальну краніоскелетну травму (перша доба) відмічають виражені порушення показників гуморального імунітету, які супроводжуються накопиченням у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів та вмісту Ig G, коливальними відхиленнями вмісту Ig M. Додаткова кровотеча на тлі експериментальної краніоскелетної травми поглиблює дизімунологічні порушення, які найбільш виражені через 24 год після травмування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: краніоскелетна травма, імуноглобуліни, циркулюючі імунні комплекси.

ВСТУП. Проблема зниження антиінфекційної резистентності організму за умов тяжкої травми поряд із розвитком поліорганної недостатності належить до ключових причин летальності постраждалих [3]. На сьогодні переконливо доведено, що зменшення вмісту імуноглобулінів основних класів А, М, G у період пізніх проявів травматичної хвороби є прогностично несприятливим чинником перебігу посттравматичного періоду, зумовлюючи значний ризик інфекційних ускладнень [7]. Стан імунологічної резистентності в період гострої реакції на травму, коли закладаються головні причинно-наслідкові взаємовідносини, що визначають її подальший перебіг, вивчено недостатньо. Окремі автори показали, що за умов гострого періоду хреботно-спинномозкова травма протягом 1–4 діб супроводжується гіпогаммаглобулінемією за всіма класами імуноглобулінів (А, М, G) [1]. Немає переконливих даних щодо відхилень показників гуморального імунітету у відповідь на поєднану краніоскелетну травму (КСТ), якій характерні синдром взаємного обтяження і висока летальність.

Метою даної роботи було з'ясувати динаміку вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), імуноглобулінів класів А, М, G сироватки крові в період гострої реакції на експериментальну краніоскелетну травму.

© Р. М. Борис, А. І. Гоженко, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено з використанням 68 нелінійних білих щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на три групи: контрольну і дві дослідні. До контрольної групи ввійшли 8 інтактних тварин. До першої дослідної групи – 30 щурів, в яких під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг·кг⁻¹) моделювали закриту черепно-мозкову травму за методикою [2] 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 другій 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 травмування.

У сироватці крові тварин, які вижили, визначали вміст ЦІК методом преципітації розчином поліетиленгліколю 6000 [5] та вміст імуноглобулінів основних класів А, М і G імуноферментним методом із застосуванням аналізатора "Stat Fax" (США).

Достовірність відмінностей між дослідними і контрольною групами оцінювали з викорис-

танням критеріїв Стюдента й Вілкоксона–Манна–Уїтні.

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались міжнародних вимог щодо гуманного поводження з тваринами відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986); методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (2001). Евтаназію щурів у всіх експериментах проводили шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочервно).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз динаміки показників гуморального імунітету показав (табл.), що у відповідь на травму, порівняно з контрольною групою, суттєво збільшувалася концентрація ЦІК у всі терміни спостереження. Так, після отримання КСТ через 2 год вміст ЦІК збільшувався в 1,97 раза ($p < 0,001$), через 12 год – у 2,27 раза ($p < 0,001$), через 24 год – у 2,03 раза ($p < 0,001$). Після одержання аналогічної травми, яка супроводжувалася кровотечею (Кр), даний показник зростав, відповідно, у 2,18, 2,38 і 2,37 раза ($p < 0,001$).

При порівнянні дослідних груп між собою було встановлено, що через 2 год посттравматичного періоду відмічалася тенденція

до більшої величини даного показника у групі з додатковою кровотечею (на 10,7 %, $p < 0,10$). Через 12 год вміст ЦІК у сироватці крові ставав практично ідентичним в обох дослідних групах, тоді як через 24 год – статистично зростав у травмованих тварин із кровотечею (на 16,7 %, $p < 0,05$).

Вміст у сироватці крові Ig A під впливом травми змінювався мало. Відмічали лише статистично достовірне підвищення величини даного показника стосовно контрольної групи через 2 год після отримання КСТ у тварин без додаткової кровотечі (на 15,2 %, $p < 0,05$). Відмінності між дослідними групами в динаміці посттравматичного періоду були статистично не достовірними.

Подібну ситуацію спостерігали і за динамікою концентрації Ig M. Через 2 год посттравматичного періоду стосовно контрольної групи відмічали тенденцію до збільшення величини даного показника у тварин із самою краніоскелетною травмою (на 13,5 %, $p < 0,10$). У подальшому досліджуваний показник ставав меншим та істотно не відрізнявся від такого в контрольній групі ($p > 0,05$). У групі щурів із додатковою кровотечею статистично достовірно знижувався вміст Ig M у сироватці крові через 12 год посттравматичного періоду (на 11,5 %, $p < 0,05$). Відмінності між дослідними групами за вмістом у сироватці крові Ig M були теж статистично не достовірними, за винятком тенденції до меншої величини у групі тварин

Таблиця – **Відхилення показників гуморального імунітету в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму (M±m)**

Показник	Контроль	Модель	Термін посттравматичного періоду		
			2 год	12 год	24 год
ЦІК, ум. од.	53,4±1,7 (n=8)	КСТ	105,2±4,0*** (n=7)	121,1±5,4*** (n=6)	108,4±5,1*** (n=6)
		КСТ+Кр	116,5±3,9*** (n=6)	127,4±3,8*** (n=5)	126,5±4,0*** (n=5)
		p	<0,10	>0,05	<0,05
Ig A, г·л ⁻¹	0,33±0,01 (n=8)	КСТ	0,38±0,02* (n=7)	0,36±0,03 (n=6)	0,35±0,02 (n=6)
		КСТ+Кр	0,33±0,02 (n=6)	0,34±0,01 (n=5)	0,35±0,02 (n=5)
		p	>0,05	>0,05	>0,05
Ig M, г·л ⁻¹	0,52±0,02 (n=8)	КСТ	0,59±0,03* (n=7)	0,51±0,02 (n=6)	0,56±0,03 (n=6)
		КСТ+Кр	0,56±0,03 (n=6)	0,46±0,01* (n=5)	0,51±0,03 (n=5)
		p	>0,05	<0,10	>0,05
Ig G, г·л ⁻¹	0,84±0,04 (n=8)	КСТ	0,96±0,05* (n=7)	1,09±0,03*** (n=6)	0,98±0,02** (n=6)
		КСТ+Кр	1,00±0,04* (n=6)	1,03±0,03** (n=5)	1,05±0,05** (n=5)
		p	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка. * – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

із додатковою кровотечею через 12 год посттравматичного періоду (на 9,8 %, $p < 0,10$).

У свою чергу, вміст у сироватці крові Ig G у посттравматичний період зазнавав більших відхилень стосовно контрольної групи. Так, на тлі самої краніоскелетної травми через 2 год його величина мала тенденцію до збільшення (на 14,3 %, $p < 0,10$), через 12 і 24 год була статистично достовірно вищою: відповідно, на 29,8 % ($p < 0,001$) і 16,7 % ($p < 0,05$). Після отримання КСТ із додатковою кровотечею даний показник у всі терміни спостереження виявився істотно більшим, ніж у контролі: через 2 год – на 19,0 % ($p < 0,05$), через 12 год – на 22,6 % ($p < 0,01$), через 24 год – на 25,0 % ($p < 0,01$). Разом із тим, відмінності між дослідними групами у всі терміни спостереження були статистично не достовірними ($p > 0,05$).

Аналіз динаміки досліджуваних показників виявив таке (рис. 1–3). Концентрація ЦІК (рис. 1) у сироватці крові тварин із самою краніоскелетною травмою досягала максимуму через 12 год посттравматичного періоду з наступним незначним зниженням. Причому величина даного показника через 12 год виявилася статистично достовірно більшою, ніж через 2 год (у 2,27 раза, $p \leq 0,05$). За умов додаткової кровотечі вміст у сироватці крові ЦІК вже через 2 год досягав максимуму й залишався на такому ж рівні впродовж усього експерименту.

Динаміка концентрації в сироватці крові Ig A (рис. 2) супроводжувалася незначними коливаннями даного показника, які були статистично не достовірними.

Разом із тим, вміст у сироватці крові Ig M зазнавав фазових відхилень незалежно від

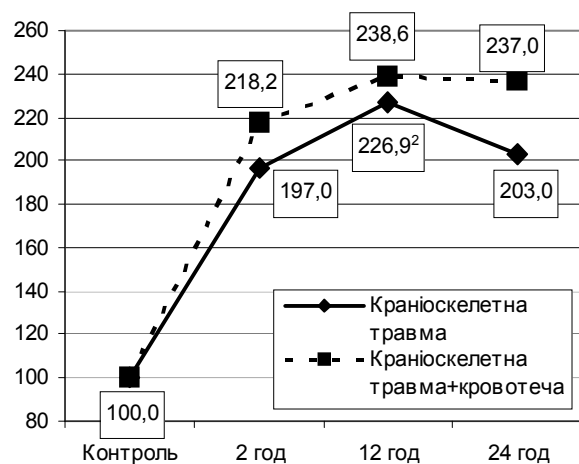


Рис. 1. Динаміка відхилень вмісту ЦІК у сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею. (Тут і на рисунках 3 й 4: ^{2, 12} – відмінності стосовно 2 і 12 год спостереження статистично достовірні, $p \leq 0,05$).

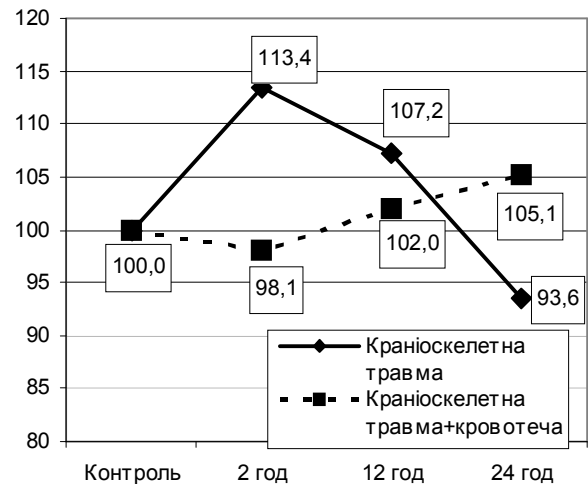


Рис. 2. Динаміка відхилень вмісту Ig A у сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

характеру травми (рис. 3) із першим підвищенням через 2 год посттравматичного періоду, зниженням через 12 год, яке було статистично достовірним стосовно попереднього терміну спостереження (на тлі самої краніоскелетної травми – на 13,6 % ($p \leq 0,05$), за умов додаткової кровотечі – на 17,9 % ($p \leq 0,05$)). Через 24 год на тлі КСТ даний показник залишався на попередньому рівні, тоді як після додаткової кровотечі суттєво зростав стосовно попереднього терміну спостереження (на 10,9 %, $p \leq 0,05$).

У свою чергу, вміст Ig G за умов КСТ досягав максимального рівня через 12 год посттравматичного періоду, був на 13,5 % більшим стосовно попереднього терміну спостереження, в подальшому знижувався і виявився на 10,1 % меншим, ніж через 12 год ($p \leq 0,05$) (рис. 4).

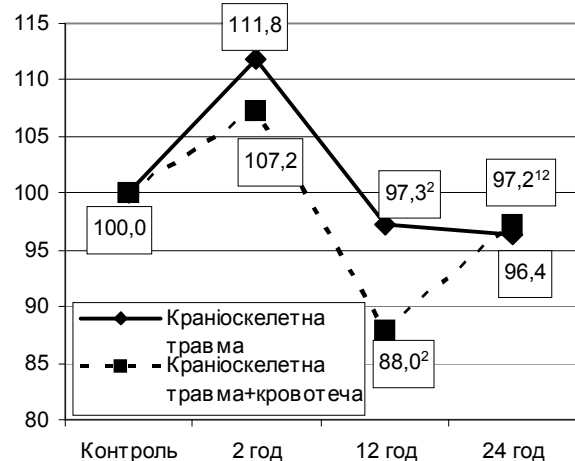


Рис. 3. Динаміка відхилень вмісту Ig M у сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

На тлі додаткової кровотечі даний показник досягав максимальної величини через 2 год після травмування і залишався на такому ж рівні впродовж експерименту.

Отримані результати свідчать про те, що в гострий період краніоскелетної травми, у зв'язку з руйнуванням тканин, дисметаболічними порушеннями і надходженням більшої кількості антигенів, зростає вміст ЦІК, що є, очевидно, наслідком залучення наявних антигенів. Дещо вищий його рівень у тварин із кровотечею зумовлений більшими порушеннями, зокрема ішемічного походження. Неможливо виключити й фактор гемоконцентрації, зумовлений кровотечею.

Вміст у сироватці крові Іg А змінюється мало, що зумовлено, з одного боку, відсутністю травматичного впливу на слизові оболонки, а з іншого – недостатніми системними відхиленнями у період гострої реакції на травму, здатними здійснити пошкоджувальний вплив на слизові оболонки, насамперед шлунково-кишкового тракту [4].

Вміст Іg М у динаміці змінюється двофазно з першим підвищенням через 2 год, зниженням через 12 год і повторним збільшенням через 24 год. Враховуючи те, що В-лімфоцити мають поверхневі рецептори до Іg М і секретують його першими, така хвилеподібна “первинна реакція” на антиген відображає характер адапційно-компенсаторних реакцій імунної системи у відповідь на травму [6]. Можна припустити, що 12 год є періодом тимчасового стихання патологічного процесу, зумовленого краніоскелетною травмою.

У відповідь на модельовані травми вміст Іg G зростає, досягаючи максимуму через 12 год після отримання самої краніоскелетної травми з наступним зниженням через 24 год та залишаючись на підвищеному рівні при

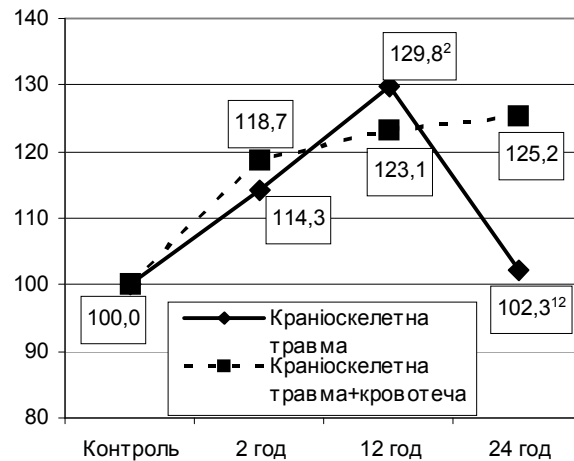


Рис. 4. Динаміка відхилення вмісту Іg G у сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) у групах тварин із краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

однотимчасній кровотечі. Збільшення вмісту імуноглобулінів цього класу розцінюють як ознаку тяжкості дизімунологічних порушень і належить до прогностичних маркерів оцінки реактивності травмованого організму [1].

ВИСНОВКИ. 1. У період гострої реакції на краніоскелетну травму відмічають виражені порушення гуморального імунітету, які супроводжуються накопиченням у сироватці крові ЦІК та вмісту Іg G і коливальними відхиленнями вмісту Іg М.

2. Додаткова кровотеча на тлі експериментальної краніоскелетної травми поглиблює дизімунологічні порушення, які найбільш виражені через 24 год після травмування.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі передбачається поглибити вивчення механізмів регуляції гуморальної ланки імунітету за умов краніоскелетної травми з метою розробки методів системної корекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Динаміка концентрацій імуноглобулінів класів М, G, А в сироватці крові у пацієнтів з бронхолегочними ускладненнями в гострому і ранньому періодах позвоночно-спинномозгової травми / Е. А. Конюченко, В. Ю. Ульянова, Д. М. Пучиньян, Е. В. Корякіна // Саратов. науч.-мед. журн. – 2010. – 6, № 4. – С. 841–844.
2. Ельський В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельський, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.

3. Ельський Е. Н. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельський, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк : ООО “Лебедь”, 2002. – 360 с.
4. Мороз В. В. Сепсис: клинико-патологические аспекты : руководство для врачей / В. В. Мороз. – Петрозаводск : ИнтелТек, 2004. – 291 с.
5. Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма : методические рекомендации / НИИ общей и

коммунальной гигиены им. А. Н. Марзеева. – К., 1988. – 23 с.

6. Розанов В. Е. Иммунологические механизмы развития хирургических инфекционных осложнений у пострадавших с сочетанной травмой / В. Е. Розанов, В. А. Шафалинов // Инфекции в хирургии. – 2009. – № 4. – С. 22–24.

нов, В. А. Шафалинов // Инфекции в хирургии. – 2009. – № 4. – С. 22–24.

7. Pelosi P. Prognostic Role of clinical and laboratory criteria to identify early vap in brain injury / P. Pelosi, A. Barassi // Chest. – 2008. – P. 1–19.

Р. Н. Борис, А. И. Гоженко

УКРАИНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРАНСПОРТА МЗ УКРАИНЫ,
ОДЕССА

ОТКЛОНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССОВ А, М, G СЫВОРОТКИ КРОВИ В ДИНАМИКЕ ПЕРИОДА ОСТРОЙ РЕАКЦИИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ КРАНИОСКЕЛЕТНУЮ ТРАВМУ

Резюме

В период острой реакции на экспериментальную краниоскелетную травму (первые сутки) отмечают выраженные нарушения показателей гуморального иммунитета, которые сопровождаются накоплением в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов и содержания Ig G, колебательными отклонениями содержания Ig M. Дополнительное кровотечение на фоне экспериментальной краниоскелетной травмы углубляет дисиммунологические нарушения, которые наиболее выражены через 24 ч после травмы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: краниоскелетная травма, иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы.

R. M. Borys, A. I. Hozhenko

UKRAINIAN SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF TRANSPORT MEDICINE OF MPH OF UKRAINE, ODESA

THE VIOLATION OF SERUM CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES AND IMMUNOGLOBULINS A, M, G LEVELS IN THE DYNAMICS OF AN ACUTE RESPONSE PERIOD OF EXPERIMENTAL CRANIO-SKELETAL INJURY

Summary

During an acute response period to experimental cranio-skeletal injury (first day) the severe violations of humoral immunity indices, accompanied by the accumulation of serum CIC, Ig G and oscillatory deviations of Ig M level are presented. Additional bleeding on the background of experimental cranio-skeletal injury deepens dysimmunological violations, which are the most severe in 24 h after injury.

KEY WORDS: cranio-skeletal trauma, immunoglobulins, circulating immune complex.

Отримано 24.05.13

Адреса для листування: Р. М. Борис, Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, вул. Канатна, 92, Одеса, 65039, Україна.

РЕГУЛЯЦІЯ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ РЕЧОВИНИ З ПОЧВЕРНИМ ЗВ'ЯЗКОМ

Встановлено, що при інкубації еритроцитів у середовищі Фентона в них знижуються рівень глюкози – на 27–55 %, АТФ – на 25–53 % та гексокіназна активність – на 29–50 %. Вплив кластерної сполуки ренію призводить до відновлення рівня глюкози, АТФ та гексокіназної активності, нормалізуючи дані показники. Зроблено висновок про те, що сполука ренію може безпосередньо впливати на енергетичний обмін еритроцитів. Запропоновано схему впливу сполуки ренію на енергетичний обмін еритроцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: еритроцит, активні форми кисню, глюкоза, АТФ, гексокіназна активність, кластерна сполука ренію.

ВСТУП. Вивчення впливу вільних радикалів на найважливіші функції живої клітини є актуальним питанням сучасної біохімії, оскільки доведено регуляторну роль радикальних реакцій у багатьох біохімічних процесах [20, 21, 38]. Інтенсивність вільнорадикальних процесів і стан антиоксидантної системи (АОС) залежать від характеру метаболічних процесів у різних клітинах та тканинах. Деякі тканини (мозок, легені) мають підвищену чутливість до окисного стресу, що пов'язано з особливістю їх метаболізму [37]. Еритроцити також є чутливими до редокс-статусу організму тварин та людини [8]. Саме тому дослідження енергетичного обміну еритроцитів за умов посиленого генерування активних форм кисню (АФК) є важливим питанням при вивченні та розумінні основних механізмів розвитку окисного стресу. В наших попередніх дослідженнях було показано, що у моделі канцерогенезу розвиток пухлини в щурів-пухлиноносіїв та застосування цисплатину супроводжуються гіпоглікемією та одночасно анемічними явищами, а також впливають на вуглеводний обмін еритроцитів [4]. У цих роботах показано й антиоксидантну властивість кластерних сполук ренію, що пов'язана з наявністю почверного зв'язку в їх складі. Залишалось нез'ясованим питання, чи сполуки ренію безпосередньо впливають на енергетичні процеси червонокривців, чи опосередковано – через гальмування радикальних процесів та підтримку АОС організму.

© Ю. С. Воронкова, Н. І. Штеменко, 2013.

Отже, метою роботи було дослідити енергетичний обмін еритроцитів за умов посиленого генерування активних форм кисню *in vitro*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень були еритроцити донорської крові IV(AB) Rh⁺ групи. Кров донорів отримували з ОКЛ ім. Мечникова – відділення анестезіології та реаніматології (м. Дніпропетровськ) і зі станції переливання крові (м. Дніпропетровськ). З метою моделювання умов генерування АФК еритроцити інкубували при температурі 37 °С у середовищі Фентона, яке містило 10 мМ FeSO₄ · 7 H₂O та 3 мМ H₂O₂ [12], протягом 2-х, 4-х та 24-х год. Окиснення Fe²⁺ за присутності H₂O₂ є основною реакцією Фентона [12, 15]. Сполуку ренію – дихлоротетра-μ-ізобутиратодиреній(III) (I) було синтезовано в Українському державному хіміко-технологічному університеті (м. Дніпропетровськ) на кафедрі неорганічної хімії за [32]. Середовище Фентона готували на фізіологічному розчині, у всі зразки еритромаси вносили консервант – цитратфосфат-декстрозу. Для дослідження гліколітичних реакцій в еритроцитах за умов генерування АФК додавали у вигляді розчину кластерну сполуку ренію, в концентрації 10⁻⁷ моль/л, як у середовищі Фентона, так і у фізіологічний розчин. Після інкубації еритроцити відокремлювали шляхом центрифугування та піддавали гемолізу [19]. Паралельно проводили контрольне дослідження, під час якого замість середовища Фентона використовували фізіологічний

розчин (0,85 % NaCl). У гемолізатах еритроцитів визначали вміст глюкози за [5], АТФ за [1] та гексокіназну активність [10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вміст глюкози, концентрація глюкози та активність гексокінази в інтактних еритроцитах, що витримувалися протягом 24-х год, та в еритроцитах, які інкубувалися у розчині І, практично не змінювалися (результатів не наведено).

При інкубації еритроцитів у середовищі Фентона (F) відбувалося різке зменшення концентрації глюкози (рис.1).

Вміст глюкози в еритроцитах знижувався на 49 % після 2-х год інкубації у середовищі Фентона порівняно з контролем, після 4-х год – на 52 %, а після 24-х год – на 65 %. Можливо, таке різке зменшення концентрації глюкози в еритроцитах після 24-годинної інкубації може бути зумовлене або блокуванням транспортної системи головного енергетичного субстрату – глюкози за умов посиленого генерування активних форм кисню [16, 21, 25], або значним підсиленням процесу утилізації глюкози. Недостатність енергетичних ресурсів може призводити до порушення сталості внутрішнього складу еритроцитів і порушення цілості їх мембрани [31], що спостерігалось при розвитку пухлини і застосуванні цисплатину та пояснювало наявність анемічних явищ при радикальному вибуху. Використання розчину І при інкубації еритроцитів у середовищі Фентона (F+I) підвищувало рівень глюкози в середньому на 60–157 % залежно від часу інкубування порівняно з групою F.

Природно, що зниження концентрації глюкози супроводжувалося зменшенням рівня АТФ (таб.).

При цьому джерелом енергії макроергів в еритроциті є синтез АТФ, який синтезується виключно внаслідок гліколізу в еритроцитах [23]. Показано, що через 2 год інкубування еритроцитів у середовищі Фентона вміст АТФ у них знижувався майже на 25 % порівняно з кон-

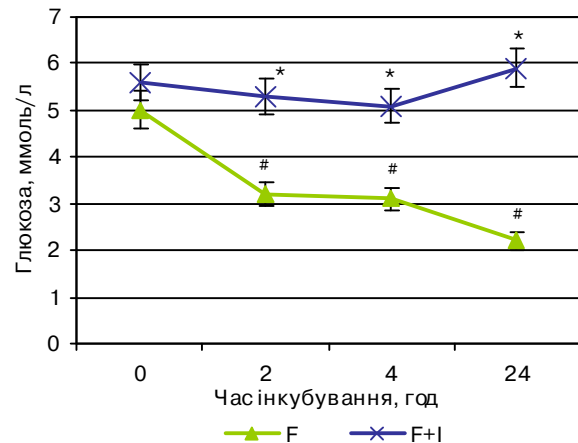


Рис. 1. Рівень глюкози в еритроцитах залежно від терміну експерименту в середовищі Фентона та при введенні розчину І (10^{-7} M) (* – $p < 0,05$ відносно контрольної групи; # – $p < 0,05$ відносно групи F).

тролем, через 4 год – на 32 %, а через 24 год – на 53 %. За умов інкубації еритроцитів у середовищі Фентона та додавання розчину І вміст АТФ при миттєвому вимірюванні підвищувався на 5 % порівняно з групою F, але був нижчим на 13 %, ніж у контрольній групі, після 2-х год інкубації зменшувався на 18 % порівняно з контролем, після 4-х год – на 15 % відповідно до контролю. Але після 24-годинної інкубації зафіксовано збільшення АТФ в 1,1 раза порівняно з 4-годинною інкубацією і це значення перевищувало на 6 % значення групи, в якій рівень АТФ встановлювали відразу ж після внесення розчину І. Поряд із тим, відмічено зростання рівня АТФ у всіх випадках при додаванні розчину І порівняно з групою F. Так, показано, що при миттєвому вимірюванні в даній групі рівень АТФ підвищувався на 5 %, після 2-годинної інкубації – на 10 %, після 4-х год – на 25 %, а після 24-х год – на 95 % відповідно порівняно зі значеннями групи F.

При дослідженні гексокіназної активності показано, що з часом інкубації в середовищі Фентона ця активність у гемолізаті еритроцитів помірно знижувалася (таб.). Так, після 2-х год інкубації зафіксовано зниження гексокіназної

Таблиця – Рівень АТФ (ммоль Фн/л) та гексокіназна активність (нмоль/мл·хв) еритроцитів залежно від терміну експерименту в середовищі Фентона і при введенні розчину І (10^{-7} M) ($M \pm m$)

Час інкубації, год	АТФ, ммоль Фн/л		Гексокіназна активність, нмоль/мл·хв	
	умови експерименту			
	F	F+I	F	F+I
0	0,112±0,010	0,118±0,012	0,64±0,02	0,72±0,02
2	0,102±0,002*	0,112±0,014*	0,530±0,015*	0,70±0,02#
4	0,093±0,002*	0,116±0,012**	0,460±0,008*	0,640±0,018#
24	0,064±0,003*	0,125±0,011#	0,370±0,007*	0,66±0,02#

Примітки:

- 1) * – $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
- 2) # – $p < 0,05$ відносно групи F.

активності на 29 % порівняно з контролем, після 4-х год – на 38 %, а після 24-х год – на 50 %. Таке зниження гексокіназної активності можна пов'язати також зі зменшенням інтенсивності гліколітичного процесу. При дослідженні гексокіназної активності за умов генерування АФК та додаванні розчину I показано помірне зниження даного показника після 2- та 4-годинної інкубації – на 5 і 14 % відповідно порівняно з контролем. Поряд із тим, відмічено значне підвищення гексокіназної активності при миттєвому вимірюванні – на 12,5 %, після 4-годинного інкубування – на 39 %, після 24-годинного – на 78 % порівняно з групою F; при цьому найбільшого значення гексокіназна активність набувала у серії дослідів після 2-годинного інкубування (підвищення на 32 % порівняно з групою F). Водночас дані значення перебували в межах значень групи, де проводили інкубацію еритроцитів у фізіологічному розчині при додаванні розчину I (K+I). Таке помірне зниження гексокіназної активності в разі інкубування лише у середовищі Фентона може свідчити про існування певних захисних механізмів, які спрямовані проти руйнівної дії АФК та на підтримання функціональної активності червонокривців. Застосування ж кластерної сполуки ренію, навпаки, підвищувало гексокіназну активність та нормалізувало даний показник, сприяючи майже повному відтворенню показників контрольної групи.

У наших попередніх роботах показано [7, 14, 33, 35], що кластерні сполуки ренію з органічними лігандами взаємодіють з еритроцитами людини, призводячи до зміни швидкості гемолізу; ефект впливу залежить від ліпофільності органічного ліганду, природи аксіального галоген-замісника, положення лігандів навколо кластерного фрагмента, а також від швидкості гідролізу у водному розчині та стану еритроцитарної мембрани. Найбільш стабілізуювальний ефект показано саме для сполуки I. Також вивчали взаємодію комплексних сполук ренію з білковими молекулами [11, 34]. У досліді з ферментом глюкозооксидазою [3] виявлено активацію ферменту при концентраціях комплексу 10^6 , 10^8 , 10^{10} М, максимальну активацію спостерігали після односторонньої інкубації, яка досягала 27 %. Було визначено, що введення до реакційної суміші надлишку, нейтрального для ферментної реакції білка, усуває активуючий вплив комплексів, це вказує на те, що дослідні комплекси можуть зв'язуватися з білками.

Отже, в нашому експерименті показано, що сполуки ренію можуть безпосередньо впливати на енергетичний обмін еритроцитів.

При цьому не виключається і їх опосередкований вплив на дані показники через регулювання редокс-статусу всього організму. Найімовірніше, обидва процеси мають місце і в організмі пухлиноносіїв.

За результатами дослідження було запропоновано схему впливу I на енергетичний обмін еритроцитів (рис. 2).

Глюкоза потрапляє в еритроцити за допомогою спеціальної транспортної системи (GLUT 1), яка локалізована у мембрані [26, 28, 36]. Ми припускаємо можливість того, що сполука I впливає на роботу GLUT 1 (рис. 2, А) шляхом опосередкованого впливу на стабілізацію мембрани еритроцитів, оскільки, як було показано раніше, I та інші сполуки ренію з почверним зв'язком стабілізують мембрани еритроцитів [7, 13]. Близько 90 % глюкози, що надходить до червонокривців, використовується у гліколітичних реакціях, а решта 10 % – у пентозофосфатному шляху [6, 18], який пов'язаний із глутатіоновою системою захисту еритроцита від дії АФК. Швидкість метаболізму при цьому в нормі контролюється наявністю НАДФ⁺. При окисному стресі крізь пентозофосфатний шлях може проходити набагато більший потік глюкози. Головна функція пентозофосфатного шляху в даному випадку полягає у продукції НАДФН+Н⁺, який необхідний для підтримання у відновленій формі глутатіону, що нейтралізує продукти вільнорадикального окиснення в еритроциті [9, 17, 27, 29, 30]. Важлива роль при цьому належить компонентам, що беруть участь у метаболізмі глутатіону (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази тощо), дія яких забезпечує захист білкових та ліпідних структур від негативного впливу АФК [22, 24]. Ми припускаємо, що сполука I має також опосередкований вплив на енергетичний обмін червонокривців через регулювання редокс-статусу всієї клітини (рис. 2, Б), оскільки відома антирадикальна активність почверного зв'язку [14], і може безпосередньо впливати на білки-ферменти, наприклад на глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (рис. 2, В), та гальмувати окисний стрес через знешкодження активних форм кисню, підтримуючи роботу пентозофосфатного шляху. В наших попередніх експериментах показано [3], що кластерні сполуки ренію з органічними лігандами безпосередньо взаємодіють із білковими молекулами системи глюкозооксидази.

ВИСНОВКИ. За умов ініціації окиснювальних реакцій *in vitro* еритроцити зазнають окисного стресу, що призводить до розвитку деструктивних процесів і пригнічення гліколі-

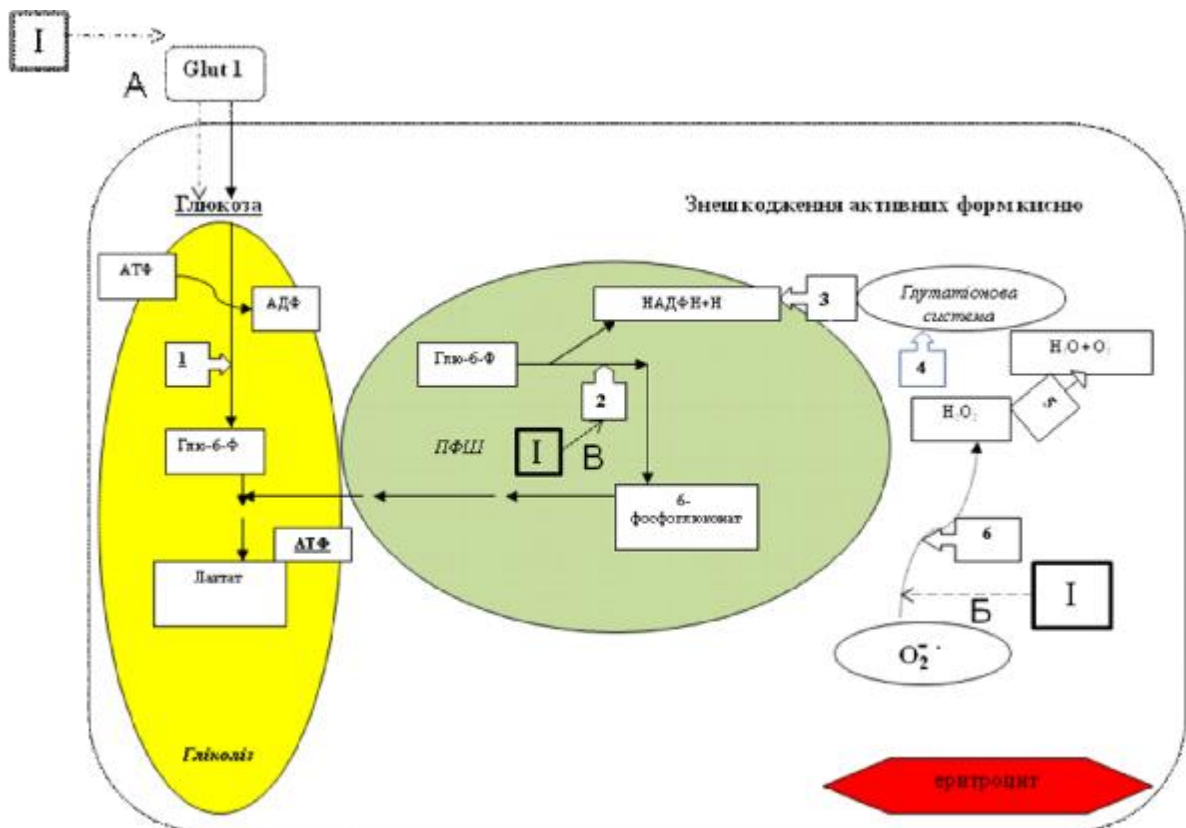


Рис. 2. Схема впливу I на енергетичний обмін еритроцитів.

Умовні позначення: \longrightarrow – напрямок послідовності біохімічних реакцій в інтактному еритроциті; $-\longrightarrow$ – вплив I на транспорт глюкози крізь еритроцитарну мембрану (А), на інтенсивність продукування активних форм кисню та його пригнічення (Б), на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (В). 1 – гексокіназа; 2 – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа; 3 – глутатіонредуктаза; 4 – глутатіонпероксидаза; 5 – каталаза, 6 – супероксиддисмутаза.

тичного шляху утилізації глюкози. Зменшення рівня АТФ може свідчити про зниження інтенсивності гліколітичних реакцій в еритроцитах, а також про інтенсивніше використання макроергічних субстратів для збільшених енерговитрат. Причиною зниження інтенсивності гліколітичних реакцій в еритроциті може бути не тільки зменшення рівня глюкози (у зв'язку з відсутністю її припливу з навколишнього середовища та утилізацією еритроцитами), а також пригнічення активності гексокіназної

активності. Використання кластерної сполуки ренію призводить до відновлення рівня глюкози, АТФ та гексокіназної активності, сприяючи нормалізації даних показників, що можна пояснити опосередкованим впливом даної сполуки на гальмування радикальних процесів та підтримку антиоксидантної системи організму і можливістю безпосереднього впливу сполуки ренію на енергетичні процеси червонокривців шляхом знешкодження активних форм кисню.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алейникова Т. А. Руководство к практическим занятиям по биологической химии / Т. А. Алейникова, Г. В. Рубцова. – М. : Высшая школа, 1988. – 223 с.
2. Атауллаханов Ф. И. Регуляция метаболизма в эритроцитах / Ф. И. Атауллаханов // Биохимия. – 1982. – **47**, вып. 1. – С. 143–148.
3. Воронкова Ю. С. Вплив кластерних сполук ренію з органічними лігандами на активність глюкозооксидази / Ю. С. Воронкова, Н. І. Штеменко //

- Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2011. – **1** вип. 2. – С. 18–23.
4. Воронкова Ю. С. Характеристика анемічного та гіпоглікемічного стану крові при розвитку карциноми Герена та застосуванні цисплатину і кластерних сполук ренію при різних формах введення / Ю. С. Воронкова, О. Д. Скорик, Н. І. Штеменко // Мед. хімія. – 2012. – **14**, № 2 (51). – С. 18–25.

5. Горячковский А. М. Пособие по клинической биохимии / А. М. Горячковский. – Одесса : ОКФА, 1994. – С. 255–258.
6. Ивашов В. А. Состояние отдельных биохимических показателей эритроцитов в норме и при хроническом посттравматическом остеомиелите / В. А. Ивашов, С. В. Коношенко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія: Біологія, хімія. – 2008. – **21** (60), № 2. – С. 46–49.
7. Изучение влияния комплексов ренина с органическими лигандами на кислотно-резистентность эритроцитов человека / Н. И. Штеменко, И. В. Пирожкова-Паталах, А. В. Штеменко, А. А. Голиченко // Укр. биохим. журн. – 2000. – **72**, № 3. – С. 77–81.
8. Казакова В. В. Окислительная модификация и изменения внутримолекулярной гидрофобности гемоглобина А при инкубации эритроцитов человека в среде Фентона / В. В. Казакова, Н. М. Елкина // Укр. біохім. журн. – 2007. – **79**, № 4. – С. 34–38.
9. Козлова Н. М. Эффект окисленного и восстановленного глутатиона на структуру мембраны эритроцитов / Н. М. Козлова, М. А. Катосова // Биофизика. – 2001. – **46**, № 3. – С. 467–470.
10. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высшая школа, 1980. – 271 с.
11. Леус І. В. Активність супероксиддисмутази та інтенсивність оксидативного стресу при застосуванні кластерних сполук ренію з алкільними лігандами як протипухлинних засобів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / О. Д. Скорик. – К., 2012. – 22 с.
12. Окислительная модификация белков сывотки крови человека, метод ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // Вопр. мед. хим. – 1996. – **41**, № 1. – С. 24–26.
13. Пирожкова-Паталах І. В. Антиоксидантна та антиканцерогенна активність кластерних сполук ренію : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / І. В. Пирожкова-Паталах. – Харків, 2001. – 18 с.
14. Скорик О. Д. Інтенсивність оксидативного стресу та склад вільних амінокислот крові при гальмуванні росту карциноми Герена сполуками ренію : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / О. Д. Скорик. – К., 2009. – 20 с.
15. Турпаев К. Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К. Т. Турпаев // Биохимия. – 2002. – **67**, вып. 3. – С. 339–352.
16. Airley R. E. Hypoxic Regulation of Glucose Transport, Anaerobic Metabolism and Angiogenesis in Cancer: Novel Pathways and Targets for Anticancer Therapeutics / R. E. Airley, A. Mobasher // Chemotherapy. – 2007. – **53**. – P. 233–256.
17. Arrigo A. P. Gene expression and thiol redox state / A. P. Arrigo // Free Radic. Biol. Med. – 1999. – **27**. – P. 936–944.
18. Boulard M. The effect of copper on red cell enzyme activities / M. Boulard, K. G. Blume, E. Beutler // J. Clin. Invest. – 1972. – **51**. – P. 459–461.
19. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallisation of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – **21**. – P. 224–226.
20. Fruehauf J. P. Reactive oxygen species: a breath of life or death? / J. P. Fruehauf, F. L. Meyskens // Clin. Cancer Res. – 2007. – **13**. – P. 789–794.
21. Glucose deprivation-induced metabolic oxidative stress and cancer therapy / A. L. Simons, D. M. Mattson, K. Dornfeld D. R. Spitz // J. Cancer Res. Ther. – 2009. – **5** (Suppl. 1): S2. – P. 1–7.
22. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction / F. C. Maarten, M. Knapen, L. M. Zusterzeel Petra [et al.] // Eur. J. Abstr. & Gynec. and Reproductive Biol. – 1999. – **82**. – P. 171–184.
23. Goodrich R. P. Preservation of metabolic activity in lyophilized human erythrocytes / R. P. Goodrich // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – **89**. – P. 967–971.
24. Hippeli S. Transition metal ion-catalyzed oxygen activation during pathogenic processes / S. Hippeli, E. F. Elstner, S. B. Erli // FEBS Lett. – 1999. – **443**. – P. 1–7.
25. Increased levels of superoxide and hydrogen peroxide mediate the differential susceptibility of cancer cells vs. normal cells to glucose deprivation / N. Aykin-Burns, I. M. Ahmad, Y. Zhu, [et al.] // Biochem J. – 2009. – **418**. – P. 29–37.
26. Medina R. A. Glucose transporters: expression, regulation and cancer / R. A. Medina, G. I. Owen // Biol. Res. – 2002. – **35** (1). – P. 1234–1262.
27. Nameth I. Blood glutathione redox status in gestational hypertension / I. Nameth, H. Orvos, D. Boda // Free Radic. Biology & Med. – 2001. – **30**, № 7. – P. 715–721.
28. Regulation of GLUT1-mediated sugar transport by an antiport/uniport switch mechanism / E. K. Cloherty, D. L. Diamond, K. S. Heard, A. Carruthers // Biochemistry. – 1996. – **35**. – P. 13231–13239.
29. Responses of thiols to an oxidant challenge: differences between blood and tissues in the rat / F. Giannerini, A. Deeker, G. Karioni [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2001. – **134**, № 1. – P. 73–85.
30. Rossi R. Different metabolizing ability of thiol reactants in human and rat blood: biochemical and pharmacological implications / R. Rossi, G. Evenson, Y. Lyu // J. Biol. Chem. – 2001. – **276**, № 10. – P. 7004–7010.
31. Savita Attri. Erythrocyte Metabolism and Antioxidant Status of Patients with Wilson Disease with Hemolytic Anemia / Savita Attri, Neeraj // Pediatr. Res. – 2006. – **59**. – P. 593–597.
32. Shtemenko A. V. Formation of binuclear halogenocarboxylates of rhenium with quadruple metal-to-metal bonds / A. V. Shtemenko, A. S. Kotel'nikova // Izvest. Acad. of Scienc. of USSR, Chemistry (Rus). – 1980. – **11**. – P. 2630–2631 (In Russian language).
33. Shtemenko N. Dichlorotetra- μ -isobutiratodirhenium(III): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties / N. Shtemenko, P. Collyer, A. Shtemenko // Anticancer Res. – 2007. – **27**. – P. 2487–2492.
34. Shtemenko N. I. Interaction of Rhenium cluster compounds with human blood proteins / N. I. Shtemenko, M. V. Gorelaya, L. M. Alexandrova // Metal Ions in Biology and medicine. – 2002. – **7**. – P. 34–36.

35. Shtemenko N. I. Screening and testing strategy for biological activity of rhenium cluster compounds / N. I. Shtemenko, I. V. Piroshkova-Patalakh, A. V. Shtemenko // Metal ions in biology and medicine. John Libbey Eurotext, Paris 6. – 2000. – P. 616–618.

36. Structural basis of GLUT 1 inhibition by cytoplasmic ATP / D. M. Blodgett, J. K. De Zutter, K. B. Levine [et al.] // J. Gen. Physiol. – 2007. – **130**, № 2. – P. 157–168.

37. Wiback S. J. Extreme pathway analysis of human red blood cell metabolism / S. J. Wiback, B. O. Palsson // Biophys. J. – 2002. – **83**, № 2. – P. 808–818.

38. Wondrak G. T. Redox-directed cancer therapeutics: molecular mechanisms and opportunities / G. T. Wondrak // Antioxidants and Redox signal. – 2009. – **12**. (Vol.11). – P. 3013–3069.

Ю. С. Воронкова, Н. И. Штеменко

ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ СОЕДИНЕНИЯ С ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СВЯЗЬЮ

Резюме

Установлено, что при инкубации эритроцитов в среде Фентона у них снижаются уровень глюкозы — на 27–55 %, АТФ — на 25–53 % и гексокиназная активность — на 29–50 %. Влияние кластерного соединения рения приводит к восстановлению уровня глюкозы, АТФ и гексокиназной активности, нормализуя данные показатели. Сделан вывод о том, что соединение рения может непосредственно влиять на энергетический обмен эритроцитов. Предложена схема влияния соединения рения на энергетический обмен эритроцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эритроцит, активные формы кислорода, глюкоза, АТФ, гексокиназная активность, кластерное соединение рения.

Yu. S. Voronkova, N. I. Shtemenko

OLES HONCHAR DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY

REGULATION OF ERYTHROCYTE ENERGY METABOLISM WITH QUADRUPLE BOND SUBSTANCE

Summary

It was found that incubation of red blood cells in Fenton medium led to the decreasing of glucose level on 27–55 %, ATP level on 25–53 % and hexokinase activity on 29–50 %. An influence of cluster Rhenium compound made recovery of glucose, ATP and hexokinase activity level that normalized these markers. We concluded that Rhenium compounds can influence on red blood cell energy metabolism. Scheme of Rhenium compounds influence on energy metabolism of red blood cells was proposed.

KEY WORDS: erythrocyte, oxygen active forms, glucose, ATP, hexokinase activity, cluster Rhenium compounds.

Отримано 22.04.13

Адреса для листування: Ю. С. Воронкова, пров. Вольний, 3, кв. 122, Дніпропетровськ, 49130, Україна.

**ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОНЦЕНТРАТІВ
З ВИНОГРАДУ ТА ЛІПОТРОПНИХ РЕЧОВИН НА МОДЕЛІ ХРОНІЧНОГО
ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ**

У даній експериментальній роботі було проведено порівняльне дослідження ліпотропної активності поліфенольних екстрактів з насіння винограду культурного сорту "Каберне" в комплексі з відомими ліпотропними речовинами метіоніном і холіном на стан метаболізму ліпідів, показники пероксидного окиснення ліпідів у печінці та сироватці крові щурів за умов хронічного токсичного ураження печінки, викликаного введенням тетрахлорметану. В печінці та сироватці крові визначали вміст загальних ліпідів, тріацилгліцеролів, вільних жирних кислот, холестеролу та загальний вміст фосфоліпідів. Отримані експериментальні дані свідчать про те, що серед субстанцій і препаратів, дію яких вивчали, більш виражений ліпотропний ефект продемонструвала комбінація, яка складалася з метіоніну та поліфенольного концентрату "Каберне", порівняно з дією його окремих компонентів. Цей ефект проявився зменшенням вираження процесів ліполізу, жирового гепатозу, значним зменшенням проявів гіперліпідемії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліфеноли, метіонін, холін, тетрахлорметан, фосфоліпіди, тріацилгліцероли.

ВСТУП. Хронічний гепатит – поліетіологічний запальний процес без порушення часточкової і судинної архітекτονіки печінки, що триває понад 6 місяців і проявляється астенодиспептичним синдромом, гепатомегалією та порушенням функції печінки [11]. Медикаментозна терапія спрямована на поліпшення процесів обміну, нормалізацію регенерації і підвищення резистентності гепатоцитів (базисна терапія) [2].

При лікуванні хронічних гепатитів рекомендується дотримання дієти, режиму, призначають гепатопротектори, зокрема широко використовують метіонін та холін. Слід зазначити, що ці сполуки відіграють важливу роль у функціонуванні печінки. Так, утримання щурів на раціоні, дефіцитному за метіоніном та холіном, призводить до розвитку неалкогольного стеатогепатиту [5]. Пероральне введення S-аденозил-L-метіоніну пацієнтам із хронічним алкогольним ураженням печінки зменшує рівень білірубину, активність амінотрансфераз у крові хворих [8].

При хронічних гепатитах, які не потребують гормональної терапії, можливе самостійне ефективне лікування настоями лікарських трав [2]. Завдання фітотерапії захворювань печінки досить широкі – необхідно зменшити

інтоксикацію, запалення, збільшити жовчовиділення, зняти спазми, стимулювати відведення жовчі, зменшити біль, скоротити число некротизованих гепатоцитів і відновити ті з них, які ще зберігають життєздатність.

Рослинні поліфеноли демонструють широкий спектр фармакологічних ефектів, вони, зокрема, проявляють антиоксидантну, мембраностабілізуючу, імуномодулюючу, проти-запальну активність [12]. Багатим джерелом рослинних поліфенолів є насіння винограду культурного. Встановлено, що введення екстракту поліфенолів винограду значно знижує рівень вільних жирних кислот у плазмі крові, зменшує активність печінкових ферментів та нормалізує обмін ліпідів у печінці мишей зі стеатогепатитом неалкогольного походження [3, 4].

Метою даної роботи було провести порівняльне дослідження ліпотропної активності поліфенольних екстрактів з насіння винограду культурного сорту "Каберне" в комплексі з відомими ліпотропними речовинами метіоніном і холіном на стан метаболізму ліпідів, показники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці та сироватці крові щурів за умов хронічного токсичного ураження печінки, спричиненого введенням тетрахлорметану.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на самцях щурів масою 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Хронічне ураження печінки в щурів моделювали шляхом підшкірного введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 4 мл/кг 2 рази на тиждень протягом 60 днів [11].

Тварин було поділено на шість дослідних груп: 1-ша – інтактний контроль; 2-га – контрольна патологія; 3-тя – одночасно з тетрахлорметаном вводили поліфенольний екстракт “Каберне” в дозі 9 мг/100 г маси тіла (в перерахунку на поліфеноли); 4-та – на тлі тетрахлорметанового ураження печінки вводили метіонін у дозі 2 г/кг; 5-та – одночасно з тетрахлорметаном вводили поліфенольний екстракт “Каберне” в дозі 9 мг/100 г маси тіла (в перерахунку на поліфеноли) та метіонін у дозі 2 г/кг; 6-та – одночасно з тетрахлорметаном вводили поліфенольний екстракт “Каберне” в дозі 9 мг/100 г маси тіла (в перерахунку на поліфеноли) та холіну хлорид у дозі 2 г/кг. Досліджувані поліфенольні комплекси, метіонін та холін вводили за годину до введення тетрахлорметану.

Після закінчення експерименту тварин декапітували, збирали кров для отримання сироватки.

Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Гомогенат готували у співвідношенні 1 частина печінки : 3 частини 0,1 М Трис-НСІ буфера (рН 7,5). В печінці та сироватці крові визначали вміст загальних ліпідів (ЗЛ), триацилгліцеролів (ТГ), вільних жирних кислот (ВЖК), холестеролу (ХС) і загальний вміст фосфоліпідів (ЗФЛ) за допомогою стандартних наборів реактивів фірми “Seltiel” (Італія). В сироватці крові активність ферментів-маркерів цитолізу гепатоцитів аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ) та γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) визначали, використовуючи стандартні набори реактивів фірми “Felicite-Діагностика”. Вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у гомогенаті печінки визначали колориметричним методом, який ґрунтується на здатності цієї суми сполук утворювати в кислому середовищі забарвлені триметинові комплекси з тіобарбітуровою кислотою, що мають максимум поглинання при довжині хвилі 532 нм [9]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали за здатністю низькомолекулярних тіолових сполук утворювати під час взаємодії з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензоатом забарвлену сполуку – тіо-2-нітробензойну кислоту, водний розчин якої має характерний максимум поглинання при довжині хвилі 412 нм

[7]. Активність каталази визначали за зменшенням вмісту гідрогену пероксиду в інкубаційному середовищі. Метод визначення активності каталази базується на здатності гідрогену пероксиду утворювати із солями амоніаку стійкі забарвлені екстракти, які мають максимум поглинання при довжині хвилі 410 нм [6].

Статистичну обробку даних проводили за використанням варіаційної статистики (ANOVA). $P < 0,05$ – статистично достовірні результати.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За умов гострого ураження печінки спостерігали порушення обміну ліпідів у печінці, що відобразилось на показниках у сироватці крові. Так, у тканині печінки зростав вміст загальних ліпідів (на 86 %) за рахунок підвищення вмісту ТГ, ХС та деякого збільшення рівня ВЖК у клітинах печінки (на 148, 151 і 81 % відповідно) (табл. 1). При цьому відзначали достовірне зменшення вмісту ЗФЛ у тканині печінки (на 46 %). Зниження вмісту фосфоліпідів може свідчити про пошкодження мембран, яке може призводити до порушення цілості клітин та розвитку некротичних процесів. Зазначені припущення підтверджуються значним підвищенням у сироватці активності печінкових ферментів: АлАТ, ЛФ та ГГТП (табл. 2). Окрім того, в тканині печінки зменшувався вміст ВГ та зростав рівень ТБК-АП, що свідчило про посилення процесів ПОЛ за даних експериментальних умов.

Введення експериментальним тваринам метіоніну значно покращувало функціональний стан печінки. Так, у печінці щурів збільшувався вміст ЗФЛ та, відповідно, зменшувалася кількість ТГ, ВЖК та ХС (табл. 1). При введенні метіоніну тваринам спостерігали зниження активності печінкових ферментів у крові та значне підвищення рівня ВГ у печінці (табл. 1, 2).

Відомо, що метіонін проявляє гепатопротекторну та ліпотропну активність у декількох напрямках: є донором метильних груп, необхідних у синтезі головного фосфоліпиду плазматичних мембран – фосфатидилхоліну [7], і важливим джерелом синтезу глутатіону.

Таким чином, під дією метіоніну спостерігали підвищення ЗФЛ, зменшення процесів ПОЛ та ВРО у клітинах, що призводило до покращення стану мембран гепатоцитів, про що свідчило зниження активності печінкових ферментів у сироватці крові тварин (табл. 2).

Введення поліфенольного комплексу “Каберне” тваринам за умов розвитку хронічного тетрахлорметанового гепатиту призводило до істотних позитивних змін у печінці та сироватці крові. Було показано, що поліфенольний

екстракт з насіння винограду сорту “Каберне” знижував вміст ТБК-АП, підвищував вміст ВГ у печінці (табл. 2). Слід також відзначити суттєвий вплив поліфенольного концентрату з насіння винограду сорту “Каберне” на показники обміну ліпідів у печінці (табл. 1). Так, вміст ЗФЛ зростав у 1,4 раза, вміст ВЖК зменшувався в 1,2 раза порівняно з контрольною патологією (табл. 1).

Аналіз експериментальних даних, наведених у таблицях 1 та 2, показав, що введення комплексу, який складався з метіоніну та поліфенольного концентрату “Каберне”, чинило найбільш виражений вплив на вміст різних класів ліпідів у сироватці крові та тканині печінки порівняно з окремим введенням компонентів (табл. 1). Введення комбінації поліфенолів одночасно з метіоніном значно підвищувало вміст ФЛ, знижувало вміст ТГ та ВЖК, пригнічувало процеси ПОЛ, про що свідчили зменшення вмісту ТБК-реактивів у печінці, збільшення рівня ВГ. На ефективність ліпотропної дії цього комплексу вказувало значне зниження у сироватці крові активності маркерних печінкових ферментів АлАТ, ЛФ, ГГТП порівняно з метіоніном та поліфенольним екстрактом “Каберне” (табл. 2). Значний ефект комбінованого введення може бути пов’язаний з тим, що окремі компоненти цього комп-

лексу потенціюють дію один одного. Так, метіонін посилює утворення головного фосфоліпиду плазматичних мембран – лецитину, а поліфенольні компоненти захищають молекули лецитину, зокрема його поліненасичені фрагменти, від пошкодження внаслідок ПОЛ [10]. Це прискорює відновлення структури біомембран.

Одночасне введення комплексу поліфенолів “Каберне” та холіну, який мав виражені ліпотропні властивості, також покращувало показники ліпідного обміну як у печінці, так і в сироватці крові (табл. 1), що також підтверджувалося позитивними змінами активності маркерних ферментів печінки та зниженням інтенсивності процесів ПОЛ у клітинах печінки (табл. 2). Проте ці зміни були менш вираженими, ніж при введенні у комплексі з поліфенолами метіоніну (табл. 2). Більш ефективна дія метіоніну може бути пов’язана з тим, що метіонін не тільки необхідний для синтезу холіну, з дефіцитом якого пов’язані порушення синтезу фосфоліпідів з жирів і відкладення в печінці нейтрального жиру [2, 7], але й активує дію гормонів, вітамінів (В₁₂, аскорбінової, фолієвої кислот), ферментів, білків, бере участь в обміні сульфуровмісних амінокислот, інших біологічно важливих сполук, реакціях переметилування, дезамінування, декарбоксилу-

Таблиця 1 – Вивчення впливу поліфенольних екстрактів з насіння винограду на метаболізм ліпідів у печінці й сироватці крові на моделі хронічного тетрахлорметанового гепатиту (n=6)

Показник	Група					
	інтактний контроль	контрольна патологія	“Каберне” 0,5 мг/кг	метіонін 25 мг/кг	“Каберне”+ метіонін	“Каберне”+ холін
У тканині печінки						
ЗЛ, мг/г тканини	158,25±6,35	294,71±12,14*	201,14±9,59**	193,03±7,16*,**	179,67±8,41*/**	201,45±9,73*,**
ХС, ммоль/г	15,56±1,97	39,51±3,84*	31,56±3,31*/**	28,79±3,42*/**	20,01±3,35**	25,74±3,88*/**
ТГ, мг/г	5,69±0,21	14,12±1,32*	10,83±0,45*/**	9,46±0,49*/**	7,75±0,56**	8,53±0,64*/**
ВЖК, ммоль/г	3,97±0,21	7,21±0,53*	6,06±0,45**	5,95±0,31*/**	4,95±0,57**	5,31±0,31*/**
ЗФЛ, ммоль/г	39,53±1,99	18,23±1,67*	24,97±2,21*/**	28,35±2,93*/**	34,53±3,57*/**	31,53±3,26*/**
У сироватці крові						
ЗЛ, мг/мл	1,98±0,11	3,11±0,19*	2,68±0,17**	2,43±0,09*/**	2,12±0,11*/**	2,45±0,19*/**
ХС, ммоль/л	6,13±0,28	13,47±0,91*	11,89±0,56*/**	9,45±0,37*	7,97±0,26*	9,01±0,35*
ТГ, мг/мл	0,55±0,09	2,03±0,15*	1,71±0,09**	1,43±0,11*	0,95±0,16*/**	1,31±0,08*
ВЖК, ммоль/л	1,51±0,09	4,37±0,21*	3,48±0,19*/**	2,83±0,21	2,34±0,19**	2,75±0,22
ЗФЛ, ммоль/л	13,51±0,43	7,31±0,32*	9,49±0,63*/**	10,54±0,35*/**	11,97±0,54**	9,72±0,38*/**

Примітки. У цій і наступній таблицях:

- 1) * – відхилення достовірне відносно інтактного контролю;
- 2) ** – відхилення достовірне відносно контрольної патології.

Таблиця 2 – Вивчення гепатозахисної дії поліфенольних екстрактів з насіння винограду на моделі хронічного тетрахлорметанового гепатиту (n=6)

Показник	Група					
	інтактний контроль	контрольна патологія	“Каберне” 0,5 мл/кг	метіонін 25 мг/кг	“Каберне”+ метіонін	“Каберне”+ холін
У тканині печінки						
ТБК-АП, мкмоль/г	57,77±3,11	115,31±5,67*	81,35±5,39**	98,43±7,11**	71,45±4,98**	88,57±6,33**
ВГ, ум. од.	39,16±3,65	17,84±1,89**	25,84±2,98**	33,01±2,04**	35,07±2,22**	26,51±2,38**
Каталаза, мкат/л	2,87±0,16	3,48±0,17	2,42±0,15**	3,23±0,19**	2,60±0,15	3,19±0,21**
У сироватці крові						
АлАТ, ммоль/г-л	0,76±0,07	1,96±0,09*	1,26±0,09**	1,25±0,11**	0,97±0,09**	1,47±0,16**
ГГТП, ммоль/г-л	2,99±0,19	7,05±0,63*	4,63±0,22**	4,38±0,29**	3,55±0,23**	5,93±0,36**
ЛФ, мкат/л	3,31±0,24	5,52±0,33*	4,58±0,24**	4,21±0,23	3,72±0,22**	4,91±0,27

вання амінокислот, що також відіграє важливу роль у відновленні метаболічних процесів у печінці після введення токсичного агента.

ВИСНОВКИ. Серед субстанцій та препаратів, дію яких вивчали, більш виражений ліпотропний ефект продемонструвала ком-

бінація, яка складалася з метіоніну та поліфенольного концентрату “Каберне”, порівняно з дією його окремих компонентів. Цей ефект проявився зменшенням вираження процесів ліполізу, жирового гепатозу, значним зменшенням проявів гіперліпідемії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения / под общ. ред. В. Т. Ивашкина. – М. : Литтерра, 2003. – 251 с.
3. Grape seed extract improves liver function in patients with nonalcoholic fatty liver change / M. Khoshbaten, A. Aliasgarzadeh, K. Masnadi [et al.] // *J. Gastroenterol.* – 2010. – **16**, № 3. – P. 194–197.
4. Improvement of high-fat diet-induced obesity by a mixture of red grape extract, soy isoflavone and L-carnitine: implications in cardiovascular and non-alcoholic fatty liver diseases / J. S. Kang, W. K. Lee, C. W. Lee [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2011. – **49**, № 9. – P. 2453–2458.
5. Karahan N. Effects of probiotics on methionine choline deficient diet-induced steatohepatitis in rats / N. Karahan // *Turk. J. Gastroenterol.* – 2012. – **23**, № 2. – P. 110–121.
6. Levels of hemoglobin and lipid peroxidation metabolites in blood, catalase activity in erythrocytes and peak expiratory flow rate in subjects with passive exposure to tobacco smoke / M. Zawadzki, P. Gac, R. Poreba [et al.] // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2008. – **118**, № 12. – P. 705–712.
7. N-Acetylcysteine inhibits platelet-monocyte conjugation in patients with type 2 diabetes with depleted intraplatelet glutathione: a randomized controlled trial / A. T. Treweeke, T. J. Winterburn, I. Mackenzie [et al.] // *Diabetologia.* – 2012. – **55**, № 11. – P. 2920–2928.
8. S-adenosyl-L-methionine treatment for alcoholic liver disease: a double-blinded, randomized, placebo-controlled trial / V. Medici, M. C. Virata, J. M. Pearson [et al.] // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2011. – **35**, № 11. – P. 1960–1965.
9. Serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances are associated with risk of coronary heart disease / S. Tanaka, T. Miki, S. Sha [et al.] // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2011. – **18**, № 7. – P. 584–591.
10. Specific contribution of methionine and choline in nutritional nonalcoholic steatohepatitis: impact on mitochondrial S-adenosyl-L-methionine and glutathione / F. Caballero, A. Fernandez, N. Matias [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2010. – **285**, № 24. – P. 18528–18536.
11. Treatment for restless legs syndrome secondary to chronic liver disease: a case report / T. Oguri, H. Sugiyama, T. Hamano, N. Tachibana // *Intern. Med.* – 2012. – **51**, № 8. – P. 933–934.
12. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols / R. Tsao // *Nutrients.* – 2010. – **2**, № 12. – P. 1231–1246.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ИЗ ВИНОГРАДА И ЛИПОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА

Резюме

В данной экспериментальной работе было проведено сравнительное исследование липотропной активности полифенольных экстрактов из семян винограда культурного сорта "Каберне" в комплексе с известными липотропными веществами метионином и холином на состояние метаболизма липидов, показатели пероксидного окисления липидов в печени и сыворотке крови крыс в условиях хронического токсического поражения печени, вызванного введением тетрахлорметана. В печени и сыворотке крови определяли содержание общих липидов, триацилглицеролов, свободных жирных кислот, холестерина и общее содержание фосфолипидов. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что среди субстанций и препаратов, действие которых изучали, более выраженный липотропный эффект продемонстрировала комбинация, состоящая из метионина и полифенольного концентрата "Каберне", по сравнению с действием его отдельных компонентов. Этот эффект проявился уменьшением выраженности процессов липолиза, жирового гепатоза, значительным уменьшением проявлений гиперлипидемии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полифенолы, метионин, холин, тетрахлорметан, фосфолипиды, триацилглицеролы.

A. L. Zahayko, S. V. Zaika, I. V. Senyuk
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

A COMPARATIVE STUDY OF LIPOTROPIC ACTIVITY OF GRAPE POLYPHENOLIC EXTRACTS AND LIPOTROPIC AGENTS UNDER CARBON TETRACHLORIDE CHRONIC TOXIC LIVER INJURY

Summary

A comparative study of lipotropic activity of "Cabernet" grape seeds polyphenolic extracts and lipotropic agents methionine and choline on the state of lipid metabolism, lipid peroxidation in liver and serum of rats under carbon tetrachloride chronic toxic liver injury was conducted. Chronic toxic liver injury was induced by administration of carbon tetrachloride. In the liver and blood serum content of total lipids, triacylglycerols, free fatty acids, cholesterol and total phospholipids were measured. It was found that among the substances and preparations were studied, more lipotropic effect demonstrated by a combination of a polyphenol concentrate "Cabernet" and methionine, compared to the effect of its isolated components. This effect is manifested in the reduction of the lipolysis and a significant reduction of hyperlipidemia symptoms.

KEY WORDS: liver, carbon tetrachloride, triacylglycerol, cholesterol, grape, polyphenols.

Отримано 25.04.13

Адреса для листування: А. Л. Загайко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна, e-mail: biochem@ukrfa.kharkov.ua.

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ХВОРИХ НА ЦИРОЗ ПЕЧІНКИ ПІД ВПЛИВОМ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЕНЕРЛІВУ

Вивчено клініко-біохімічні показники у хворих на цироз печінки під впливом комплексної терапії із застосуванням енерліву. Встановлено, що включення енерліву в комплексну терапію покращує клініко-біохімічні показники, приводить до суттєвого зниження проявів цитолітичного і холестатичного синдромів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цироз печінки, клініко-біохімічні показники, енерлів.

ВСТУП. Цироз печінки (ЦП) посідає перше місце серед причин смертності від хвороб органів травлення. В Україні за останні 10 років захворюваність на ЦП зросла на 75,6 %, поширеність ЦП – на 59,6 % [1]. ЦП у 2 рази частіше зустрічається в чоловіків віком старше 40 років [3, 6, 10, 11]. Такі статистичні дані підкреслюють важливість пошуків причин збільшення патології печінки для активного впливу на них з метою зупинки прогресування патологічного процесу в організмі [2, 5, 7, 8]. Результати останніх досліджень свідчать про те, що есенціальні фосфоліпіди, одержані із соєвих бобів, знижують активність формування алкогільндукованого фіброзу печінки і запобігають формуванню цирозу. Крім того, есенціальні фосфоліпіди вибірково попереджують індуковане ацетальдегідом відкладання колагену в культурі ліпоцитів печінки. Вони як гепатопротектори стабілізують клітинні мембрани, підвищують активність ферментних систем, покращують реологічні властивості крові й мікроциркуляцію, сприяють відновленню функції печінки при різних пошкодженнях [4, 9, 12].

Метою даного дослідження було вивчити клініко-біохімічні показники у хворих на алкогільний цироз печінки (АЦП) під впливом комплексного лікування із застосуванням енерліву.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У процесі дослідження обстежено 30 хворих на АЦП. Серед них було 18 (60,0 %) чоловіків та 12 (40,0 %) жінок. Вік пацієнтів коливався від 45 до 70 років. Тривалість захворювання складала (1,9±0,4) року. Контрольну групу склали 20 прак-

тично здорових осіб. Умовою відбору хворих була відсутність тяжкої супутньої патології, виключено вірусну етіологію захворювання. З метою формування однорідних за нозологічною формою захворювання груп для інтерпретації показників, які вивчали, у дослідження включили хворих на АЦП у стадії субкомпенсації. Пацієнтів поділили на дві групи: 1-ша група (18 хворих) одержувала стандартне комплексне лікування (гепабене, сечогінні, вітаміни, лактулозу, дезінтоксикаційні засоби); 2-га група (12 хворих) додатково приймала й енерлів по 2 капсули 3 рази на день до їди, не розжовуючи, запиваючи достатньою кількістю рідини, протягом місяця. Діагноз верифікували на основі клінічних, лабораторних та інструментальних досліджень. Функціональний стан печінки оцінювали за клінічними даними, показниками біохімічного аналізу крові (білірубін, трансамінази, загальний білок, альбуміни, глобуліни, загальний холестерин, лужна фосфатаза, тригліцериди, гамма-глутамінтранспептидаза, протромбін). При УЗД печінки було діагностовано портальну гіпертензію: збільшення діаметра портальної та селезінкової вен, спленомегалію. Статистичну обробку отриманих даних проводили на персональному комп'ютері IBM РТ/АТ за допомогою пакета статистичних програм "Statistica SI for Windows" ("Sun Soft", США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що застосування енерліву покращує процеси травлення в комплексному лікуванні хворих на АЦП, поліпшує апетит, сон; приводить до більш швидкої ліквідації клінічних проявів

патологічного процесу: у хворих 2-ї групи зник больовий синдром, диспепсичний залишився у 20,3 %, астеновегетативний – у 21,4 %, у хворих 1-ї групи – 14,6, 25,3, 27,5 % відповідно. Вплив комплексної терапії з енерлівом на динаміку біохімічних показників крові наведено в таблиці.

З наведених даних видно, що під впливом запропонованого комплексного лікування із застосуванням енерліву рівень білірубину після лікування достовірно знизився з (27,88±0,78) до (20,97±0,81) мкмоль/л (p<0,001). Активність цитолізу також суттєво зменшилась під впливом комплексного лікування з використанням енерліву: АсАТ – з (0,69±0,03) до (0,57±0,03) ммоль/(л·год);

АлАТ – з (0,86±0,04) до (0,69±0,05) ммоль/(л·год) (p<0,05), тоді як у 1-й групі мала лише тенденцію до зниження (p>0,05). Рівень холестерину достовірно знизився у хворих 2-ї групи.

ВИСНОВКИ. 1. Комплексна терапія з використанням енерліву спричиняє у хворих на алкогольний цироз печінки вірогідно кращу динаміку всіх основних клінічних синдромів.

2. Застосування енерліву в комплексному лікуванні хворих на субкомпенсований алкогольний цироз печінки приводить до достовірного покращення біохімічних показників крові (цитолітичного і холестатичного синдромів).

Таблиця – Вплив комплексної терапії з енерлівом на біохімічні показники крові у хворих на цироз печінки (M±m)

Показник	Здорові (n=20)	1-ша група (n=18)			2-га група (n=12)		
		до лікування	після лікування	p ₁	до лікування	після лікування	p ₂
Загальний білірубін, мкмоль/л	12,41±0,22	30,82±3,67*	22,37±1,50*	<0,05	27,83±0,81*	23,30±0,82*	<0,001
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,34±0,02	0,77±0,09*	0,72±0,08*	>0,05	0,71±0,04*	0,58±0,04*	<0,05
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,44±0,03	1,01±0,12*	0,84±0,07*	>0,05	0,74±0,04*	0,63±0,03*	<0,05
Холестерин, ммоль/л	5,2±0,3	7,1±0,3*	7,04±0,28*	>0,05	7,6±0,2*	6,4±0,22*	<0,001

Примітки:

- * – достовірність різниці показників обстежених і здорових;
- p₁, p₂ – достовірність різниці між значеннями показників до і після лікування хворих 1-ї та 2-ї груп.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алкогольная болезнь органов пищеварения: клинические очерки / под ред. Н. В. Харченко, Н. Б. Губергриц. – К. : Новый друк, 2009. – 180 с.
2. Антиоксиданты в лечении декомпенсированных циррозов печени / О. Е. Самогальская, Е. М. Стародуб, Т. Б. Лазарчук, Н. М. Олійник // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга : материалы VIII Международного Словяно-Балтийского научного форума “Санкт-Петербург – 2008”. – № 2–3. – С. 101–102.
3. Бабак О. Я. Достижения и перспективы гастроэнтерологии / О. Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 6 (50). – С. 6–26.
4. Гастроэнтерология: национальное руководство / под ред. В. Т. Ивашкина, Т. В. Лапиной. – М. : GEATOP Медиа, 2008. – 704 с.
5. Денисюк В. І. Цироз печінки: стандарти діагностики та лікування з урахуванням рекомендацій доказової медицини / В. І. Денисюк, О. В. Денисюк, Є. С. Осядла // Гастроентерологія. – 2012. – № 2–3. – С. 73–81.

6. Захараш А. Д. Патогенетичні механізми прогресування і перебігу хронічних дифузних захворювань печінки з синдромом холестази / А. Д. Захараш, О. І. Дельцова // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : збірник матеріалів конференції, 17 квітня 2012. – С. 39.
7. Колганова К. М. Применение гепатопротекторов в клинической практике / К. М. Колганова // Здоров'я України. – 2009. – № 18 (223). – С. 53.
8. Олійник Н. М. Оптимізація лікування цирозів печінки / Н. М. Олійник // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – № 6 (44). – С. 47–50.
9. Степанов Ю. М. Эссенциальные фосфолипиды в лечении заболеваний печени: патогенетическое обоснование и данные доказательной медицины / Ю. М. Степанов, Г. Д. Осёдло // Здоров'я України. Гастроентерологія, гепатологія, колопроктологія. – 2012. – № 3 (25). – С. 37.
10. Ткач С. М. Перспективы развития гепатологии в ближайшем и недалеком будущем / С. М. Ткач //

Здоров'я України. Гастроентерологія, гепатологія, колопроктологія. – 2012. – № 3 (25). – С. 10–11.

11. Фадєєнко Г. Д. Чинники прогресування фіброзу печінки / Г. Д. Фадєєнко, Н. О. Кравченко,

Н. В. Ярмиш // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – № 1 (33). – С. 18.

12. Shuppan D. Цирроз печінки / D. Shuppan, N. Afdhal // Therapia: 2008. – № 6 (27). – Р. 8–22.

Г. В. Лихацька

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭНЕРЛИВА

Резюме

Изучено клинико-биохимические показатели у больных циррозом печени под влиянием комплексной терапии с применением енерлива. Установлено, что включение енерлива в комплексную терапию улучшает клинико-биохимические показатели, приводит к существенному снижению проявлений цитолитического и холестатического синдромов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цирроз печени, клинико-биохимические показатели, енерлив.

H. V. Lykhatska

I. YA. HORBCHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF CLINICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS OF THE LIVER IN COMPLEX TREATMENT BY ENERLIV

Summary

Dynamics of clinical and biochemical parameters in patients with cirrhosis of the liver in complex treatment by Enerliv was studied. It was set that Enerliv in complex treatment improves clinical and biochemical parameters and reduce the symptoms of cytolytical and cholestatical syndromes.

KEY WORDS: cirrhosis of the liver, clinical and biochemical parameters, Enerliv.

Отримано 08.04.13

Адреса для листування: Г. В. Лихацька, вул. 15 квітня, 10, кв. 1, Тернопіль, 46000, Україна.

Х. А. Москва¹, Л. Є. Лаповець², О. П. Кіхтяк²
ЛЬВІВСЬКИЙ ОБЛАСНИЙ ЕНДОКРИНОЛОГІЧНИЙ ДИСПАНСЕР¹
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО²

ВПЛИВ ПІОГЛІТАЗОНУ НА РІВЕНЬ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНУ У ХВОРИХ НА ГІПОТИРЕОЗ ТА ПРЕДІАБЕТ

За останнє десятиліття вдалося з'ясувати, що у хворих на гіпотиреоз спостерігають інсулінорезистентність, що часто відповідає стадії предіабету. В результаті проведеного дослідження виявлено додаткові можливості піоглітазону щодо його впливу на тиреоїдний статус, а саме посилення впливу замісної терапії левотироксином. Після додаткового призначення піоглітазону хворим на гіпотиреоз з інсулінорезистентністю і предіабетом відзначено зниження рівня глікованого гемоглобіну, глюкози та інсуліну натще, індексу НОМА-ІR. Наше спостереження дозволяє підтвердити раніше висловлене припущення про можливість перехресної взаємодії між рецепторами до тиреоїдних гормонів та PPAR-γ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпотиреоз, інсулінорезистентність, піоглітазон, індекс НОМА-ІR, індекс НОМА-β.

ВСТУП. Згідно з уніфікованим клінічним протоколом первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги “Цукровий діабет 2 типу”, затвердженим наказом МОЗ України від 21.12.2012 р., під терміном “предіабет” розуміють порушення глікемії натще та/або порушення толерантності до глюкози [1]. Окрім вищезгаданого, Американська діабетична асоціація розглядає і такий параметр, як глікований гемоглобін, який повинен бути вищим 5,6 % і нижчим 6,5 % для діагнозу предіабету [3]. В основі патогенезу предіабету лежить інсулінорезистентність, яку зазвичай оцінюють за даними глюкози та інсуліну.

За останнє десятиліття вдалося з'ясувати, що інсулінорезистентність розвивається і при гіпотиреозі. Ймовірно, саме цей механізм пояснює коморбідність гіпотиреозу із цукровим діабетом 2-го типу (розвивається з предіабету), бо є спільним для обох патологій [10]. Достеменно невідомо, чи інсулінорезистентність відіграє роль провокатора розвитку гіпотиреозу, чи з'являється у процесі порушень тиреоїдного статусу. Все ж у будь-якому разі при гіпотиреозі часто фіксують такі стани, як порушення толерантності до глюкози, порушення рівнів глюкози натще, підвищення глікованого гемоглобіну або лише інсулінорезистентність. Саме тому виник інтерес до інсулінових сенситайзерів

© Х. А. Москва, Л. Є. Лаповець, О. П. Кіхтяк, 2013.

(зокрема агоністів PPAR-γ) як препаратів, які призначають для підвищення чутливості тканин до інсуліну при цукровому діабеті 2-го типу та за умови предіабету.

Рецептори до тиреоїдних гормонів і PPAR-γ відносять до однієї суперсім'ї ядерних рецепторів, що може призводити до перехресних реакцій між відповідними сигнальними шляхами. Зокрема, було встановлено, що інтрацеребральне введення PPAR-γ агоніста розглітазону змінювало транскрипцію тиреотропіна-рилізингового гормону в гіпоталамусі та підвищувало вміст тироксину в крові [8].

Метою даної роботи було з'ясувати, чи PPAR-γ агоніст піоглітазон (дозволений до використання в Україні) впливатиме на тиреоїдний статус через підвищення чутливості до інсуліну в пацієнтів з гіпотиреозом та інсулінорезистентністю.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідженні брали участь 25 осіб, хворих на гіпотиреоз, серед них 8 чоловіків і 17 жінок, середній вік яких становив 53,04 року. Пацієнтів відбирали під час консультацій на амбулаторному прийомі Львівського обласного ендокринного диспансеру та консультацій на кафедрі ендокринології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Умовами включення в дослідження

були: згода пацієнта на участь в обстеженні та лікування, наявна інсулінорезистентність, відсутність цукрового діабету та інших тяжких супутніх захворювань.

Тривалість дослідження – (180 ± 15) днів. Дослідження проводили у два етапи по 3 місяці кожен. На першому етапі всі пацієнти не приймали жодного іншого лікування, крім замісної терапії, призначеної під час консультації. Хворі отримували левотироксин залежно від необхідності – від 50 до 125 мкг на добу з метою досягнення еутиреозу. До і після курсу терапії у пацієнтів визначали рівень тиреотропного гормону (ТТГ) гіпофіза, вільного тироксину, вільного трийодтироніну, концентрацію глюкози натще, інсулін натще, глікований гемоглобін (HbA1c), обчислювали НОМА-індекс інсулінорезистентності (НОМА-IR) та НОМА-індекс функції β -клітин (НОМА- β). У хворих визначали також показники ліпідного обміну, такі, як загальний холестерин, тригліцериди, ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ), та вираховували коефіцієнт атерогенності (КА).

На початку другого етапу всім пацієнтам до замісної терапії додатково призначили піоглітазон у дозі 30 мг на добу зранку незалежно від приймання їжі. Через три місяці усіх їх повторно було обстежено.

Вміст глюкози в крові, глікованого гемоглобіну, загального холестерину, тригліцеридів, ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ визначали на біохімічному аналізаторі "COBAS INTEGRA 400 plus"; вміст С-пептиду, інсуліну – імунохемилюмінесцентним методом на імунологічному аналізаторі "Immulite 1000"; тиреотропний гормон,

вільний трийодтиронін, вільний тироксин – імуноферментним методом на автоматичному мікропланшетному зчитувачі "Sunrise Tecan". НОМА-IR, НОМА- β [9] та КА розраховували за такими формулами:

$$\text{НОМА-IR} = \frac{\text{глюкоза натще (ммоль/л)} \times \text{інсулін натще (мМО/л)}}{22,5}$$

$$\text{НОМА-}\beta = \frac{\text{інсулін натще (мМО/л)} \times 20}{\text{глюкоза натще (ммоль/л)} - 3,5}$$

$$\text{КА} = \frac{\text{загальний холестерин (ммоль/л)} - \text{ЛПВЩ (ммоль/л)}}{\text{ЛПВЩ (ммоль/л)}}$$

Параметричні дані представлено як $(M \pm m)$, оскільки розподіл показників був нормальним. Статистичну обробку даних проводили варіаційно-статистичним методом за допомогою програмного забезпечення "Excel" ("Microsoft Office", США) і "Statistica" 7.0 ("Statsoft", США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як показано на рисунку 1, на фоні лікування левотироксином відмічено достовірне зниження концентрації ТТГ від $(40,21 \pm 3,18)$ до $(3,52 \pm 0,28)$ наприкінці першого етапу і до $(1,57 \pm 0,15)$ мМО/л ($p < 0,001$) у кінці другого етапу дослідження. Підвищення рівнів гормонів щитоподібної залози також було достовірним ($p < 0,001$), вільний тироксин на початку дослідження визначався на рівні $0,51 \pm 0,06$ нг/дл, згодом збільшився до $(1,23 \pm 0,09)$ і $(1,65 \pm 0,08)$ нг/дл відповідно, що вказувало на ефективність лікування, а саме компенсацію гіпотиреозу та досягнення рівнів еутиреозу.

Щодо ліпідного обміну, то було відмічено поступове зниження показників загального холестерину ($(5,82 \pm 0,28)$ при монотерапії та $(5,40 \pm 0,25)$ ммоль/л у комбінації з піоглітазоном) порівняно з вихідними даними

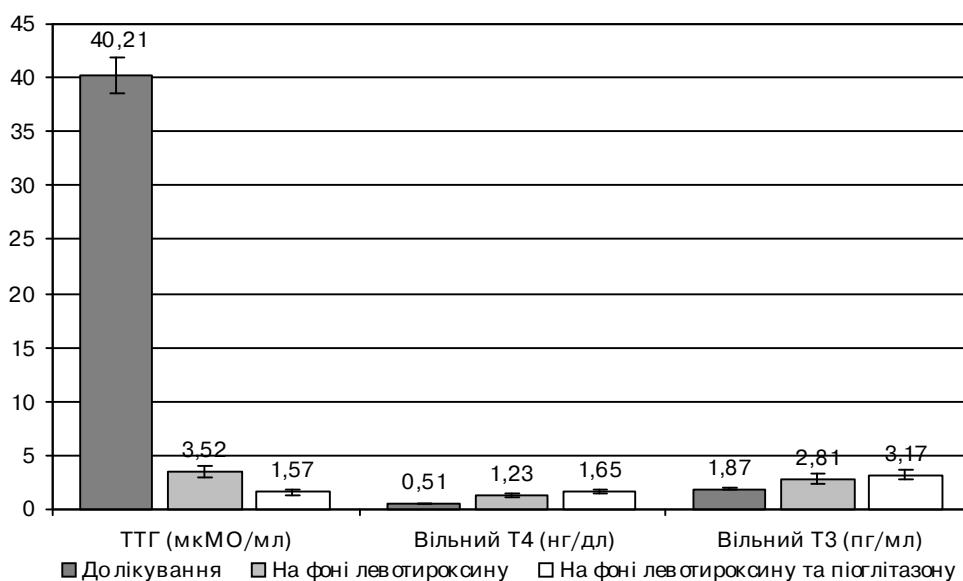


Рис. 1. Зміни гормональних показників залежно від лікування.

((6,04±0,33) ммоль/л), що відображено на рисунку 2. Така тенденція проявилася також при аналізі показників ЛПНЩ – з (3,44±0,32) до (3,22±0,31) та (2,91±0,29) ммоль/л на останньому етапі дослідження. Концентрація тригліцеридів у крові змінювалась від (1,65±0,17) до (1,45±0,15) ммоль/л після другого етапу лікування, та по жодному з цих показників не було досягнуто достовірної різниці. Щодо ЛПВЩ, то після проведеного лікування левотироксинам та піоглітазоном було досягнуто достовірної різниці порівняно з вихідними даними (до лікування 1,42±0,06 та 1,62±0,06 після комбінованої терапії, $p<0,05$). При обчисленні коефіцієнта атерогенності відзначено достовірність ($p<0,001$) між значеннями на початку дослідження (3,45±0,33) та після проведеної терапії левотироксинам і піоглітазоном (2,43±0,2). Враховуючи те, що КА обчислюють, виходячи з даних

загального холестерину та ЛПВЩ, наявна достовірність стосовно останнього показника суттєво вплинула на вірогідність цього коефіцієнта.

При аналізі вуглеводного обміну (рис. 3, 4) достовірних змін не було виявлено між вихідними даними та після проведення замісної монотерапії по жодному з показників, натомість після отримання результатів у кінці другого етапу дослідження відмічено достовірні зміни ($p<0,001$) за даними глікованого гемоглобіну, глюкози натще, інсуліну й індексу НОМА-IR порівняно з початковими та проміжними даними.

Отримані нами дані свідчать про доцільність призначення піоглітазону для корекції вуглеводного обміну та підвищення периферійної чутливості до інсуліну. Можливо, призначення піоглітазону зумовило наявність достовірної різниці також і в показниках тиреоїдних гор-

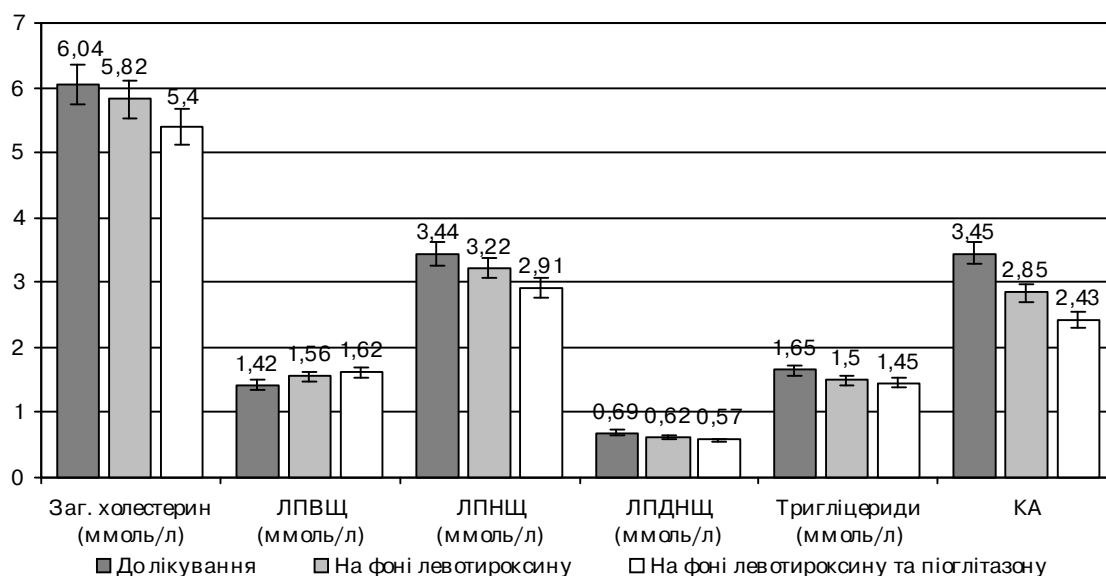


Рис. 2. Зміни показників ліпідного профілю залежно від лікування.

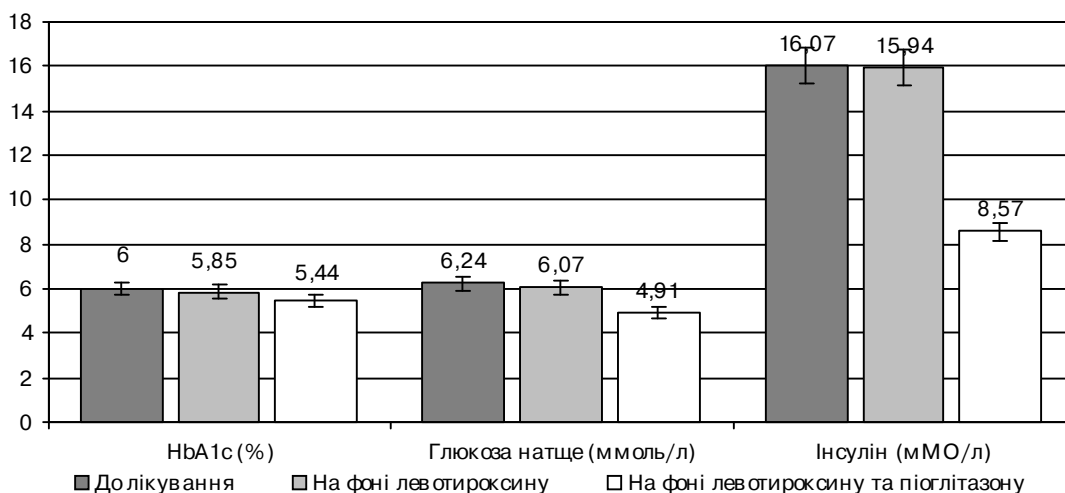


Рис. 3. Зміни показників HbA1c, глюкози та інсуліну натще залежно від лікування.

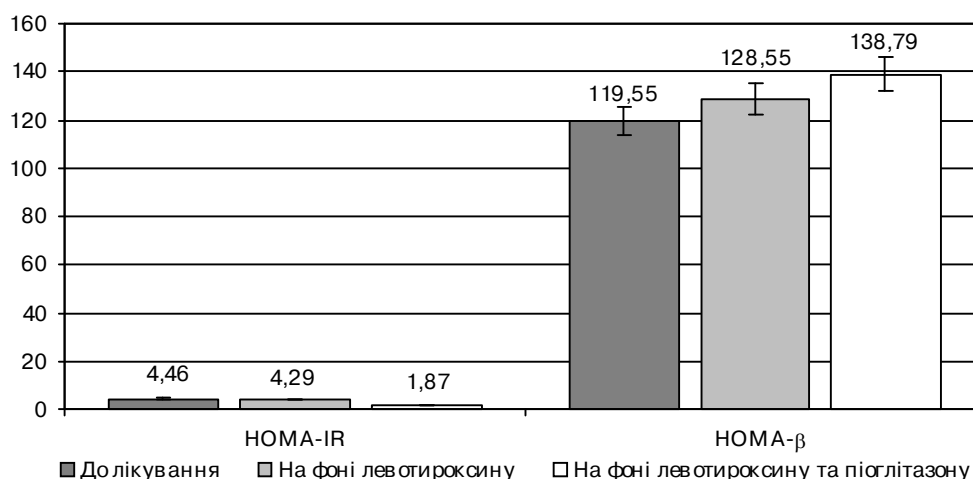


Рис. 4. Зміни індексів інсулінорезистентності залежно від лікування.

монів, оскільки спостерігали достовірне зниження ТТГ після додаткового призначення піоглітазону до левотироксину. Це питання потребує подальшого дослідження. Деякі вчені пояснюють даний процес приналежністю рецепторів тиреоїдних гормонів і PPAR-γ до однієї суперсім'ї нуклеарних рецепторів, що передбачає перехресну взаємодію між ними [8].

У результаті проведеного лікування, як показано в таблиці, у пацієнтів було досягнуто еутиреозу (нормалізація показників ТТГ, вТ4 та вТ3), що свідчило про компенсацію гіпотиреозу. Слід також відмітити позитивні зміни у значеннях загального холестерину і його складових, хоча лише ЛПВЩ досягнули достовірної різниці. Ці результати збіглися з даними інших наукових досліджень – при досягненні еутиреозу в пацієнтів з гіпотиреозом реєструють покращення показників ліпідного профілю [2, 4].

Під впливом піоглітазону на фоні замісної терапії не вдалося досягнути достовірної відмінності за даними HOMA-β, що може вказувати на відсутній вплив піоглітазону на функцію β-клітин острівців Лангерганса, при достовірному зниженні рівнів глюкози, інсуліну натще та індексу HOMA-IR порівняно з початковими та проміжними даними.

Наші спостереження відрізняються від спостережень ряду авторів [5, 7], які виявили достовірні відмінності у показниках інсулінорезистентності між вихідними даними та даними, отриманими після проведення замісної монотерапії. Можливо, причинами даних розбіжностей у дизайні дослідження в нашому випадку були невелика група хворих та короткий період досліджень. Вважаємо, що при подовженні до одного року тривалості спостереження пацієнтів, які перебувають на замісній монотерапії та комбінованій терапії з додаванням піоглітазону, отримаємо більш точні й досто-

вірні дані щодо інсулінорезистентності в даній групі пацієнтів. Існують також дані про те, що на рівень глікованого гемоглобіну можуть впливати різноманітні фактори, які пригнічують еритропоез [6]. У нас були відсутні клінічні дані, які могли б вказувати на ці обставини, та, незважаючи на це, ми не можемо повністю відкинути таке припущення.

Наше дослідження доводить зв'язок між гіпотиреозом та предіабетом. На фоні додаткового призначення піоглітазону до замісної монотерапії левотироксином достовірно покращувалися показники гормонального та вуглеводного обміну (табл.). Проте ця клінічна картина потребує глибшого дослідження, що дозволить уточнити патогенетичний зв'язок між гіпотиреозом та предіабетом. У результаті проведеного аналізу можна буде визначити найбільш ефективне і доцільне лікування.

ВИСНОВКИ. 1. Замісна терапія левотироксином дозволила знизити рівні тиреотропного гормону, підвищити значення тироксину і трийодтироніну та досягнути еутиреозу.

2. Досягнення еутиреозу не супроводжувалося достовірними змінами за даними ліпідного профілю, крім ліпопротеїнів високої щільності та коефіцієнта атерогенності.

3. Додаткове призначення піоглітазону до замісної терапії левотироксином хворим на гіпотиреоз з наявною інсулінорезистентністю та предіабетом супроводжувалося зниженням рівня глікованого гемоглобіну, глюкози та інсуліну натще, індексу HOMA-IR.

4. Під впливом піоглітазону на фоні замісної терапії не вдалося досягнути достовірної відмінності за даними HOMA-β.

5. Призначення піоглітазону сприяло посиленню дії левотироксину на тиреотропний гормон і тиреоїдні гормони.

Таблиця – Динаміка досліджуваних показників залежно від етапу лікування (n=25)

Параметр	Референтне значення	До лікування	На фоні левотироксину	На фоні левотироксину та піоглітазону
ТТГ, мМО/л	0,27–4,2	40,21±3,81	3,52±0,28	1,57±0,15
Вільний T ₄ , нг/дл	0,93–1,7	0,51±0,06	1,23±0,09	1,65±0,08
Вільний T ₃ , пг/мл	2,5–4,3	1,87±0,10	2,81±0,08	3,17±0,09
HbA1c, %	4,8–5,6	6,00±0,06	5,85±0,06	5,44±0,06 ^{**}
Глюкоза натще, ммоль/л	4,11–6,05	6,24±0,07	6,07±0,09	4,91±0,08 ^{**}
Інсулін, мМО/л	2,6–24,9	16,07±0,59	15,94±0,57	8,57±0,15 ^{**}
НОМА-IR, ум. од.	<2,77	4,46±0,17	4,29±0,16	1,87±0,04 ^{**}
НОМА-β, ум. од.	100	119,55±5,86	128,55±7,19	138,79±13,95
Заг. холестерин, ммоль/л	<5,2	6,04±0,33	5,82±0,28	5,40±0,25
ЛПВЩ, ммоль/л	>1,68	1,42±0,06	1,56±0,06	1,62±0,06 [*]
ЛПНЩ, ммоль/л	<4,78	3,44±0,32	3,22±0,31	2,91±0,29
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,26–1,00	0,69±0,07	0,62±0,07	0,57±0,08
Тригліцериди, ммоль/л	<2,3	1,65±0,17	1,50±0,15	1,45±0,15
КА	<3	3,45±0,33	2,85±0,24	2,43±0,20 [*]

Примітки:

1) * – достовірна різниця порівняно з показниками до лікування (p<0,05);

2) # – достовірна різниця порівняно з показниками при монотерапії левотироксином (p<0,05).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Наказ МОЗ України від 21.12.2012 р. № 1118 “Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2 типу”. Уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги “Цукровий діабет 2 типу” // Міжнар. ендокрин. журн. – 2013. – № 1 (49). – С. 115–165.
2. Паньків В. І. Особливості перебігу гіпотиреозу у поєднанні з ішемічною хворобою серця / В. І. Паньків // Практична ангіологія. – 2009. – № 9–10 (28–29). – С. 52–56.
3. American Diabetes Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus // Diabetes Care. – 2011. – **34** (Suppl. 1) – P. 62–69.
4. Insulin sensitivity, plasma adiponectin and sICAM-1 concentrations in patients with subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine therapy / I. Kowalska, J. Borawski, A. Nikolajuk [et al.] // Endocrine. – 2011. – **40**. – P. 95–101.
5. Mee Kyoung K. Effects of thyroid hormone in A1C and glycated albumin levels in nondiabetic subjects with overt hypothyroidism / K. Mee Kyoung, S. Kwon Hyuk, K. H. Baek // Diabetes Care. – 2010. – **12**, № 33. – P. 2546–2548.
6. Melpomeni P. Skeletal muscle insulin resistance in endocrine disease / P. Melpomeni // J. Biomed. Biotechnol. – 2010. – **5**, № 10. – P. 1775–1789.
7. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) modulates hypothalamic Trh regulation in vivo / S. Kouidhi, I. Seugnet, S. Decherf [et al.] // Mol. Cell. Endocrinol. – 2010. – **317** (1–2). – P. 44–52.
8. Studies of insulin resistance in patients with clinical and subclinical hypothyroidism / E. Maratou, D. J. Hadjidakis, A. Kollias // European Journal of Endocrinology. – 2009. – **5**, № 160. – P. 785–790.
9. Wallace T. M. Use and Abuse of HOMA Modeling / T. M. Wallace, J. C. Levy, D. R. Matthews // Diabetes Care – 2004. – **27**, № 29. – P. 1487–1495.
10. Wang C. The relationship between type 2 diabetes mellitus and related thyroid diseases / C. Wang // J. Diabetes. Res. – 2013. – **337**. – P. 414–422.

Х. А. Москва¹, Л. Е. Лаповец², О. П. Кихтяк²
ЛЬВОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКИЙ ДИСПАНСЕР¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО²

ВЛИЯНИЕ ПИОГЛИТАЗОНА НА УРОВЕНЬ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА У БОЛЬНЫХ ГИПОТИРЕОЗОМ И ПРЕДИАБЕТОМ

Резюме

В последнее десятилетие удалось выяснить, что гипотиреоз сопровождается инсулинорезистентностью, что часто соответствует стадии предиабета. В результате проведенного исследования выявлено дополнительные возможности пиоглитазона, что касаются его влияния на тиреоидный статус, а именно усиление действия заместительной терапии левотироксином. После дополнительного назначения пиоглитазона больным гипотиреозом с инсулинорезистентностью и предиабетом отмечено снижение уровня гликированного гемоглобина, глюкозы и инсулина натощак, индекса HOMA-IR. Наше наблюдение разрешает подтвердить ранее высказанное предположение о перекрестном взаимодействии между рецепторами к тиреоидным гормонам и PPAR- γ .

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипотиреоз, инсулинорезистентность, пиоглитазон, индекс HOMA-IR, индекс HOMA- β .

Kh. A. Moskva¹, L. Ye. Lapovets², O. P. Kikhtyak²
LVIV REGIONAL ENDOCRINOLOGY CLINIC¹
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY²

EFFECT OF PIOGLITAZONE ON THYROID STIMULATING HORMONE IN PATIENTS WITH HYPOTHYROIDISM AND PREDIABETES

Summary

During last decade it was discovered that patients with hypothyroidism also may have insulin resistance and prediabetes. We observed additional abilities of pioglitazone relatively its effect on thyroid status, mainly by enhancing replacement treatment. Following adding of pioglitazone to patients with insulin resistance and prediabetes decrease in glycated hemoglobin, fasting insulin and glucose as well as HOMA-IR index were established. Our observation may prove early suggestion about crosstalk between thyroid hormone receptors and PPAR- γ .

KEY WORDS: hypothyroidism, insulin resistance, pioglitazone, index HOMA-IR, index HOMA- β .

Отримано 12.03.13

Адреса для листування: Л. Є. Лаповець, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

ВПЛИВ ЛІКУВАННЯ ТІОТРОПІУМ БРОМІДОМ НА СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

У статті наведено результати визначення стану показників пероксидного окиснення ліпідів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та їх зміни при застосуванні в схемі лікування капсул для інгаляцій, які містять тіотропіум бромід.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічне обструктивне захворювання легень, пероксидне окиснення ліпідів, тіотропіум бромід.

ВСТУП. На сьогодні у світі нараховують близько 600 млн хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), серед них щорічно вмирає понад 3 млн [5]. Згідно з прогнозом експертів ВООЗ, до 2020 р. ХОЗЛ займе 5-те місце серед причин смертності та інвалідності дорослого населення розвинутих країн світу [3]. Велика розповсюдженість ХОЗЛ, недостатня ефективність існуючих методів лікування і профілактики, а також зростання інвалідизації в працездатному віці визначають ХОЗЛ як одну з найактуальніших проблем у сучасній клінічній пульмонології, що зумовлює необхідність вивчення механізмів розвитку захворювання та пошуку ефективних способів лікування [7].

Відомо, що внаслідок токсичної дії полютантів та інфекційних збудників на дихальні шляхи відбуваються морфофункціональна перебудова мукоциліарного апарату, порушення неспецифічного захисту і дисрегуляція імунної відповіді, що зумовлює виникнення хронічного запалення і малозворотної бронхообструкції [6]. За умов хронічної запальної реакції посилюються тканинна гіпоксія і вільнорадикальні процеси, а також активується пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) [1]. Аномальна хронічна запальна реакція в легенях хворих на ХОЗЛ відбувається у відповідь на вплив шкідливих часток і газів, що призводить до надмірної активації вільнорадикальних реакцій і створює умови для структурної перебудови мукоциліарного апарату та погіршення вентиляційно-дифузійних процесів, що,

© Н. І. Пера, 2013.

у свою чергу, зумовлює виникнення тканинної гіпоксії з подальшим розвитком фіброзних змін паренхіми легень і блокадою мікроциркуляторного русла [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 46 хворих на ХОЗЛ III стадії у фазу загострення. Усі пацієнти були чоловічої статі віком від 38 до 65 років. Згідно зі стандартами, затвердженими наказом МОЗ України за № 128 від 19.03.07 р. [4], у всіх хворих проводили клінічне, лабораторне та інструментальне дослідження, а також оцінювали показники ПОЛ та системи антиоксидантного захисту організму (АОЗ).

Учасників дослідження було поділено на дві групи: 1-ша – 18 пацієнтів із ХОЗЛ III стадії, яким призначили флютиказону пропіонат (250 мкг) та салметерол (25 мкг) по одній інгаляції 2 рази на день (без тіотропіуму броміду); 2-га – 16 пацієнтів із ХОЗЛ III стадії, яким призначили: флютиказону пропіонат (250 мкг) та салметерол (25 мкг) по одній інгаляції 2 рази на день і тіотропіуму бромід (Спірива) у дозі 18 мкг по одній інгаляції на день.

Функцію зовнішнього дихання вивчали за допомогою комплексу "Кардіо-Спіро".

Стан процесів ПОЛ у хворих на ХОЗЛ досліджували двічі: до початку застосування одного з двох режимів лікування та через 12 місяців після його проведення.

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за кількістю малонового діальдегіду (МДА) і дієнових кон'югатів (ДК) у периферійній крові, вміст яких визначали за методом Z. Placer. Про стан системи АОЗ свідчили активність супер-

оксиддисмутази (СОД) і вміст вітамінів А та Е в крові. Активність СОД визначали за методом Є. Є. Дубініної і співавт. Вміст вітамінів А та Е досліджували за Р. І. Черняускене і співавт.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять у пакет "Microsoft Office Professional 2000", з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Клінічну ефективність досліджуваних методів лікування оцінювали за величиною ОФВ1, % (табл. 1).

При дослідженні стану процесів ПОЛ у хворих на ХОЗЛ виявлено надмірну ліпопероксидацію, про що свідчило значне зростання

Таблиця 1 – Динаміка показників функції зовнішнього дихання у хворих на ХОЗЛ при різних методах лікування

Показник		До лікування	Через 12 міс.
ОФВ1, %	1-ша група	50,9±0,6	59,4±0,4*
	2-га група	51,7±0,7	64,2±0,5**

Примітки. У цій і наступній таблицях:

1) * – достовірність різниці порівняно з показником до лікування (p<0,05);

2) * – достовірність різниці порівняно з показником у 1-й групі (p<0,05).

Таблиця 2 – Величина ПОЛ та активність АОЗ у хворих на ХОЗЛ

Показник	1-ша група (n=18)		2-га група (n=16)	
	до лікування	через 12 міс.	до лікування	через 12 міс.
МДА, ммоль/л	3,33±0,11	3,08±0,10*	3,50±0,12	2,82±0,08* **
ДК, ммоль/л	18,70±0,15	18,19±0,17*	18,76±0,20	17,98±0,15* **
СОД, %	8,80±0,16	9,31±0,11*	8,80±0,16	10,17±0,19* **
Віт. А, ОД	2,21±0,03	2,24±0,03	2,20±0,03	2,29±0,05*
Віт. Е, ОД	16,01±0,13	16,04±0,14*	16,24±0,13	16,88±0,14*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Коррекция реологических свойств крови в комплексном лечении больных с декомпенсированным хроническим легочным сердцем [Текст] / В. К. Гаврисюк, Н. И. Гуменюк, Я. А. Дзюблик [и др.] // Кровообіг та гемостаз. – 2005. – № 3–4. – С. 125–128.

2. Перцева Т. А. Морфологические изменения слизистой оболочки бронхиального дерева при хроническом обструктивном заболевании легких и их значение в диагностике стадии заболевания [Текст] / Т. А. Перцева, И. В. Ивах // Укр. пульмонол. журн. – 2009. – № 1. – С. 50–51.

3. Перцева Т. О. Медико-соціальні аспекти інвалідності при хронічному обструктивному бронхіті [Текст] / Т. О. Перцева, С. С. Паніна, В. М. Концур // Укр. пульмонол. журн. – 2004. – № 4. – С. 12–15.

4. Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пуль-

вмісту МДА і ДК у крові (табл. 2). При аналізі стану системи АОЗ організму відзначено пригнічення її активності у всіх пацієнтів із ХОЗЛ. На це вказували зниження активності СОД і зменшення вмісту вітамінів А та Е в крові.

При аналізі динаміки показників рівня ПОЛ та АОЗ організму під впливом тіотропіуму броміду у хворих на ХОЗЛ виявлено достовірне зменшення вмісту МДА і ДК та нормалізацію активності СОД у крові. Отримані результати свідчили про часткове усунення дисбалансу ПОЛ/АОЗ, що мало позитивний вплив на перебіг захворювання.

ВИСНОВКИ. У хворих на ХОЗЛ, в терапевтичних схемах яких додатково з флютиказону пропіонатом (250 мкг) та салметеролом (25 мкг) було застосовано капсули з порошком тіотропіуму броміду, ефективність дванадцятимісячного курсу лікування була вищою, ніж у групі порівняння, пацієнти якої отримували лише флютиказону пропіонат (250 мкг) та салметерол (25 мкг). Це проявлялося зменшенням вмісту МДА і ДК та нормалізацією активності СОД у крові, що, відповідно, усувало дисбаланс ПОЛ/АОЗ і мало позитивний вплив на перебіг захворювання.

монологія": наказ МОЗ України № 128 від 19.03.07 р. [Текст] / Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2007. – 146 с. – (Нормативний документ МОЗ України).

5. Фещенко Ю. И. Актуальные вопросы хронического обструктивного заболевания легких [Текст] / Ю. И. Фещенко // Укр. пульмонол. журн. – 2010. – № 1. – С. 6.

6. Barnes P. J. Chronic obstructive pulmonary disease molecular and cellular mechanismus [Text] / P. J. Barnes, S. D. Shapiro, R. A. Panwels // Enr. Respir. J. – 2003. – 22. – P. 672–688.

7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) / Global strategy for diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Publication Number 2701, Update 2006. GOLD <http://www.goldcopd.com>.

ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕНИЯ ТИОТРОПИУМ БРОМИДОМ НА СОСТОЯНИЕ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ

Резюме

В статье приведены результаты определения состояния показателей пероксидного окисления липидов у больных хроническим обструктивным заболеванием легких и их изменения при применении в схеме лечения капсул для ингаляций, содержащих тиотропиум бромид.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническое обструктивное заболевание легких, пероксидное окисление липидов, тиотропиум бромид.

N. I. Reha
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFICIENCY OF TREATMENT WITH TIOTROPIUM BROMIDE ON THE LIPOPEROXIDATION SYSTEM OF PATIENTS WITH PULMONARY CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Summary

The article presents the results of determination of lipoperoxidation system in patients with chronic obstructive pulmonary disease and its changes by using of capsules for inhalation containing tiotropium bromide treatment.

KEY WORDS: chronic obstructive pulmonary disease, lipoperoxidation, tiotropium bromide.

Отримано 11.04.13

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

СПІВОКИСНЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СУБСТРАТІВ У ПЕРОКСИДАЗНОМУ КАТАЛІЗІ

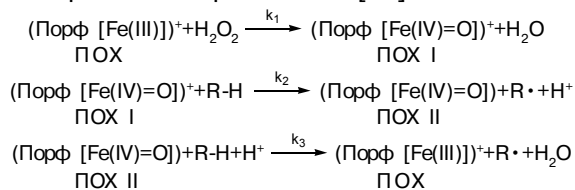
Встановлено, що використання легкоокиснюваних похідних хіноліну (8-гідроксихінолін-3-сульфо кислота, 8-гідроксихінолін-5-сульфо кислота, 5,7-дибром-8-гідроксихінолін, 2,4-дигідроксихінолін) у реакціях пероксидазного каталізу сумісно з повільно окиснюваними фенольними поліюгантами (фенол, о-, м-, п-крезоли, резорцин, о-, м-, п-хлорфеноли, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол) при мольних відношеннях 0,5:1 сприяє підвищенню ступеня біоконверсії останніх з 20,4–80,4 до 60,5–100 %. Показано утворення легкоосаджуваних продуктів, нерозчинних в органічних розчинниках.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидаза хрону, феноли, похідні хіноліну, біоконверсія, співокиснення субстратів.

ВСТУП. Розробка, вдосконалення і пошук ефективних методів видалення високотоксичних фенольних поліюгантів з розчинів продовжують залишатися актуальним питанням. Гранично допустимі концентрації фенолів у стічних водах варіюють від 0,001 до 0,1 мг/дм³ [8]. Серед існуючих методів дефенолізації (фотокаталітичне, електрохімічне, біохімічне окиснення, адсорбція, екстракція, окиснення озonom, хлором та ін.) [3] ефективним є ферментативний спосіб із застосуванням пероксидази хрону (ПОХ) завдяки утворенню нерозчинних продуктів окиснення, можливості використовувати ензим у широких інтервалах рН, температур і концентрацій субстратів [11, 14, 15], а також створення біосенсорів для визначення концентрації фенолу в розчинах та біологічних рідинах у біології і медицині, тощо.

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7) належить до гемовмісних глікопротеїнів, які за присутності пероксиду водню, хлориту натрію і ряду органічних гідропероксидів каталізують окиснювальну трансформацію різноманітних хімічних сполук (ароматичні вуглеводні, меркаптани, аліфатичні нітросполуки, галогенозаміщені аліфатичні й ароматичні сполуки, заміщені похідні гідазину та ін.) [13], в тому числі фенолів з утворенням малорозчинних і нерозчинних продуктів окиснення [12, 14, 15]. Механізм пероксидазного окиснення фенолів – тристадійна циклічна реакція, в ході якої ПОХ спочатку

окиснюється пероксидом водню, а потім відновлюється у двох послідовних стадіях одноелектронного перенесення [10]:



Вільні радикали, що утворюються в ході каталітичного циклу ПОХ, є реакційноздатними сполуками і можуть неферментативно полімеризуватися з утворенням високомолекулярних сполук, схильних до випадання з водного розчину в осад, нерозчинний в органічних розчинниках.

Відомо, що фенольні субстрати ПОХ можна класифікувати як легко- і важкоокиснювані; для збільшення швидкості окиснення останніх запропоновано метод співокиснення субстратів пероксидази [5, 9].

Метою роботи було вивчити співокиснення фенольних субстратів і похідних хіноліну в пероксидазному каталізі для підвищення ступеня трансформації фенолів та їх видалення з водних розчинів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували пероксидазу хрону, виділену за модифікованим методом Баха [6], комерційний препарат ПОХ ("Sigma"), похідні фенолів і хіноліну ("TOP", Україна). У виділеному ферментному препараті визначали спектральний по-

казник чистоти (RZ=A403/A278=1,0) і активність по пірогалолу (100 Од/мг протеїну) [6].

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

Реакцію окиснення фенолу, *o*-, *m*-, *p*-крезолів, резорцину, *o*-, *m*-, *p*-хлорфенолів, 2,4,6-трихлорфенолу, пентахлорфенолу (1,0 мМ) пероксидом водню (1,0 мМ) проводили в середовищі 0,01 М Na-фосфатного буферного розчину (рН 7,0) за присутності розчину ПОХ (0,1 од./мг) з наступним додаванням розчинів 8-гідроксихінолін-3-сульфоїкислоти, 8-гідроксихінолін-5-сульфоїкислоти, 5,7-дибром-8-гідроксихіноліну, 2,4-дигідроксихіноліну (0,1–1 мМ). Контролювали зменшення концентрації досліджуваних фенольних субстратів при 37 °С протягом 1 год 4-аміноантипіриновим методом [4] і виражали у відсотках.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Раніше ми проводили дослідження, присвячені порівняльному аналізу окиснення у розроблених умовах широкого спектра фенольних сполук, що каталізуються виділеним частково очищеним і комерційним препаратами ПОХ (RZ=1,0 і 2,7 відповідно) [1, 2, 7]. При цьому ефективність біоконверсії багатьох субстратів була високою – 80–96 % (фенол, *o*-, *m*-, *p*-крезоли, пірокатехін, гідрохінон, *p*-хлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, α -нафтол), тоді як *m*-хлорфенол і пентахлорфенол трансформувалися всього на 26,0 і 24,5 %, а *o*-, *p*-нітрофеноли не піддавались ферментативному окисненню у

зв'язку з неможливістю утворення фенокислих радикалів (табл. 1).

При порівнянні ступеня трансформації досліджуваних субстратів за допомогою виділеного нами частково очищеного препарату ПОХ і комерційного препарату показано відсутність істотного впливу спектрального ступеня чистоти ензиму (RZ) на цей процес (табл. 1).

Слід зазначити, що, крім невисокої конверсії хлорпохідних фенолу (*m*-хлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол), ряд політантів (пірокатехін, гідрохінон) не утворює полімерних осадів у реакціях, що каталізуються ПОХ. Відомо, що легкоокиснювані субстрати ПОХ (*o*-діанізидин, α -нафтол, 2,3-диметилфенол) значною мірою сприяють ферментативному каталізу повільно окиснюваних фенолів (фенол, 2,4-дихлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол та ін.) [6, 9] і осадженню розчинних продуктів окиснення.

Згідно з даним методом, легкоокиснювані феноли сприяють видаленню та зниженню токсичності важкоокиснюваних фенолів при додаванні ПОХ і пероксиду водню до їх водних розчинів. Цей ефект співоокиснення полягає в тому, що повільно окиснюваний субстрат більш ефективно окиснюється радикалами легкоокиснюваного субстрату, ніж сполуками ПОХ I і ПОХ II, а радикали легкоокиснюваного субстрату ефективніше взаємодіють з радикалами важкоокиснюваного субстрату, ніж один з одним. Це сприяє утворенню легкоосаджуваного високомолекулярного змішаного полімеру. Повільно окиснюваний фенол також здатний адсорбуватись на

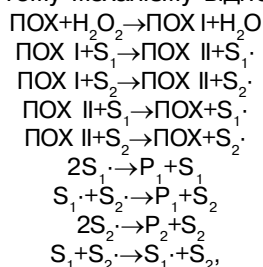
Таблиця 1 – Окиснення фенольних сполук, що каталізуються ПОХ

Фенольна сполука	Ступінь біоконверсії, %	
	ПОХ*	ПОХ**
фенол	80,4	88,4
<i>o</i> -крезол	78,1	79,2
<i>m</i> -крезол	76,5	78,6
<i>p</i> -крезол	91,2	94,8
резорцин	75,0	72,9
пірогалол	94,3	98,9
пірокатехін	84,3	84,8
гідрохінон	92,1	95,3
<i>o</i> -хлорфенол	68,1	73,1
<i>m</i> -хлорфенол	25,2	26,0
<i>p</i> -хлорфенол	71,0	74,1
2,4,6-трихлорфенол	62,0	61,0
пентахлорфенол	20,4	24,5
α -нафтол	94,1	98,6
<i>o</i> -нітрофенол	0	0
<i>p</i> -нітрофенол	0	0

Примітка. ([Фенольний субстрат]=1,0 мМ, [H₂O₂]=1,0 мМ, активність ПОХ – 0,1 од./см³, рН – 7,0, t=37 °С, t=1 год); * – виділений препарат ПОХ; ** – комерційний препарат ПОХ, “Sigma”.

осаджуваних полімерах сполуки, що легко видаляється [6].

Розглянутому механізму відповідає схема:



де ПОХ, ПОХ I і ПОХ II – пероксидаза та її окиснені форми; S_1 і S_2 – повільно і швидко окиснювані субстрати; $\text{S}_1 \cdot$ і $\text{S}_2 \cdot$ – вільні радикали цих субстратів.

У даній роботі вперше запропоновано використовувати як легкоокиснювані субстрати ПОХ похідні хіноліну (8-гідроксихінолін-3-сульфо кислота, 8-гідроксихінолін-5-сульфо кислота, 5,7-дибром-8-гідроксихінолін, 2,4-дигідроксихінолін) з метою більш ефективного ферментативного елімінування важкоокиснюваних фенолів і субстратів, що не утворюють осаджуваних полімерних продуктів.

Істотно важливо було встановити, наскільки ефективність процесу співокиснення фенолів, що каталізуються частково очищеною ПОХ, залежить від концентрації похідних хіноліну.

Було вивчено залежність ступеня біоконверсії фенолу, *o*-крезолу, резорцину і *m*-хлорфенолу (1,0 мМ) від концентрації 2,4-дигідроксихіноліну в діапазоні від 0,1 до 1,0 мМ (активність ферменту – 1,0 од./мг, рН – 7,0, температура – 37 °С, час інкубації – 1 год).

Відповідно до даних таблиці 2, ефективність видалення фенолів поступово зростала з підвищенням концентрації 2,4-дигідроксихіноліну від 0,1 до 0,5 мМ, досягаючи високого рівня при 0,25–0,5 мМ, і становила для фенолу й *o*-крезолу 100 %, для резорцину та *m*-хлор-

фенолу – 97,2 і 70,1 % відповідно. Подальше збільшення концентрації 2,4-дигідроксихіноліну до 1,0 мМ не впливало на ступінь біоконверсії важкоокиснюваних фенольних субстратів ПОХ.

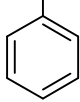
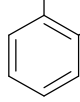
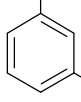
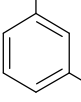
Отримані результати було використано для реакцій співокиснення ряду фенольних полютантів (фенол, *o*-, *m*-крезоли, резорцин, *o*-, *m*-, *p*-хлорфеноли, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол) із застосуванням 8-гідроксихінолін-3-сульфо кислоти, 8-гідроксихінолін-5-сульфо кислоти, 5,7-дибром-8-гідроксихіноліну і 2,4-дигідроксихіноліну за оптимальних умов.

Використання похідних хіноліну в пероксидазному каталізі сумісно з фенолами, що повільно трансформуються, дозволяє підвищити ступінь біоконверсії останніх з 20,4–80,4 до 60,5–100 % з утворенням легкоосаджуваних полімерних осадів, нерозчинних у воді й органічних розчинниках (рис.).

Таким чином, легкоокиснювані сполуки – 8-гідроксихінолін-3-сульфо кислоту, 8-гідроксихінолін-5-сульфо кислоту, 5,7-дибром-8-гідроксихінолін, 2,4-дигідроксихінолін у реакціях окиснення повільно окиснюваних фенолів, що каталізуються ПОХ, можна успішно використати для видалення полютантів з водних розчинів.

ВИСНОВКИ. Показано відсутність істотного впливу спектрального ступеня чистоти пероксидази хрому на процес окиснення широкого спектра фенольних сполук у водних розчинах. Встановлено, що співокиснення легкоокиснюваних похідних хіноліну в пероксидазному каталізі з повільно окиснюваними фенольними полютантами при мольних відношеннях 0,5:1 сприяє підвищенню ступеня біоконверсії останніх у середньому в 1,2–1,6 раза з утворенням легкоосаджуваних продуктів, нерозчинних в органічних розчинниках.

Таблиця 2 – Вплив концентрації 2,4-дигідроксихіноліну на біоконверсію фенолів

Концентрація 2,4-дигідроксихіноліну, мМ	Ступінь біоконверсії фенолів, %			
	фенол OH 	<i>o</i> -крезол OH 	резорцин OH 	<i>m</i> -хлорфенол OH 
–	80,4	78,1	75,0	25,2
0,1	91,8	89,5	84,6	56,5
0,25	95,6	92,1	90	67,3
0,5	100	100	97,2	70,1
1	100	100	100	72,3

Примітка. [Фенольний субстрат]=1,0 мМ, $[\text{H}_2\text{O}_2]=1,0$ мМ, активність ПОХ – 0,1 од./см³, рН – 7,0, $t=37$ °С, $\tau=1$ год).

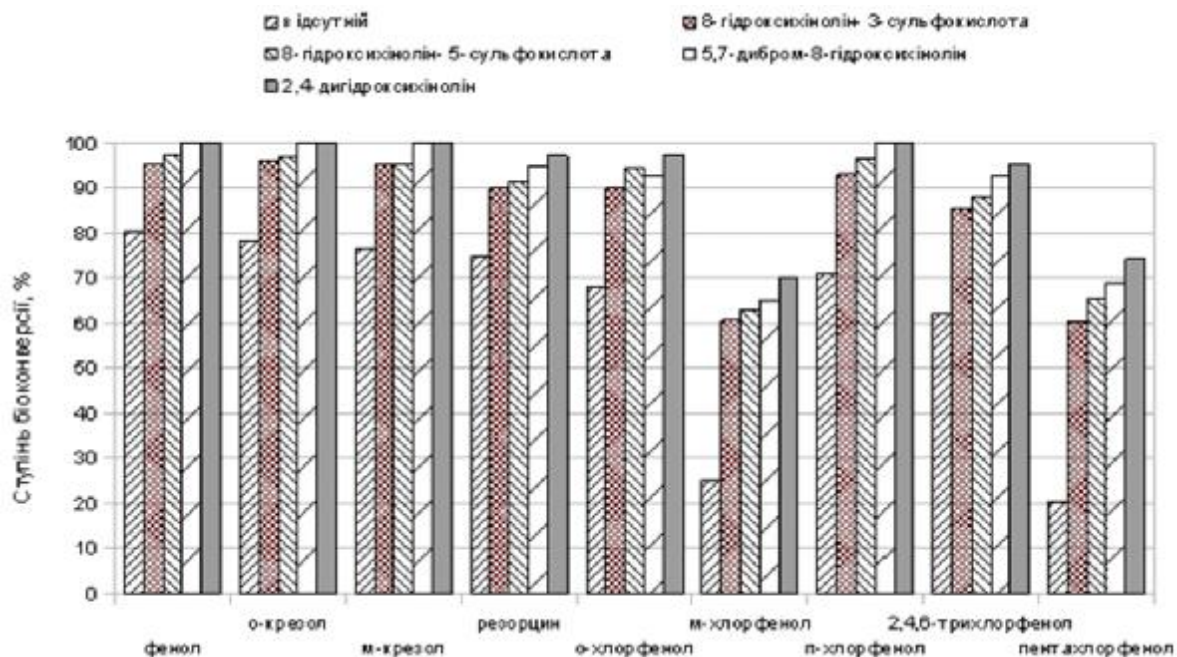


Рис. Вплив похідних хіноліну на біоконверсію фенолів ([похідні хіноліну]=0,5 мМ, [феноли]=1,0 мМ, [H₂O₂]=1,0 мМ, активність ПОХ – 0,1 од./см³, рН – 7,0, t=37 °С, τ=1 год).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Анализ влияния структуры фенольных соединений на степень их ферментативной конверсии / И. И. Романовская, Е. Н. Муратов, В. Е. Кузьмин [и др.] // Доповіді НАН України. – 2006. – № 9. – С. 161–166.
- Дослідження пероксидазного окиснення фенольних поллютантів / І. І. Романовська, О. В. Осейчук, С. С. Декіна [та ін.] // Мед. хімія. – 2010. – 12, № 4. – С. 79–84.
- Запольський А. К. Фізико-хімічні основи очищення стічних вод : підручник / А. К. Запольський, І. М. Астерлін, М. Т. Брик. – К. : Лібра, 2000. – 552 с.
- Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений / И. М. Коренман. – М. : Химия, 1975. – 360 с.
- Лебедева О. В. Механизм пероксидазного окисления. Субстрат-субстратная активация в реакциях, катализируемых пероксидазой хрена / О. В. Лебедева, Н. Н. Угарова // Известия РАН. Серия "Химия". – 1996. – № 1. – С. 25–31.
- Михлин Д. М. Биологическое окисление / Д. М. Михлин. – М. : Изд-во Академии наук СССР, 1956. – 442 с.
- Осейчук О. В. Исследование условий трансформации фенола и его монохлорзамещенных производных, катализируемое пероксидазой / О. В. Осейчук, И. И. Романовская, О. В. Севастьянов // Химия и технология воды. – 2006. – 28, № 5. – С. 505–512.
- Проблема сбора, переработки и утилизации отходов : сб. науч. статей. – Одесса : ОЦНТЭИ, 2001. – С. 83–87.
- Рогожин В. В. Стационарная кинетика совместного пероксидазного окисления гидрохинона и о-дианизида в присутствии пероксидазы / В. В. Рогожин, В. В. Верхотуров // Биохимия. – 1997. – 64, № 2. – С. 219–224.
- Dunford H. B. Peroxidases in chemistry and biology / H. B. Dunford // CRC Press. – 1991. – 2. – P. 1–24.
- Guopsng Z. Treatment of aqueous pentachlorophenol by horseradish peroxidase and hydrogen peroxide / Z. Guopsng, J. A. Nicell // Water Research. – 2000. – 34. – P. 1629–1637.
- Phenol conversion and dimeric intermediates in horseradish peroxidase – catalyzed phenol removal from water / J. Yu, K. E. Taylor, H. Zou [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 1994. – 28. – P. 2154–2160.
- Veitch N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of classic enzyme / N. C. Veitch // Phytochemistry. – 2004. – 65. – P. 249–259.
- Wagner M. Detoxification of phenolic solutions with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide / M. Wagner, J. A. Nicell // Water Res. – 2002. – 36. – P. 4041–4052.
- Wilberg K. Q. Removal of phenol by enzymatic oxidation and flotation / K. Q. Wilberg, D. G. Nunes, J. Rubio // Brazilian Journal of Chemical Engineering. – 2000. – 17. – P. 716–727.

И. И. Романовская¹, О. В. Осейчук², О. В. Севастьянов¹
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ А. В. БОГАТСКОГО НАН УКРАИНЫ¹, ОДЕССА
ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ²

СООКИСЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ В ПЕРОКСИДАЗНОМ КАТАЛИЗЕ

Резюме

Установлено, что использование легкоокисляемых производных хинолина (8-гидроксихинолин-3-сульфокислота, 8-гидроксихинолин-5-сульфокислота, 5,7-дибром-8-гидроксихинолин, 2,4-дигидроксихинолин) в реакциях пероксидазного катализа совместно с медленно окисляемыми фенольными поллютантами (фенол, о-, м-, п-крезолы, резорцин, о-, м-, п-хлорфенолы, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол) при мольных соотношениях 0,5:1 способствует повышению степени биоконверсии последних с 20,4–80,4 до 60,5–100 %. Показано образование легкоосаждаемых продуктов, нерастворимых в органических растворителях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пероксидаза хрена, фенолы, производные хинолина, биоконверсия, соокисление субстратов.

I. I. Romanovska¹, O. V. Osiychuk², O. V. Sevastyanov¹
O. V. BOHATSKYI PHYSICO-CHEMICAL INSTITUTE OF NAS OF UKRAINE¹, ODESA
ODESA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY²

COOXIDATION OF PHENOLIC SUBSTRATES IN PEROXIDATIVE CATALYSIS

Summary

Usage of easily oxidisable quinoline derivatives (8-hydroxyquinoline-3-sulphonic acid, 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid, 5,7-dibromo-8-hydroxyquinoline, 2,4-dihydroxyquinoline), in peroxidative catalysis jointly with poorly oxidisable phenolic pollutants (phenol, o- m- p-cresols, resorcinol, m- p-chlorophenols, 2,4,6-trichlorophenol, pentachlorophenol) at molar ratios of 0,5:1 promotes enhancing the bioconversion level of the last from 20,4–80,4 % to 60,5–100 %, as it was established. The formation of easily precipitating products, insoluble in organic solvents, was shown.

KEY WORDS: horse radish peroxidase, phenols, quinoline derivatives, bioconversion, cooxidation of substrates.

Отримано 21.05.13

Адреса для листування: І. І. Романовська, Фізико-хімічний інститут імені О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дор., 86, Одеса, 65080, Україна, e-mail: romairina@gmail.com.

ГУМОРАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ ПРИ ПАРОДОНТИТІ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ

Метою роботи було дослідити зміни гуморальної ланки імунної системи та цитокинового профілю при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонта на фоні хронічного гепатиту. Дослідження проведено на білих щурах, яким у тканини пародонта вводили бактеріальний ліпополісахарид. Гепатит викликали шляхом введення тваринам алілового спирту. Ліпополісахаридне запалення пародонта супроводжувалося підвищенням у сироватці крові щурів вмісту імуноглобулінів класів А, М і G, циркулюючих імунних комплексів, прозапальних цитокинів ФНП- α , ІЛ-1 β і зниженням рівня антизапального цитокину ІЛ-4. У тварин з пародонтитом, що розвивався на фоні хронічного гепатиту, зміни показників гуморальної ланки імунітету і дисбаланс між про- й антизапальними цитокінами були значно вираженішими, ніж у щурів з пародонтитом без гепатиту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, хронічний гепатит, імуноглобуліни, цитокіни.

ВСТУП. Фундаментальні механізми розвитку запальних захворювань ротової порожнини, їх патогенез досі залишаються недостатньо висвітленими, незважаючи на велику кількість робіт з цього приводу. Розвиток і перебіг запального процесу в пародонті, його генералізація і хронізація визначаються, з одного боку, видовим та кількісним складом мікрофлори ротової порожнини, а з іншого – станом захисних сил організму і реакцією-відповіддю імунної системи [6, 8, 10]. Стан імунної системи відіграє важливу, якщо не ключову, роль у розвитку запальних захворювань пародонта. Значення системи захисту пов'язане з індукцією прозапальної експресії тканинних цитокинів, активацією хемоатрактантів і втягненням прозапальних клітин з порушенням локального та системного метаболізму, гемодинаміки, імунологічними і нейрорегуляторними розладами [16, 17]. Не викликає сумніву, що при запаленні пародонта імунні й метаболічні процеси перебігають паралельно і в їх основі лежать загальні механізми, пов'язані з дисбалансом між продукцією про- та антизапальних цитокинів, а також з відповідними змінами активності нейтрофілів і макрофагів як клітин-ефекторів.

Розповсюдженню захворювань пародонта сприяють численні фактори як місцевого, так і загального характеру, що викликають зниження імунної реактивності організму. Одним

з таких факторів є захворювання печінки і жовчовивідних шляхів [18, 19]. Хронічні гепатити, які набули глобального розповсюдження, мають неухильну тенденцію до зростання захворюваності, є системною патологією, при якій з високою частотою уражається ротова порожнина. Відомості про механізми формування запальних захворювань пародонта при хронічних гепатитах, особливості перебігу єдиної патології, роль системи імунного захисту суперечливі й потребують детальнішого вивчення.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті зміни гуморальної ланки імунної системи та цитокинового профілю при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонта на фоні хронічного гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 40 безпородних щурах-самцях масою 150–180 г, яких утримували на стандартній дієті. Усіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури (контроль); 2-га – щури, в яких викликали гепатит шляхом внутрішньочеревного введення алілового спирту в дозі 10 мг/кг протягом 2-х тижнів; 3-тя – тварини з моделлю пародонтиту, щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) *E. Coli* ("Sigma-Aldrich", США) [4]; 4-та – щури з пародонтитом на фоні хронічного гепатиту, тваринам цієї групи після

закінчення курсу введення алілового спирту вводили ліпополісахарид протягом 2-х тижнів у вищезазначених дозах. Для підтвердження гепатиту на 15-й день експерименту в сироватці крові щурів 2-ї групи визначали активність АлАТ і АсАТ за загальноприйнятою методикою, використовуючи комерційний комплект реактивів. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Кількість імуноглобулінів класів А, М і G у сироватці крові визначали за методикою [12], а циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – за методикою [3]. Для визначення рівня цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-10) в сироватці проводили імуноферментний аналіз (набір реактивів фірми “Vector Best”, Новосибірськ, Росія). Абсорбцію проб вимірювали на апараті “Stat Fax Plus” відповідно до протоколу виробника.

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 Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати досліджень, наведені в таблиці 1, гуморальна ланка імунної системи зазнавала суттєвих змін при індукуванні пародонтиту ендотоксином грамнегативної мікрофлори. Зокрема, введення щурам ЛПС протягом 14 діб призвело до достовірного (в 1,4 раза) підвищення концентрації в сироватці крові імуноглобулінів класу А порівняно з інтактними тваринами. При дослідженні вмісту в сироватці крові Ig M виявлено, що після введення тваринам токсину цей показник підвищився, порівняно зі здоровими щурами, в 1,5 раза ($p < 0,05$). Ліпополісахаридний пародонтит також супроводжувався збільшенням концентрації Ig G у сироватці крові (на 53 %, $p < 0,05$). Оскільки саме даний клас імуноглобулінів є основним представником антитіл, зростання їх вмісту при пародонтиті, очевидно, є наслід-

ком активації ефекторної ланки імунної системи у відповідь на введення антигену ендотоксину мікрофлори. На користь такого припущення свідчить і зафіксоване нами різке збільшення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові уражених ліпополісахаридом тварин. Так, на 14-ту добу експерименту вміст ЦІК у сироватці щурів з пародонтитом становив 225 % від рівня інтактних тварин.

У щурів з гепатитом достовірно (в 1,4 раза) підвищувався тільки рівень Ig G. Відомо, що при токсичному гепатиті відбуваються перекисна деградація макромолекул білкової природи і посилення протеолітичних процесів у гепатоцитах. Ці процеси створюють передумови для виникнення автоімунних реакцій і появи протиорганних антитіл [5]. Активації автоімунних реакцій будуть сприяти і порушення з боку функціонального стану мікросомальної монооксигеназної системи, що неминуче розвиваються при дії хімічних речовин на печінку. В нормі дана система здатна трансформувати ендogenous продукти з антигенними властивостями. Пригнічення монооксигеназної системи призведе до тривалої персистенції сенсibiliзуювальних агентів в організмі. Очевидно, вищезазвані причини і зумовили зареєстроване нами достовірне підвищення в сироватці крові щурів з гепатитом вмісту імуноглобулінів класу G. У роботі [14] показано, що саме цей клас імуноглобулінів найбільшою мірою бере участь в утворенні циркулюючих імунних комплексів. Перед тим як елімінувати з організму, ЦІК справляють певний патогенний вплив на тканини. Як видно з таблиці 1, у щурів з гепатитом концентрація ЦІК у крові зросла в 1,5 раза ($p < 0,05$).

Цікаво, що при розвитку пародонтиту на фоні гепатиту рівень Ig A в сироватці крові був достовірно збільшеним як порівняно з групою тварин тільки з пародонтитом, так і порівняно з групою тварин лише з гепатитом. Вміст Ig M у тварин з поєднаною патологією підвищувався

Таблиця 1 – Показники гуморального імунітету в щурів з ліпополісахаридним запаленням пародонта на фоні хронічного гепатиту ($M \pm m$; $n=8-10$)

Показник	Група тварин			
	Показник			
	контроль	пародонтит	гепатит	пародонтит+гепатит
Ig A, г/л	0,26 \pm 0,02	0,37 \pm 0,03*	0,31 \pm 0,02	0,50 \pm 0,03*#^
Ig M, г/л	0,75 \pm 0,05	1,12 \pm 0,10*	0,88 \pm 0,06	1,40 \pm 0,10*#^
Ig G, г/л	12,70 \pm 1,10	19,50 \pm 1,40*	17,90 \pm 1,30*	26,50 \pm 1,70*#^
ЦІК, ум. од.	70,25 \pm 4,90	115,5 \pm 8,60*	104,5 \pm 6,30*	170,6 \pm 14,25*#^

Примітки: У цій і наступній таблицях:

- 1) * – зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин;
- 2) # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин з пародонтитом;
- 3) ^ – зміни достовірні порівняно з показниками тварин з гепатитом.

суттєво тільки порівняно зі щурами, в яких викликали гепатит. Рівень імуноглобулінів класу G при розвитку пародонтиту на фоні гепатиту також зростав більшою мірою порівняно з групами щурів, у яких пародонтит і гепатит викликали окремо. Так, у сироватці крові тварин 4-ї групи вміст Ig G був вищим від такого у тварин 2-ї групи в 1,4 раза і від аналогічного показника у щурів 3-ї групи – в 1,5 раза.

Вміст у сироватці крові щурів з пародонтитом і гепатитом циркулюючих імунних комплексів вірогідно відрізнявся від відповідних показників усіх груп тварин (табл. 1). Зокрема, порівняно зі здоровими щурами, рівень ЦІК зростав у 3,4 раза. Про те, що гепатит ускладнює перебіг пародонтиту, свідчить той факт, що концентрація імунних комплексів при комбінованій патології була 1,5 раза вищою ($p < 0,05$), ніж при чистому пародонтиті. Ще більшою мірою (в 1,6 раза) даний показник у щурів 4-ї групи перевищував аналогічний у тварин з гепатитом без пародонтиту.

Пародонтит є постійним джерелом медіаторів запалення в кров'яне русло, серед яких основними є інтерлейкіни. Ми дослідили вміст про- і антизапальних цитокінів у сироватці крові щурів з ліпополісахаридним запаленням пародонта. Як свідчать результати, наведені в таблиці 2, при введенні ЛПС у тканини пародонта концентрація ФНП- α – цитокіну, що бере участь в системному запаленні та є членом групи цитокінів, які стимулюють реакцію гострої фази, різко підвищувалася (в 5,3 раза) в сироватці крові тварин. Вміст іншого потужного прозапального цитокіну ІЛ-1 β у сироватці щурів з пародонтитом також суттєво зростав порівняно з контролем (в 3,3 раза, $p < 0,05$). Концентрація протизапальних цитокінів при ліпополісахаридному пародонтиті, навпаки, зменшувалася. Так, рівень ІЛ-4 на 14-ту добу після початку введення ендотоксину знижувався у 2,2 раза ($p < 0,05$). Мала також місце тенденція до зменшення рівня іншого протизапального цитокіну – ІЛ-10.

Відомо, що цитокіни також відіграють важливу роль у розвитку запальних процесів у печінці. З даних, наведених у таблиці 2, вид-

но, що вміст прозапального ФНП- α у щурів з гепатитом підвищувався в 4,0 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Концентрація ІЛ-1 β у сироватці крові тварин 3-ї групи також достовірно (в 2,4 раза) зростала порівняно з інтактними щурами. Концентрація антизапальних цитокінів у тварин з гепатитом, навпаки, достовірно зменшувалася (ІЛ-4 – на 42 %, ІЛ-10 – у 2,5 раза).

У щурів з пародонтитом, який розвивався на фоні гепатиту, рівень прозапальних цитокінів зростав більшою мірою, ніж у тварин лише з пародонтитом і у тварин тільки з гепатитом. Концентрація антизапального ІЛ-4 у сироватці крові щурів 4-ї групи знижувалася достовірно порівняно з 3-ю групою тварин (у 2,2 раза), а ІЛ-10 – порівняно з 2-ю групою (в 2,5 раза).

Таким чином, можна констатувати, що при обох патологіях – пародонтиті та хронічному гепатиті – в сироватці крові зростає вміст імуноглобулінів класу G і циркулюючих імунних комплексів, а при пародонтиті – ще й імуноглобулінів класів A та M. При розвитку пародонтиту на фоні гепатиту підвищення рівня імуноглобулінів і ЦІК проявляється достовірно більшою мірою, ніж при моделюванні даних патологій окремо. Щодо механізму таких змін, то, крім активації ефекторної ланки імунної системи у відповідь на введення антигену ліпополісахариду і виникнення автоімунних реакцій внаслідок персистенції сенсibiliзуювальних агентів в організмі у зв'язку з пригніченням мікросомальної монооксигеназної системи [5, 14], можливо, має значення інгібування під впливом гепатотоксину функціональної активності Т-лімфоцитів, особливо Т-супресорів, і, як наслідок, збільшення співвідношення Т-хелпери/Т-супресори [7, 15]. Такий зсув клітинного імунітету в бік пригнічення супресорної ланки призводить до інтенсифікації вироблення автоантитіл на автоантигени, які в збільшеній кількості вивільнюються в кров у результаті деструкції тканин. Певну роль у підвищенні рівня імуноглобулінів та імунних комплексів у крові при пародонтиті на фоні гепатиту може відігравати також зміна їх катаболізму [9]. Порушення виведення ЦІК

Таблиця 2 – Рівень цитокінів у сироватці крові щурів з ліпополісахаридним запаленням пародонта на фоні хронічного гепатиту ($M \pm m$; $n=8-10$)

Показник	Група тварин			
	Показник			
	контроль	пародонтит	гепатит	пародонтит+гепатит
ФНП- α , пг/мл	47,40 \pm 6,02	248,5 \pm 30,26*	190,5 \pm 22,4*	375,6 \pm 30,20* ^{#^}
ІЛ-1 β , пг/мл	22,70 \pm 3,45	75,46 \pm 9,05*	55,68 \pm 7,80*	140,5 \pm 14,10* ^{#^}
ІЛ-4, пг/мл	19,25 \pm 2,40	8,85 \pm 1,25*	11,25 \pm 1,10*	5,20 \pm 1,04* ^{#^}
ІЛ-10, пг/мл	14,20 \pm 2,94	10,60 \pm 1,50	5,65 \pm 0,09*	4,24 \pm 0,80* ^{#^}

з організму сприяє тривалій їх циркуляції в кров'яному руслі, що створює умови для їх пошкоджувальної дії на тканини. Важливим фактором елімінації ЦІК є фагоцитоз, коли імунні комплекси приєднують компоненти комплексу і фагоцитуються мононуклеарними клітинами. ЦІК можуть захоплюватися не тільки кров'яними фагоцитами, а й тканинними, головним чином, купферовськими клітинами печінки [11]. За умов ураження печінки, коли зменшується здатність клітин Купфера до фагоцитозу, розвивається гіперглобулінемія і збільшується вміст ЦІК у крові. З іншого боку, при великому навантаженні на купферовські клітини, у зв'язку з підвищеною концентрацією імунних комплексів у кров'яному руслі, можливе їх функціональне перевантаження, що призводить до надлишкової секреції ними ферментів і біологічно активних речовин, які справляють токсичний вплив на клітини печінки та організм у цілому [14].

Поглиблення дисбалансу між продукцією прозапальних і антизапальних цитокінів у тварин з поєднаною патологією, порівняно зі щурами, в яких пародонтит і гепатит моделювали окремо, очевидно, можна пояснити тим, що, з одного боку, ліпополісахарид є потужним стимулятором запалення, що індукує утворення ФНП- α і прозапальних інтерлейкінів, а з іншого – гепатит, викликаний токсичними сполуками, зумовлює розвиток ендотоксемії, що, у свою чергу, запускає каскад реакцій, у результаті чого імунокомпетентні клітини і клітини Купфера печінки посилено утворюють ФНП- α та інші прозапальні інтерлейкіни [1, 2, 13].

ВИСНОВОК. У патогенезі ліпополісахаридного запалення тканин пародонта важлива роль належить порушенням гуморальної ланки імунної системи і цитокінового профілю організму. Зміни системи імунітету суттєво погіршуються при пародонтиті, що розвивається на фоні хронічного гепатиту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ешану В. С. Цитокины и их биологические эффекты при некоторых болезнях печени / В. С. Ешану // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2004. – № 5. – С. 11–16.
2. Игнатов В. А. Провоспалительные цитокины и их связь с клиническими проявлениями и биохимическими маркерами воспаления у больных хроническими гепатитами / В. А. Игнатов // Укр. тер. журн. – 2001. – 3, № 3. – С. 51–55.
3. Иммунологические методы исследования в клинике. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.
4. Моисеева Е. Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук / Е. Г. Моисеева. – М., 2008. – 45 с.
5. Погосян Е. Ш. Влияние искусственного повышения липидной пероксидации на изменение уровня антиоксидантов, среднемолекулярных пептидов и циркулирующих иммунных комплексов в эксперименте / Е. Ш. Погосян, В. Г. Аматыни // Эксперим. и клин. мед. – 1990. – № 6. – С. 566–570.
6. Подгаецкая О. Е. Этиология и патогенез хронического генерализованного пародонтита / О. Е. Подгаецкая, С. А. Шнайдер // Буковин. мед. вісник. – 2007. – № 1. – С. 127–130.
7. Подымова С. Д. Аутоиммунные заболевания печени: связь с другой аутоиммунной патологией / С. Д. Подымова, А. О. Буверов // Тер. архив. – 1993. – № 2. – С. 36–41.
8. Політун А. М. Вплив комплексного лікування на рівень цитокінів про- та протизапальних ланок ротової рідини хворих на генералізований пародонтит / А. М. Політун, Г. М. Мельничук // Імплантологія, Пародонтологія, Остеологія. – 2008. – № 2 (10). – С. 14–19.
9. Прокопенко Л. Г. Обмен иммуноглобулинов / Л. Г. Прокопенко, М. И. Равич-Щербо. – М. : Медицина, 1974. – 224 с.
10. Роль імунної системи у розвитку і перебізі генералізованого пародонтиту, а також перспективи застосування рослинних препаратів для корекції місцевого імунітету ротової порожнини / Н. О. Стасюк, В. І. Герелюк, Н. В. Нейко, Л. Ю. Плав'юк // Галиц. лікар. вісник. – 2005. – 12, № 1. – С. 90–91.
11. Роль макрофагальной системы печени в снижении содержания иммунных комплексов в крови при адаптации к периодической гипоксии / Ф. З. Мерсон, Б. А. Фролов, А. А. Никоноров, В. П. Твердохлеб // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – № 11. – С. 461–463.
12. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.
13. Шаповалова І. О. Взаємозв'язок між станом мікрогемодинаміки та цитокіновим профілем крові хворих на хронічний токсичний гепатит, поєднаний з хронічним некалькульозним холециститом та ожирінням / І. О. Шаповалова // Укр. морфол. альманах. – 2009. – 7, № 4. – С. 150–153.
14. Яхонтова О. И. Роль иммунных комплексов при хронических заболеваниях печени и их динамика в процессе лечения / О. И. Яхонтова, О. П. Дуданова // Тер. архив. – 1992. – № 2. – С. 10–15.

15. Klein A. The effect of nonviral liver damage on the T-lymphocyte helper/suppressor ratio / A. Klein, S. C. Pappas, P. Gordon // Clin. Immunol. and Immunopathol. – 1988. – **46**, № 2. – P. 214–220.
16. Pihlstrom B. L. Periodontal diseases / B. L. Pihlstrom, B. S. Michalowicz, N. W. Johnson // Lancet. – 2005. – **366**. – P. 1809–1820.
17. Pischon N. Influence of periodontal therapy on the regulation of soluble cell adhesion molecule expression in aggressive periodontitis patients / N. Pischon, S. Hagewald, M. Kunze // Journal of Periodontology. – 2007. – 78 (4). – P. 683–690.
18. Relationship between periodontitis and hepatic abnormalities in young adults / M. Furuta, D. Ekuni, T. Yamamoto [et al.] // Acta Odontol. Scand. – 2010. – **68**, № 1. – P. 27–33.
19. Stage of hepatocellular carcinoma is associated with periodontitis / N. Tamaki, A. Takaki, T. Tomofuji [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2011. – **38**, № 11. – P. 1015–1020.

В. В. Щерба¹, М. И. Калинин², М. М. Корда¹

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ МЮРРЕЙ², КЕНТУККИ, США

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Резюме

Целью работы явилось исследование изменений гуморального звена иммунной системы и цитокинового профиля при липополисахаридном воспалении тканей пародонта на фоне хронического гепатита. Исследование проведено на белых крысах, которым в ткани пародонта вводили бактериальный липополисахарид. Гепатит вызывали путем введения животным аллилового спирта. Липополисахаридное воспаление пародонта сопровождалось повышением в сыворотке крови крыс содержания иммуноглобулинов классов А, М и G, циркулирующих иммунных комплексов, провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β и снижением уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-4. У животных с пародонтитом, развивающимся на фоне хронического гепатита, изменения показателей гуморального звена иммунитета и дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами были значительно более выраженными, чем у крыс с пародонтитом без гепатита.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, хронический гепатит, иммуноглобулины, цитокины.

V. V. Shcherba¹, M. I. Kalynskyi², M. M. Korda¹

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
MURRAY STATE UNIVERSITY², KY, USA

HUMORAL IMMUNITY AT PARODONTITIS ON THE BACKGROUND OF CHRONIC HEPATITIS

Summary

The aim of the study was to investigate the changes in humoral immune system and cytokine profile in lipopolysaccharide inflammation of parodontium tissue on the background of chronic hepatitis. The study was conducted on white rats. Lipopolysaccharide was injected into the parodontium tissue. Hepatitis was caused by allyl alcohol administered for 1 month. Lipopolysaccharide parodontium inflammation was accompanied by the increase in serum of immunoglobulins A, M and G content, circulating immune complexes, as well as pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β and by the decrease of anti-inflammatory cytokine IL-4 level. In animals with parodontitis that developed on the chronic hepatitis background, changes in humoral immunity parameters and imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines were expressed more markedly than in rats with parodontitis without hepatitis.

KEY WORDS: parodontitis, chronic hepatitis, immunoglobulins, cytokines.

Отримано 04.04.13

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

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВІКОВОЇ ПЕРЕБУДОВИ АРТЕРІЙ ПІДНИЖНЬОЩЕЛЕПНОЇ ЗАЛОЗИ

Комплексом морфометричних і біохімічних методів доведено, що з віком відбуваються потовщення стінки та звуження просвіту, суттєве збільшення індексу Вогенворта, артерій дрібного калібру піднижньощелепної залози, що призводять до погіршення пропускної здатності судин, недостатнього кровопостачання органа, пошкодження ендотеліоцитів, ендотеліальної дисфункції. Останнє підтверджується сильними кореляційними зв'язками між вмістом нітрит-аніона у піднижньощелепній залозі та відносним об'ємом пошкоджених ендотеліоцитів досліджуваних судин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піднижньощелепна залоза, артерії, морфометрія, нітрит-аніон.

ВСТУП. За останнє десятиліття зріс інтерес вітчизняних та зарубіжних науковців до вивчення слинних залоз, їх структури і функцій, що зумовлено зростанням та поширеністю їх захворювань. Останні коливаються в межах від 3 до 24 % усієї стоматологічної патології [11, 16]. Структура піднижньощелепної залози в нормі характеризується наявністю інтерстиціальних просторів з великою кількістю кровоносних і вузьких щілиноподібних просвітів лімфатичних капілярів та сероцитів, які перебувають на різних стадіях секреторного циклу [10]. В патогенезі уражень піднижньощелепної залози важливу роль відіграє стан кровоносного русла, особливо її артерій [13].

Усе частіше науковці досліджують особливості ремоделювання судин як метод вивчення зміни їх структури і функцій за різних фізіологічних та патологічних умов. Під ремоделюванням судин розуміють відповідь компонентів їх стінки на різні негативні ендо- та екзофактори [2, 5]. Перспективними на сьогодні є морфометричні методи дослідження судин піднижньощелепної залози, які дозволяють отримати кількісні характеристики різних фізіологічних та патологічних процесів і логічно пояснити їх [3, 4, 6].

Таким чином, метою даної роботи стало дослідження структурно-функціональних вікових змін артерій піднижньощелепної залози.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Морфологічними та біохімічними методами вивчено артерії дрібного калібру (зовнішній діаметр – 26–50 мкм)

© М. С. Гнатюк, Л. Я. Посоленик, 2013.

[15] піднижньощелепної залози 17 свиней в'єтнамської породи. Тварин поділили на дві групи: 1-ша група налічувала 8 інтактних практично здорових піддослідних тварин віком 3,5–4 міс., які перебували у звичайних умовах віварію; 2-га – 9 свиней віком 6,5–7 міс. Евтаназію піддослідних тварин здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопенталового наркозу. Вирізані шматочки піднижньощелепної залози фіксували в 10,0 % нейтральному розчині формаліну і після проведення через етилові спирти зростаючої концентрації поміщали в парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали за загальноприйнятими методиками гематоксилін-еозин, за ван Гізон, Маллорі, Вейгертом. Морфометрично визначали зовнішній та внутрішній діаметри артерій дрібного калібру піднижньощелепної залози, товщину медії, індекс Вогенворта (відношення площі судини до її просвіту), висоту ендотеліоцитів, діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматизні відношення в цих клітинах, відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів [1, 5]. У гомогенатах піднижньощелепної залози досліджували вміст нітрит-аніона (стабільний метаболіт оксиду азоту). Концентрацію нітрит-аніона в гомогенатах визначали за високоспецифічним електрофотометричним методом Гріна на основі кольорової реакції з реактивом Гріса [9, 12]. Кореляційний аналіз між вмістом нітрит-аніона та кількістю пошкоджених ендотеліоцитів проводили із визначенням коефіцієнта (r) парної кореляції. Силу зв'язку оцінювали за чотирма ступенями: сильним ($r=0,7-0,9$), значним ($r=0,5-0,7$), помірним ($r=0,3-0,5$), слабким ($r<0,3$).

Отримані кількісні дані обробляли статистично. Різницю між порівнюваними морфометричними показниками визначали за коефіцієнтом Стьюдента [7, 8].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході кількісного морфологічного аналізу встановлено, що з віком суттєво змінювалися морфометричні параметри артерій дрібного калібру піднижньощелепної залози. Так, зовнішній діаметр у старих піддослідних тварин збільшився на 4,5 %, товщина медії стала більшою на 9,5 %. Внутрішній діаметр досліджуваних судин (просвіт) з віком зменшувався. У молодих піддослідних тварин внутрішній діаметр артерій дрібного калібру дорівнював (15,50±0,36) мкм, а в старих – (13,70±0,33) мкм, тобто останній показник був меншим від попереднього на 11,6 %. Варто зазначити, що наведені морфометричні параметри між собою статистично достовірно відрізнялися (p<0,01). Індекс Вогенворта за даних експериментальних умов з високим ступенем достовірності (p<0,001) зріс з (405,20±9,30) до (566,30±11,40) %, тобто на 161,1 %. Потовщення стінки досліджуваних артерій, звуження їх просвіту й, особливо, виражене зростання індексу Вогенворта вказували на зниження пропускної здатності цих судин та деяке погіршення кровопостачання піднижньощелепної залози [15].

В артеріях дрібного калібру піднижньощелепної залози з віком висота ендотеліоцитів зменшилася на 8,9 %, а діаметр їх ядер став меншим на 9,3 %. Ядерно-цитоплазматичні відношення в ендотеліоцитах досліджуваних судин піднижньощелепної залози з віком не змінювалися (табл. 1), що свідчило про стабільність клітинного структурного гомеостазу.

Останній, незважаючи на вікові структурні зміни у стінці артерій, залишався однаковим і стабільним. Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів у досліджуваних судинах з ві-

ком статистично достовірно (p<0,001) збільшився з (2,30±0,06) до (4,10±0,12) %, тобто в 1,78 раза. Пошкодження ендотеліоцитів з віком в артеріях дрібного калібру піднижньощелепної залози можна пояснити апоптозом, що має місце при віковій структурній перебудові судин.

У ході досліджень вмісту нітрит-аніона у піднижньощелепній залозі встановлено, що з віком він суттєво змінювався. Отримані результати визначення вмісту нітрит-аніона в досліджуваному органі наведено в таблиці 2.

У старих піддослідних тварин вказаний показник статистично достовірно зменшився з (4,08±0,12) до (3,28±0,06) ммоль/кг, тобто на 19,6 %. Наведені цифрові величини статистично достовірно (p<0,01) відрізнялися між собою. При проведенні кореляційного аналізу виявлено сильні негативні кореляційні зв'язки між вмістом нітрит-аніона у піднижньощелепній залозі та відносним об'ємом пошкоджених ендотеліоцитів в артеріях дрібного калібру вказаного органа. Коефіцієнт парної кореляції при цьому дорівнював (r=-0,76±0,03). З наведеного вище логічно випливає, що вміст нітрит-аніона – стабільного метаболіту оксиду азоту корелює з відносним об'ємом пошкоджених ендотеліоцитів. Знайдене свідчить про те, що вміст нітрит-аніона в досліджуваному органі залежить від кількості ендотеліоцитів, які повністю функціонують.

Варто зазначити, що в останні роки дослідники все більше уваги звертають на стан ендотеліоцитів при різних патологічних станах [13, 18]. Як відомо, ендотелій – складний та багатофункціональний орган. Вказані клітини виконують в організмі людини транспортну, гемостатичну, вазомоторну, рецепторну, секреторну, судиноутворювальну та бар'єрну функції [17]. Окрім того, ендотеліоцити забезпечують адгезію та трансендотеліальну міграцію лейкоцитів, регулюють ріст гладко-

Таблиця 1 – Морфометрична характеристика артерій дрібного калібру піднижньощелепної залози (M±m)

Показник	Група спостереження	
	молоді тварини	старі тварини
Зовнішній діаметр, мкм	31,20±0,81	32,60±0,90
Внутрішній діаметр, мкм	15,50±0,36	13,70±0,33**
Товщина медії, мкм	6,30±0,15	6,90±0,18*
Індекс Вогенворта, %	405,20±9,30	566,30±11,40***
Висота ендотеліоцитів, мкм	6,20±0,18	5,65±0,12*
Діаметр ядер ендотеліоцитів, мкм	3,20±0,07	2,90±0,06**
Ядерно-цитоплазматичні відношення в ендотеліоцитах	0,265±0,001	0,263±0,005
Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів, %	2,30±0,06	4,10±0,12***

Примітка. Зірочкою позначено величини, що статистично достовірно відрізняються від аналогічних у молодих тварин (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001).

Таблиця 2 – Вміст нітрит-аніона в піднижньощелепній залозі (ммоль/кг) піддослідних тварин ($M \pm m$)

Орган	Група спостереження	
	1-ша	2-га
Піднижньощелепна залоза	4,08±0,12	3,28±0,06**

Примітка. ** – $p < 0,01$.

м'язових клітин судинної стінки, секретують оксид азоту, ендотеліні, простагландини, простаціклін, брадикінін, ангіотензин-II, чим забезпечують своєчасне та повноцінне кровопостачання життєво важливих органів. Проте з віком та при впливі різних патологічних станів у стінках артерій відбувається розростання сполучної тканини, що призводить до ущільнення судин та звуження їх просвіту, ендотелій атрофується і порушуються його функції [14, 19]. Першочергово змінюється синтез оксиду азоту в клітинах, який бере безпосередню участь у регуляції тонуусу судин (відповідає за релаксацію) [14]. Отже, порушення структури ендотеліоцитів призводить до їх дисфункції, блокади NO-синтази та синтезу NO, що супроводжується звуженням судин, гіпоксією, дистрофією і некробіозом клітин та тканин досліджуваного органа.

На основі отриманих результатів та проведених досліджень можна сказати, що з віком відбувається виражене ремоделювання переважно дрібних артерій піднижньощелепної залози, яке характеризується потовщенням їх стінки, звуженням просвіту, зниженням їх пропускної здатності, гіпоксією, пошкодженням ендотеліоцитів. Останнє може призводити до ендотеліальної дисфункції, гіпоксії, дистрофічних та некробіотичних змін клітин і тканин, посилення апоптозу.

ВИСНОВКИ. З віком відбувається виражена структурна перебудова переважно артерій дрібного калібру піднижньощелепної залози, яка характеризується потовщенням стінки судин, звуженням їх просвіту, вираженим збільшенням індексу Вогенворта, зниженням пропускної здатності судин, зростанням кількості пошкоджених ендотеліоцитів, що може ускладнюватися ендотеліальною дисфункцією, гіпоксією, дистрофічними та некробіотичними змінами клітин і тканин, посиленням апоптозу.

Перспективи подальших досліджень. Детальне всестороннє вивчення цих явищ є перспективним з метою їх урахування при діагностиці, коригувальних впливах та профілактиці різних уражень піднижньощелепної залози.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.
2. Амосова К. М. Зміни функції ендотелію під впливом комбінованого лікування у хворих на артеріальну гіпертензію / К. М. Амосова, Л. П. Сидорчук, О. В. Кушнір // Клінічна медицина. – 2010. – **14**, № 4 (56). – С. 3–6.
3. Боженкова М. В. Стромально-паренхиматозные отношения в поднижнечелюстных железах белых крыс в различные стадии перегревания организма / М. В. Боженкова // Морфология. – 2006. – **129**, № 4. – С. 24.
4. Герасимов А. В. Строение поднижнечелюстных желез при воздействии света и радиации в эксперименте / А. В. Герасимов, С. В. Логвинов, В. П. Костюченко // Морфология. – 2006. – **130**, № 5. – С. 35–36.
5. Калінкіна Н. В. Ремоделювання артерій при серцево-судинних захворюваннях / Н. В. Калінкіна, О. К. Кашанська, Є. В. Кетінг // Серце і судини. – 2004. – № 4 (8). – С. 87–91.
6. Кошарний В. В. Використання новітніх технологій в морфологічних дослідженнях / В. В. Кошарний // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – Вип. 3. – С. 135–139.
7. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 410 с.
8. Мармоза А. Т. Практикум з математичної статистики / А. Т. Мармоза. – К. : Кондор, 2004. – 264 с.
9. Міщенко В. І. Реакції перекисного окислення ліпідів і гемостазу у різних тканинах організму при гострому емоційно-больовому стресі / В. І. Міщенко // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 6. – С. 66–69.
10. Морфологическое исследование состояния лимфатического дренажа в поднижнечелюстной слюнной железе в нормальных условиях и при воздействии дестабилизирующих факторов / Е. В. Изотова, Ж. А. Кирина, Т. Г. Петрова, Н. П. Бгатова // Материалы II съезда лимфологов России. – СПб., 2005. – С. 117–119.
11. Рибалов О. В. Структура запальних захворювань слинних залоз / О. В. Рибалов, В. М. Гаврильєв // Укр. стоматол. альманах. – 2007. – № 4. – С. 15–18.

12. Состояние процессов свободнорадикального окисления липидов в слизистой оболочке полости рта и больших слюнных железах в динамике развития аллоксанового диабета / А. В. Скиба, К. Н. Косенко, Т. П. Терешина, Л. Н. Россаханова // Вісник стоматології. – 2005. – № 1. – С. 23–26.

13. Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров поднижнечелюстной слюнной железы и слизистой оболочки десны в условиях дефицита эстрогенов / Е. В. Изотова, А. Ю. Козлова, Т. Г. Петрова [и др.] // Вестник НГУ. – 2006. – 4, № 2. – С. 84–89.

14. Шестакова М. В. Дисфункция эндотелия причина или следствие метаболического синдрома? / М. В. Шестакова // РМЖ. – 2001. – № 9. – С. 88.

15. Шорманов С. В. Морфологические изменения сосудов печени при экспериментальной коарк-

тации аорты и после ее устранения / С. В. Шорманов, С. В. Куликов // Морфология. – 2003. – 124, № 4. – С. 61–65.

16. Abert O. A. Xerostomia. Causes and effect / O. A. Abert // J. Prosthet. Dent. – 2006. – 84, № 1. – P. 77–81.

17. Beck N. Diagnostic Hematology / N. Beck. – Springer 2nd ed. – 2008. – 752 p.

18. Conventional and high-speed intravital multiphoton laser scanning microscopy of microvasculature, lymphatics, and leukocyte-endothelial interactions / T. P. Padera, B. R. Stoll, P. T. So, R. K. Jain // Mol. Imaging. – 2002. – № 1(1). – P. 9–15.

19. Simvastatin improves disturbed endothelial barrier function / G. P. van Nieuw Amerongen, M. A. Vermeer, P. Negre-Aminou [et al.] // Circulation. – 2000. – 102 (23). – P. 2803–2809.

М. С. Гнатюк, Л. Я. Посоленик

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ АРТЕРИЙ ПОДНИЖНЕЧЕЛЮСТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме

Комплексом морфометрических и биохимических методов доказано, что с возрастом происходят утолщение стенки и сужение просвета, существенное увеличение индекса Вогенворта, артерий мелкого калибра поднижнечелюстной железы, что приводят к ухудшению пропускной способности сосудов, недостаточного кровоснабжения органа, повреждения эндотелиоцитов, эндотелиальной дисфункции. Последнее подтверждается сильной корреляционной связью между содержанием нитрит-аниона в поднижнечелюстной железе и относительным объемом поврежденных эндотелиоцитов исследуемых сосудов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: поднижнечелюстная железа, артерии, морфометрия, нитрит-анион.

M. S. Hnatiuk, L. Ya. Posolenyk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL RESEARCH OF PECULIARITIES OF AGE-OLD RE-ERECTING OF ARTERIES OF SUBMANDIBULAR GLAND

Summary

Complex morphometric and biochemical methods proved that with age there is thickening of the wall and narrowing of the lumen, a significant increase in the index by Vohenvort, small caliber arteries submandibulars gland, which leads to deterioration of bandwidth vessels insufficient blood supply to the organ damage endotheliocytes, endothelial dysfunction. Last confirmed a strong correlation between the content of nitrite-anion in submandibulars gland and the relative amount of damaged endotheliocytes investigated vessels.

KEY WORDS: submandibular gland, arteries, morphometric, nitrite-anion.

Отримано 24.04.13

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

**ВПЛИВ СВИНЦЮ НА ЕКСПРЕСІЮ БІЛКІВ ТЕПЛООВОГО ШОКУ Hsp70
І Hsc70 У ПЕЧІНЦІ ТА ЛЕЙКОЦИТАХ КОРОПА**

У статті наведено результати досліджень рівня експресії білків теплового шоку родини Hsp70 у печінці та клітинах крові коропа лускатого за умов отруєння солями свинцю. Методом імуноблотингу було виявлено значне зростання білка Hsp70, тоді як жодна із застосованих концентрацій свинцю не викликала істотних змін в експресії білка Hsc70 в досліджуваних зразках коропа.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: білки теплового шоку, Hsp70, Hsc70, стрес, свинець, дот-блот-аналіз, лейкоцити, печінка, короп.

ВСТУП. Білки теплового шоку (heatshock-protein, Hsp) являють собою родину висококонсервативних білків, які необхідні клітині у всіх процесах її життєдіяльності, зокрема для адаптації до величезного числа цитотоксичних факторів, як ксенобіотичного, так і природного походження [3, 4]. Найбільш вивченою родиною білків теплового шоку є родина Hsp70, що включає індукований стресовими чинниками Hsp70 і конститутивно експресований клітинами Hsc70. Експресію білків теплового шоку Hsp70 було описано в різноманітних клітинних лініях, тканинах та органах широкого ряду організмів [3]. До найбільш відомих індукторів експресії Hsp належать гіпертермія (нагрівання клітин або організму до сублетальної температури), важкі метали, окиснювальний стрес, органічні розчинники, деякі віруси й отрути [8]. Hsp відносять до природних біомаркерів, і визначення їх кількості в тканинах або клітинах стає однією з цілей діагностики поширених захворювань людини і тварин та/або аналізу впливу чинників, що порушують природне середовище проживання. Актуальність таких досліджень визначається значною мірою зростанням антропогенного впливу на природні водойми, де для риб як кінцевої ланки трофічного ланцюга існує значна токсикологічна загроза [2, 9, 10]. Відомо, що найбільшу небезпеку становить забруднення водойм важкими металами, перш за все свинцем, який навіть у порівняно малій кількості може негативно впливати на організм риб [1, 5, 6]. Отож, метою

роботи було перевірити вплив іонів свинцю на рівень експресії білків теплового шоку родини Hsp70 у печінці та клітинах крові коропа.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідженнях використовували 28 дворічних особин коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*) масою 270–350 г. Досліди проводили в резервуарах об'ємом 200 л. До кожної експериментальної групи входило по 7 особин. Досліджували вплив на риб іонів свинцю при 0,2; 0,5 та 5 мг/дм³, що відповідали 2,5 і 50 гранично допустимим концентраціям (ГДК). Риб витримували 96 год у середовищі з додаванням Pb(CH₃COO)₂. Контрольну групу риб витримували аналогічний термін у звичайних умовах, без додавання ацетату свинцю. Здійснювали постійну аерацію і підтримували температурний режим води на рівні 18–20 °С. Кров забирали за допомогою пастерівської піпетки із серця риб, а також відбирали тканини печінки, які промивали фізіологічним розчином та заморожували в рідкому азоті. Експерименти проводили згідно з правилами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Після розморожування тканину лізували у десятикратному об'ємі буфера для лізування, pH 7,4 (10 % N-лаурилсаркозин, 10 мкМ фенілметилсульфонілфторид, 10 мкМ N-етилмалеїмід в 0,01 М Na-фосфатному буфері, 0,001 % коктейль інгібіторів протеїназ – “Sigma”, ФРН). Далі зразки центрифугували при 5200 г протягом 5 хв при 4 °С. У лізатах вимірювали

© М. Я. Онисковець, В. В. Снітинський, 2013.

концентрацію білка методом Лоурі. З метою вирівнювання об'ємів та концентрацій загального білка зразки розводили буфером для розведення зразків, рН 7,4 (25 мМ Трис-НСІ, 150 мМ NaCl, 2,5 мМ KCl). На нітроцелюлозну мембрану (Millipore) наносили лізат об'ємом 3 мкл з однаковим загальним вмістом білка 1–5 мкг. Щоб виявити фонове свічення, на мембрану наносили буфер для лізування та буфер для розведення зразків. Мембрану блокували протягом 1 год у 5 % розчині казеїну. Після нанесення контрольних та дослідних зразків мембрану інкубували з антитілами до білків теплового шоку SAB4501464 ("Sigma", США), [5A5] (ab2787) ("Abcam", США) та [1B5] (ab19136) ("Abcam", США) у ЗФРТ 90 хв та поліклональними козячими антимишачими антитілами, кон'югованими з лужною фосфатазою ("Tropix", США) – 1:5000 у ЗФРТ 30 хв. Детекцію імунних комплексів здійснювали з використанням комерційного розчину субстрату для лужної фосфатази – CDP-Star ("Tropix", Велика Британія). Візуалізацію проводили за допомогою рентгенівської плівки ECL HyperFilm (Amersham, США) та набору для проявки плівок (Kodak). Обробку зображень для отримання цифрових значень здійснювали за допомогою пакета програм GelPro (Version 3.1, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні вмісту Hsp70 у лейкоцитах коропа лускатого за дії Pb²⁺ встановлено, що 5 та 50 ГДК призводять до значного зростання рівня даного білка порівняно з контролем, де він був відсутній (рис. 1). Так, за умов впливу на рибу концентрації 0,2 мг/дм³ Pb²⁺ рівень білка становив (8,15±1,02) у.о., при 0,5 мг/дм³ Pb²⁺ – (40,84±3,58) у.о., а при 5 мг/дм³ Pb²⁺ він сягнув (120,35±10,87) у.о. проти контрольного показника – (1,22±0,12) у.о. Водночас було відзна-

чено відсутність будь-яких вірогідних змін в експресії Hsc70 при застосуванні всіх використаних концентрацій Pb²⁺ у лейкоцитах піддослідних риб (рис. 1).

У печінці досліджуваних риб 0,2 мг/дм³ Pb²⁺ призводило до детектування білка теплового шоку на рівні (19,25±2,12) у.о., а 0,5 та 5 мг/дм³ спричиняли значне зростання вмісту Hsp70 – до (65,27±8,35) та (252,28±18,64) у.о., що, відповідно, у 26 і 100 разів більше від контролю. Таким чином, у контрольній групі було детектовано незначний рівень Hsp70, а всі досліджувані концентрації іонів свинцю дозозалежно збільшували вміст Hsp70, причому найвищий рівень експресії даного білка відмічено за дії 5 мг/дм³ (рис. 2). Якщо ж говорити про Hsc70, то для печінки відзначено аналогічну з лейкоцитами картину, коли жодна з концентрацій іонів свинцю не мала істотного впливу на рівень експресії згаданого білка (рис. 2).

Отже, в результаті наших досліджень було виявлено підвищення вмісту білка Hsp70 за дії всіх концентрацій іонів свинцю на фоні повної відсутності змін в експресії Hsc70. Це можна пояснити тим, що Hsp70 належить до тих білків теплового шоку, які відповідають на широкий спектр стресових чинників, зокрема на дію важких металів [7, 8], тоді як Hsc70, найімовірніше, залучений до більш специфічних механізмів відповіді на детерміновані фактори стресового впливу [4]. Проте головним моментом даної роботи є потенційна можливість використання білків теплового шоку як специфічних маркерів токсичної дії свинцю. З цієї метою можна використовувати Hsp70 і комбінації з Hsc70, коли зростання експресії першого та відсутність змін у рівні другого білка може бути фактором, що підтверджує токсичну дію свинцю на організм тварин.

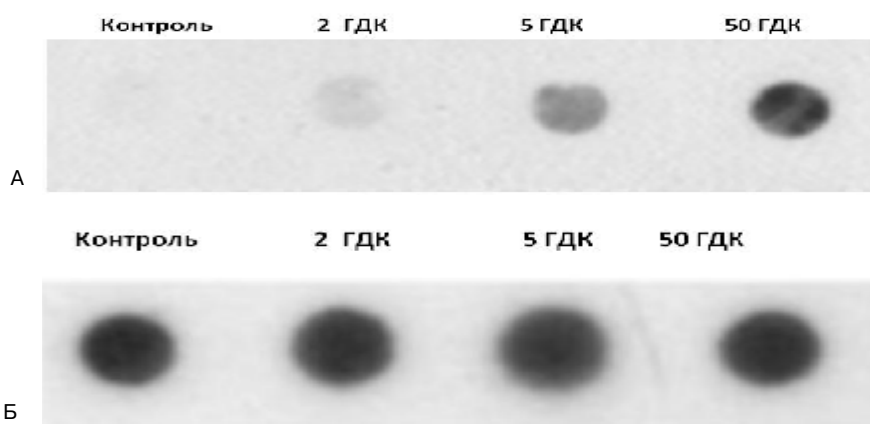


Рис. 1. Дот-блот-аналіз вмісту білків Hsp70 (А) і Hsc70 (Б) у лейкоцитах крові коропа лускатого за дії іонів свинцю.

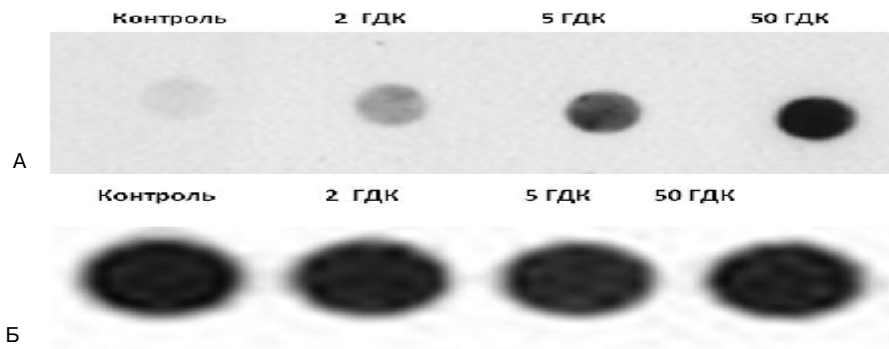


Рис. 2. Дот-блот-аналіз вмісту білків Hsp70 (А) і Hsc70 (Б) у печінці коропа лускатого за дії іонів свинцю.

ВИСНОВКИ. Було встановлено значне зростання білка теплового шоку Hsp70 у лейкоцитах та печінці коропа лускатого за дії всіх концентрацій свинцю. Водночас жодна із застосованих концентрацій іонів свинцю не викликала істотних змін в експресії білка Hsc70. На підставі отриманих даних висувається при-

пущення про наявність кореляції між станом цілого організму і вмістом білків Hsp70 та Hsc70. Передбачається, що Hsp70 перш за все необхідний для захисту від факторів, що викликають клітинний стрес, а білок Hsc70 є незамінним для формування клітинної адаптації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брагинский Л. П. К методике токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах / Л. П. Брагинский, П. Н. Линник // Гидробиол. журн. – 2003. – **39**, № 1. – С. 92–104.
2. Гладышев М. И. Содержание металлов в экосистеме и окрестностях рекреационного и рыбного пруда Бугач / М. И. Гладышев, И. В. Грибовская, Е. А. Иванова // Водные ресурсы. – 2001. – **28**, № 3. – С. 320–328.
3. Евдонин А. Л. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции / А. Л. Евдонин, Н. Д. Медведева // Цитология. – 2009. – **51**, № 2. – С. 130–137.
4. Маргулис Б. А. Белки стресса в эукариотической клетке / Б. А. Маргулис, И. В. Гужова // Цитология. – 2000. – **42**, № 4. – С. 323–342.
5. Пилипенко Ю. В. Оценка пищевого качества рыб-биомелиораторов на содержание тяжелых металлов / Ю. В. Пилипенко // Гидробиол. журн. – 2007. – **43**, № 5. – С. 64–77.
6. Токсическое действие соединений свинца на гидробионты и водоплавающих птиц (обзор) / Г. А. Леонова, А. Н. Сутурин, И. С. Ломоносов [и др.] // Гидробиол. журн. – 1992. – **28**, № 4. – С. 68–75.
7. Центральные эффекты белка теплового шока с молекулярной массой 70 кДа / Л. И. Андреева, П. Д. Шабанов, Б. А. Маргулис [и др.] // ПФБН. – 2005. – **5**, № 1. – С. 794–803.
8. Heat shock protein Hsp70 expression and DNA damage in Baikalian sponges exposed to model pollutants and wastewater from Baikalsk Pulp and Paper Plant / S. M. Efremova, B. A. Margulis, I. V. Guzhova [et al.] // AquatToxicol. – 2002. – **57**. – P. 267–280.
9. Oliva-Teles A. Nutrition and health of aquaculture fish / A. Oliva-Teles // Journal of Fish Diseases. – 2012. – **35**, № 2. – P. 83–108.
10. The relative importance of water and food as cadmium source to *Daphnia magna* Straus / C. Barata, S. J. Markich, D. J. Baird [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2002. – **61**. – P. 143–154.

ВЛИЯНИЕ СВИНЦА НА ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА Hsp70 И Hsc70 В ПЕЧЕНИ И ЛЕЙКОЦИТАХ КАРПА

Резюме

В статье представлены результаты исследований уровня экспрессии белков теплового шока семейства Hsp70 в печени и клетках крови карпа чешуйчатого в условиях отравления солями свинца. Методом иммуноблоттинга было обнаружено значительное возрастание белка Hsp70, тогда как ни одна из применяемых концентраций свинца не вызвала существенных изменений в экспрессии белка Hsc70 в исследуемых образцах карпа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белки теплового шока, Hsp70, Hsc70, стресс, свинец, дот-блот-анализ, лейкоциты, печень, карп.

M. Ya. Onyskovets, V.V. Snitynskyi
LVIV NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY

INFLUENCE OF THE LEAD ON THE EXPRESSION OF HEAT SHOCK PROTEINS Hsp70 AND Hsc70 IN LEUCOCYTES AND LIVER OF THE CARP

Summary

Results regarding investigations of the heat shock proteins expression in blood cells and liver of the carp flake under the lead-caused intoxication were presented. By immunoblotting it was found that lead cause increasing of the Hsp70 in target tissues and cells but has no influence on the Hsc70 expression level.

KEY WORDS: heat shock proteins, Hsp70, Hsc70, stress, lead, dot-blotting, leucocytes, liver, carp.

Отримано 18.04.13

Адреса для листування: М. Я. Онисковець, Львівський національний аграрний університет, вул. Володимира Великого, 1, Дубляни, 80381, Україна, e-mail: onyskovets.m@gmail.com.

С. М. Придруга¹, Ю. І. Бондаренко¹, Р. М. Борис²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ТРАНСПОРТУ МОЗ УКРАЇНИ², ОДЕСА

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЦИТОЛІЗУ Й ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ПЕРІОД ПІЗНІХ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

У період пізніх проявів травматичної хвороби (з 14 до 28 доби посттравматичного періоду) в сироватці крові відзначають підвищення активності маркерних ферментів цитолізу та вмісту продуктів ендогенної інтоксикації. Їх динаміка має коливальний характер із досягненням найбільших величин на 21 добу. Застосування тіотриазоліну в дозі 9,07 мг·кг⁻¹ із 7 до 14 доби посттравматичного періоду супроводжується зниженням активності ферментів цитолізу, вмісту продуктів ендогенної інтоксикації та меншим еритроцитарним індексом інтоксикації, ніж у нелікованих тварин, що відмічають у всі терміни спостереження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **травматична хвороба, тіотриазолін, цитоліз, ендогенна інтоксикація.**

ВСТУП. В умовах сучасного урбанізованого суспільства травматизм від різних причин посідає провідне місце у структурі смертності поруч із серцево-судинними й онкологічними захворюваннями. В осіб працездатного віку він займає перше місце, що становить серйозну не тільки медичну, але й соціальну проблему [7].

Останніми роками різко зростає частка політравми у структурі тяжких множинних і поєднаних уражень. Вона супроводжується розвитком травматичної хвороби (ТХ), яка проявляється синдромом системної реакції організму на запалення, поліорганною недостатністю, що є головною причиною загибелі пацієнта [8]. Тому одним з основних напрямків лікування постраждалих із політравмою є пошук засобів попередження поліорганної недостатності на основі розробки технологій впливу на ключові патогенетичні механізми ТХ.

Як показали результати експериментальних досліджень ряду авторів, у динаміці ТХ відмічають періоди загострення і стихання проявів патологічного процесу [5, 6]. Найбільші відхилення відзначають на 1–7 і 21–28 доби після нанесення травми, що супроводжується зростанням загибелі тварин. Разом з тим, стихання патологічного процесу із 7 до 14 доби свідчить про залучення ендогенних механізмів проведення профілактики загострення ТХ у період її пізніх проявів шляхом впливу на

ключові механізми даної хвороби саме в цей часовий проміжок.

У працях В. М. Ельського та співавторів (2011) на основі оцінки показників ендогенної інтоксикації показано ефективність тіотриазоліну в період ранніх проявів політравми [3]. Даний препарат є класичним антиоксидантом, зменшує потребу тканин у кисні, має виражену анаболічну спроможність, здатний нормалізувати обмінні процеси та посилювати енергетичне забезпечення тканин [9]. Поліфункціональність препарату робить його перспективним засобом стимуляції механізмів саногенезу за умов політравми.

Метою дослідження було з'ясувати вплив тіотриазоліну на перебіг травматичної хвороби в період її пізніх проявів на основі динаміки показників цитолізу та ендогенної інтоксикації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 54 нелінійних білих щурах-самцях масою 200–220 г. Тварин поділили на три групи: контрольну (6 тварин) та дві дослідних (по 24 тварини). У 1-й дослідній групі моделювали політравму й імітували лікування шляхом внутрішньочеревного введення фізіологічного розчину в еквівалентній до основного лікувального препарату дозі; у 2-й – моделювали політравму і проводили корекцію шляхом внутрішньочеревного введення тіотриазоліну фірми “Артеріум” (Україна) у вигляді 2,5 % розчину в дозі 9,07 мг·кг⁻¹, яка відповідала середньодобовій дозі 100 мг для дорослої лю-

дини [4]. Препарати вводили одноразово в один і той самий час у першій половині дня. Курс введення складав 7 днів: із 7 до 14 доби.

Політравму моделювали шляхом нанесення дозованого удару по кожному стегну спеціально розробленим пристроєм. Силу удару було встановлено емпірично, вона дозволяла при одноразовому нанесенні отримувати закритий перелом стегнової кістки. Процедуру виконували за умов тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг·кг). Дослідження основних показників проводили через 14, 21 і 28 діб після нанесення політравми, що відповідало періоду пізніх проявів травматичної хвороби [2].

Тварин умертвляли за умов тіопентало-натрієвого знеболювання шляхом тотального кровопускання із серця. Ступінь ендотоксемії визначали за вмістом у сироватці крові молекул середньої маси при довжинах хвиль 254 і 280 нм (фракції MCM_{254} , MCM_{280}) (Н. І. Габріелян і співавт., 1985), її тяжкість – за еритроцитарним індексом інтоксикації (EII) (А. А. Тогайбаєв, 1988) [7]. Крім цього, оцінювали інтенсивність прояву цитолітичного синдрому шляхом визначення в сироватці крові активності аланін-і аспартатамінотрансфераз (відповідно, АлАТ і АсАТ) уніфікованим методом для аналізатора біохімічного Humalyzer 2000.

Усі експерименти виконано з 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).

Одержаний цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На 14 добу посттравматичного періоду активність АлАТ сироватки крові у 3,6 раза була вищою від рівня контролю ($p < 0,001$). У подальшому величина даного показника зростала і була на 7,8 % більшою від рівня попереднього терміну спостереження ($p_1 < 0,05$), а на 28 добу істотно знижувалася – на 32,0 % стосовно величини 14 доби спостереження ($p_1 < 0,01$) і на 36,9 % стосовно аналогічного рівня 21 доби спостереження ($p_2 < 0,001$). Незважаючи на істотне зменшення, величина даного показника на 28 добу продовжувала статистично достовірно перевищувати рівень контролю (у 2,4 раза, $p < 0,001$).

Коливання активності АсАТ сироватки крові були практично ідентичними. На 21 добу величина даного показника збільшувалася сто-

совно попереднього терміну спостереження на 17,5 % ($p_1 < 0,05$), на 28 добу знижувалася, однак результат стосовно попереднього терміну спостереження виявився статистично не достовірним ($p_2 > 0,05$). У зв'язку з цим, активність АсАТ сироватки крові на 11,2 % перевищувала рівень 14 доби ($p_1 < 0,05$) й у 2,5 раза – рівень контролю ($p < 0,001$).

Таким чином, за умов модельованої політравми у період пізніх проявів ТХ на 14 добу активність АлАТ і АсАТ сироватки крові статистично достовірно перевищувала рівень контролю. На 21 добу відзначали статистично значуще збільшення активності ферменту, яка на 28 добу низилася, причому істотним зниження було лише за величиною АлАТ. Обидва показники на 28 добу не досягли рівня контролю.

При застосуванні тіотриазоліну динаміка відхилень досліджуваних показників була значно меншою. Уже на 14 добу активність АлАТ і АсАТ сироватки крові була, відповідно, всього на 19,1 і 15,8 % більшою від рівня контролю ($p < 0,05$), що у 3,6 і 2,0 рази менше стосовно групи нелікованих тварин ($p < 0,001$). На 21 добу активність АлАТ сироватки крові підвищувалася (на 66,6 % стосовно попереднього терміну спостереження), а на 28 добу – знижувалася, не досягаючи рівня 14 доби. У ці терміни величина досліджуваного показника була статистично достовірно меншою, ніж у нелікованих щурів (відповідно, на 48,9 і 28,4 %, $p < 0,001$).

Динаміка відхилень активності АсАТ була аналогічною: на 21 добу величина даного показника зростала на 31,2 % стосовно попереднього терміну спостереження ($p_1 < 0,05$), а на 28 добу – знижувалася на 20,6 % стосовно рівня 21 доби, проте не досягала контролю. На 21 і 28 доби активність АсАТ була статистично достовірно меншою, ніж у нелікованих тварин (відповідно, на 42,9 і 52,1 %, $p < 0,001$).

Таким чином, застосування тіотриазоліну супроводжувалося меншим рівнем маркерних ферментів цитолізу, починаючи із 14 доби експерименту. В подальшому на 21 добу вони збільшувалися і на 28 добу знижувалися, залишаючись при цьому істотно меншими, ніж у нелікованих щурів.

При аналізі рівня ендогенної інтоксикації в період пізніх проявів ТХ було встановлено, що у нелікованих тварин на 14 добу посттравматичного періоду вміст у крові MCM_{254} , MCM_{280} та EII суттєво перевищували рівень контролю (відповідно, на 85,7, 115,4 та 34,2 %, $p < 0,001$).

Через 21 добу величини зазначених показників стосовно попереднього терміну спостереження статистично достовірно зростали

(відповідно, на 142,3, 135,7 і 21,8 %, $p_1 < 0,001$). На 28 добу відзначали їх зниження (стосовно 21 доби – на 50,8, 51,5 і 11,8 % відповідно, $p_2 < 0,05-0,001$). Слід зауважити, що величини досліджуваних показників ендogenous інтоксикації на 28 добу досягали рівня 14 доби і статистично достовірно від нього не відрізнялися ($p_1 > 0,05$).

Таким чином, період пізніх проявів політравми супроводжувався значним ендотоксикозом, який на 14 добу значно перевищував рівень контролю. На 21 добу відмічали збільшення досліджуваних показників, які на 28 добу повернулися до рівня 14 доби.

Застосування тіотриазоліну супроводжувалося практично ідентичним рівнем МСМ₂₅₄₋₂₈₀ на 14 добу, що й у нелікованих тварин. Звернула на себе увагу тенденція до меншого вмісту фракції МСМ₂₅₄ (на 23,1 %, $p < 0,10$). Разом із тим, ЕІІ у лікованих тварин був статистично достовірно нижчим (на 8,5 %, $p < 0,01$). У подальшому відзначали аналогічні за напрямком, проте менші за амплітудою коливання показників ендogenous інтоксикації на 21 і 28 доби. Так, на 21 добу вміст МСМ₂₅₄ крові збільшувався стосовно попереднього терміну спостереження на 60,0 % ($p_1 < 0,01$), МСМ₂₈₀ – на 52,2 % ($p_1 < 0,01$), ЕІІ – на 9,4 % ($p_1 < 0,01$). Однак величини даних показників у цей термін спостереження були статистично достовірно меншими, ніж у нелікованих тварин (відповідно, на 49,2, 47,0 і 17,9 %, $p < 0,001$).

На 28 добу величини показників ендogenous інтоксикації знижувалися (відповідно, на 40,6, 34,3 і 11,6 % порівняно з рівнем 21 доби, $p_2 < 0,05-0,001$) й досягали величини 14 доби ($p_1 > 0,05$). Величини досліджуваних показників у цей термін спостереження на тлі застосування тіотриазоліну виявилися статистично достовірно меншими, ніж у нелікованих тварин (відповідно, на 38,7, 28,1 і 17,7 %, $p < 0,001$).

Таким чином, застосування тіотриазоліну сприяло зменшенню рівня ендogenous інтоксикації в період пізніх проявів травматичної хвороби, що на 14 добу супроводжувалося зниженням рівня ЕІІ, в інші терміни, незважаючи на збільшення вмісту в крові МСМ₂₅₄₋₂₈₀ та ЕІІ на 21 добу, статистично достовірно нижчими величинами зазначених показників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дужий І. Д. Особливості лікувально-діагностичної тактики при поєднаній краніоабдомінальній травмі / І. Д. Дужий, В. П. Шевченко, В. В. Шевченко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник

Отримані результати свідчать про те, що тіотриазолін сприяв стабілізації клітинних мембран, що пов'язано, очевидно, з його антиоксидантними властивостями. За цих обставин істотно зменшувалася їх проникність, знижувався перехід внутрішньоклітинних ферментів у кровоносне русло. Так само, напевно, зменшувався і ступінь загибелі клітин паренхіматозних органів, що має місце в разі зниження активності цитоплазматичних ферментів у крові [6]. Зниження рівня МСМ та ЕІІ вказує на менший ступінь ендogenous інтоксикації, що тісно пов'язано зі ступенем ураження мембран паренхіматозних органів, метаболізувальною і детоксикаційною функціями печінки та видільною – нирок. Можна припустити, що за умов проведеного нами експерименту знижується ступінь дисфункції цих паренхіматозних органів. Це означає, що застосування тіотриазоліну в термін стимуляції власних саногенних механізмів при політравмі супроводжується вираженим профілактичним ефектом стосовно поліорганної дисфункції і недостатності.

ВИСНОВКИ. 1. У період пізніх проявів травматичної хвороби (з 14 до 28 доби посттравматичного періоду) в сироватці крові відзначають підвищення активності маркерних ферментів цитолізу (аланін- і аспартатамінотрансфераз), вмісту продуктів ендogenous інтоксикації (молекул середньої маси фракцій 254 і 280 нм) та рівня еритроцитарного індексу інтоксикації. Їх динаміка має коливальний характер із досягненням найбільших величин на 21 добу.

2. Застосування тіотриазоліну в дозі 9,07 мг·кг⁻¹ із 7 до 14 доби посттравматичного періоду супроводжується зниженням активності ферментів цитолізу, вмісту продуктів ендogenous інтоксикації та меншим еритроцитарним індексом інтоксикації, ніж у нелікованих тварин, що відмічають в усі терміни спостереження. Суттєво нівелюється епізод загострення травматичної хвороби на 21 добу спостереження.

Перспективи подальших досліджень.

Перспективним є визначення порівняльної ефективності тіотриазоліну на перебіг періоду пізніх проявів політравми при інших схемах застосування даного препарату.

Української медичної стоматологічної академії. – 2009. – 9, вип. 1. – С. 214–215.

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

3. Использование тиотриазолина в раннем периоде травматической болезни / В. Н. Ельский, С. В. Пищулина, М. С. Кишеня [и др.] // Питание экспериментальной та клінічної медицини. – 2011. – № 1, вип. 15, – С. 110–112.

4. Клиническое применение тиотриазолина в терапии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 1. – С. 71–74.

5. Козак Д. В. Вплив політравми на динаміку раннього апоптозу тканинних лімфоцитів / Д. В. Козак, А. А. Гудима // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 3. – С. 86–88.

6. Козак Д. В. Особливості показників перексидного окиснення ліпідів в динаміці раннього і пізнього періоду політравми / Д. В. Козак // Актуальні

проблеми транспортної медицини. – 2012. – № 3. – С. 103–106.

7. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: методичні рекомендації / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко [та ін.] ; МОЗ України. – К., 1998. – С. 1–31.

8. Об'єктивізація оцінки тяжкості та хірургічної тактики при поєднаних пошкодженнях / Я. Л. Заруцький, Л. М. Анкін, В. М. Денисенко [та ін.] // Проблеми військової охорони здоров'я: збірник наукових праць. – 2006. – Вип. 17. – С. 127–135.

9. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / [И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др.]. – Запорожье, Львов: НАУТЛУС, 2005. – 156 с.

С. М. Придруга¹, Ю. И. Бондаренко¹, Р. Н. Борис²

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
УКРАИНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРАНСПОРТА МЗ УКРАИНЫ², ОДЕССА

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОЛИЗА И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ПЕРИОД ПОЗДНИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ТИОТРИАЗОЛИНОМ

Резюме

В период поздних проявлений травматической болезни (с 14 по 28 сутки посттравматического периода) в сыворотке крови отмечают повышение активности маркерных ферментов цитолиза и содержания продуктов эндогенной интоксикации. Их динамика носит колебательный характер с достижением наибольших величин на 21 сутки. Применение тиотриазолина в дозе 9,07 мг·кг⁻¹ с 7 по 14 сутки посттравматического периода сопровождается снижением активности ферментов цитолиза, содержания продуктов эндогенной интоксикации и меньшим эритроцитарным индексом интоксикации, чем у нелеченных животных, что отмечают во все сроки наблюдения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: травматическая болезнь, тиотриазолин, цитолиз, эндогенная интоксикация.

S. M. Prydruha¹, Yu. I. Bondarenko¹, R. M. Borys²

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
UKRAINIAN SCIENTIFIC-RESEARCH ISTITUTE OF TRANSPORT OF MPH OF UKRAINE², ODESA

DYNAMICS OF CYTOLYSIS AND ENDOGENOUS INTOXICATION DATA IN THE PERIOD OF LATE MANIFESTATIONS OF TRAUMATIC DISEASE AND THEIR CORRECTION WITH THIOTRIAZOLINE

Summary

In the period of late manifestations of traumatic disease (from 14 to 28 days of post-traumatic period) in blood serum is observed increased activity of marker enzymes of cytolysis and contents of endogenous intoxication products. Their dynamics has oscillatory character with achieving maximum of its value at 21st day. The use of Thiotriazoline in dose of 9.07 mg·kg⁻¹ from 7 to 14 days of post-traumatic period was accompanied by a decrease of enzyme activity cytolysis, the content of endogenous intoxication products and lower erythrocyte index of intoxication, than in untreated animals, that was observed in all periods of examination.

KEY WORDS: traumatic disease, Thiotriazoline, cytolysis, endogenous intoxication.

Отримано 19.04.13

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

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ГРИПОЗНОМУ СТОМАТИТІ У ДІТЕЙ

Вивчення стану оксидантно-антиоксидантної системи як одного з факторів неспецифічної резистентності організму при грипозному стоматиті показало інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжується зниженням функціональної активності антиоксидантної системи, ступінь вираження якої визначається тривалістю захворювання та активністю патологічного процесу, ускладнює перебіг захворювання і диктує необхідність застосування в комплексній терапії препаратів антиоксидантної дії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, грипозний стоматит.

ВСТУП. Гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) – велика група етіологічно неоднорідних гострозаразних вірусних захворювань, що характеризуються загальними симптомами інфекційного токсикозу з переважним ураженням слизових оболонок дихальних шляхів. В Україні на грип та ГРВІ щороку хворіють близько 11–13 млн чоловік, що складає 95 % усіх зареєстрованих випадків інфекційних захворювань [1, 11, 13]. ГРВІ в структурі дитячих інфекцій посідає перше рангове місце, і, за даними ВООЗ [23], інфекції дихальних шляхів являють собою одну з найголовніших причин захворюваності та смертності в дитячому віці.

Сьогодні імунна система дітей і підлітків України формується під впливом несприятливої інфекційної ситуації, що зумовлено надзвичайно високим ризиком нео- і раннього постнатального інфікування [7, 10, 13]. Згідно з даними ВООЗ, групою ризику є діти до 2-х років, саме в цьому віці грип перебігає особливо тяжко, частіше розвиваються ускладнення [23]. Без сумніву, підвищена сприйнятливості до інфекцій дихальних шляхів має тісний зв'язок з різними функціональними механізмами [1, 7, 19].

Відомо, що особливості реактивності організму дітей на інфекційні агенти розглядають як наслідок недостатньої зрілості організму та пов'язаної з нею низької здатності організму відповідати специфічними реакціями на дії патогенного агента, що відображаються на

© Н. О. Гевкалюк, 2013.

клінічному перебігу та характері патоморфологічних змін органів при інфекційних захворюваннях у перші роки життя дитини [1, 18, 19].

Оскільки провідне значення в патогенезі захворювання мають епітеліотропна, вазопатична і загальнотоксична дії вірусу грипу, то висипання на шкірі та слизових оболонках відображають закономірності інфекційного процесу в цілому. Це проявляється в характері елементів висипань, їх етапності, локалізації, термінах появи, динаміці розвитку в поєднанні з інтоксикаційним синдромом. Внаслідок постійного впливу несприятливих факторів слизової оболонки порожнини рота нерідко слугує місцем розвитку різних патологічних процесів [5, 12, 15]. Грип переважно супроводжується гострим катаральним гінгівітом, який нерідко поєднується з ураженням усієї оболонки рота, призводячи до появи бульозних висипань, геморагічних змін та ін. [9].

З місця первинної локалізації респіраторні віруси та продукти розпаду поверхневого епітелію потрапляють у кров, проявляючи загальнотоксичну дію на центральну нервову та судинну системи [10, 13, 18, 19]. Однак поширення вірусів в організмі може бути призупинене при включенні в процес факторів неспецифічного та специфічного імунітету, таких, як неспецифічні інгібітори, що містяться в крові. Відомо [3, 6, 8, 21], що захисні, протиінфекційні функції у вигляді антитіл та в складі пропердинкомплементарної системи в організмі може виконувати церулоплазмін, який, володіючи фероксидною активністю, бере участь в окис-

ненні заліза, чим забезпечується насиченість залізом трансферину плазми крові людини. Відомо також, що на початкових етапах вільнорадикального окиснення у знешкодженні киснеактивних сполук бере участь каталаза – внутрішньоклітинний залізовмісний фермент. Вказані ферменти утворюють прооксидантно-антиоксидантну буферну систему крові, яка бере участь у підтриманні окиснювального гомеостазу [14–17, 20, 22].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З огляду на вищесказане, ми вивчали стан оксидантно-прооксидантної системи як одного з факторів неспецифічної резистентності організму дітей, хворих на грипозний стоматит. Було проведено клініко-лабораторне дослідження 163 дітей, хворих на грипозний стоматит, віком від 6 міс. до 5 років. Контрольну групу склали 30 дітей відповідних вікових груп. Групи обстежених було розподілено за трьома клініко-морфологічними формами перебігу захворювання: легкою (49 чол.), середньої тяжкості (71 чол.) і тяжкою (53 чол.).

Активність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та їх роль у механізмі виникнення і розвитку грипозного стоматиту оцінювали за вмістом первинних та вторинних продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) і маленового діальдегіду (МДА) в сироватці крові хворих дітей за методом Z. A. Placer у модифікації В. Б. Гаврилова [4]. Для виявлення порушень регуляції фізіологічних систем, зокрема антиоксидантної системи (АОС) організму дітей, визначали вміст каталази, насиченість залізом трансферину сироватки крові в стадії розпалу захворювання [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вивчення ролі ПОЛ у механізмі розвитку грипозного стоматиту за вмістом ДК та МДА в сироватці крові

хворих дітей показало, що на висоті розпалу захворювання відмічають достовірне наростання концентрації ДК, МДА, що є показником інтенсифікації вільнорадикальних процесів в організмі (табл. 1). Як видно з наведеної таблиці, підвищення вмісту первинних та вторинних продуктів вільнорадикального окиснення – ДК та МДА відбувалося паралельно зі збільшенням тяжкості перебігу захворювання. Так, якщо при легкій формі грипозного стоматиту вміст ДК у сироватці крові становив $(1,48 \pm 0,02)$ ум. од./мл, МДА – $(4,14 \pm 0,02)$ нмоль/мл, то при тяжкому перебігу грипозного стоматиту – $(1,63 \pm 0,02)$ ум. од./мл та $(4,87 \pm 0,02)$ нмоль/мл відповідно, що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ при збільшенні тяжкості запального процесу.

Пошкоджувальна дія вільних радикалів і перекисних сполук на клітини тканин регулюється складною багатокомпонентною антиоксидантною системою, створюючи в тканинах “буферну АОС”, яка має певну ємність, а співвідношення проантиоксидантних і антиоксидантних систем визначає так званий “антиоксидантний статус”.

Вивчення антиоксидантної активності сироватки крові за вмістом залізовмісного ферменту каталази показало, що у дітей із грипозним стоматитом легкої форми в середньому по групі цей показник становив $(11,37 \pm 0,41)$ мгН₂О₂/мкл, при середньотяжкому і тяжкому перебігу захворювання – $(8,37 \pm 0,43)$ та $(6,97 \pm 0,31)$ мгН₂О₂/мкл відповідно (табл. 2). Зниження вмісту каталази у сироватці крові хворих дітей із збільшенням тяжкості захворювання вказувало, очевидно, на напруженість та виснаження цієї ланки антиоксидантного захисту у відповідь на пошкоджувальну дію вірусних агентів.

Що стосується насиченості залізом трансферину плазми крові, то вже при легкій формі

Таблиця 1 – Деякі показники стану ПОЛ у сироватці крові здорових та дітей, хворих на грипозний стоматит

Показник	Група обстежених			
	здорові діти	легка форма	середньої тяжкості	тяжка форма
ДК, ум. од./мл	$1,43 \pm 0,07^*$	$1,48 \pm 0,02^*$	$1,56 \pm 0,02^*$	$1,63 \pm 0,02^*$
МДА, нмоль/мл	$3,30 \pm 0,01^*$	$4,14 \pm 0,02^*$	$4,68 \pm 0,02^*$	$4,87 \pm 0,02^*$

Примітка. * – всі відмінності достовірні в межах $p < 0,01$.

Таблиця 2 – Деякі показники стану АОС у сироватці крові здорових та дітей, хворих на грипозний стоматит

Показник	Група обстежених			
	здорові діти	легка форма	середньої тяжкості	тяжка форма
Каталаза, мгН ₂ О ₂ /мкл	$10,43 \pm 0,37^*$	$11,37 \pm 0,41^*$	$8,37 \pm 0,43^*$	$6,97 \pm 0,31^*$
Трансферин, ум. од.	$0,210 \pm 0,01^*$	$0,189 \pm 0,001^*$	$0,171 \pm 0,001^*$	$0,163 \pm 0,001^*$

Примітка. * – достовірність різниці у всіх групах спостереження в межах $p < 0,01$.

грипозного стоматиту вона достовірно знижувалася порівняно зі здоровими дітьми і становила $(0,189 \pm 0,001)$ ум. од. У дітей із середньотяжкою і тяжкою формами грипозного стоматиту в середньому по групах насиченість трансферину залізом достовірно зменшувалася і складала $(0,171 \pm 0,001)$ та $(0,163 \pm 0,001)$ ум. од. відповідно, причому насиченість трансферину залізом в обстежених знижувалася паралельно зі зменшенням кількості еритроцитів до $3,87 \pm 0,08 \times 10^{12}/л$.

Найвищими ці показники були в дітей молодших вікових груп з обтяженим спадковим та медико-соціальним анамнезом. Клінічний перебіг захворювання супроводжувався вираженими симптомами інтоксикації організму, вираженими місцевими проявами в порожнині рота, що відзначались генералізованим катаральним гінгівітом, яскравою гіперемією м'якого піднебіння, вираженим судинним рисунком, великою кількістю висипань, утворенням ерозій і тривалішою їх епітелізацією.

Отже, отримані дані свідчать про достовірно зниження вмісту каталази та насиченості залізом трансферину плазми крові при грипозному стоматиті, яке яскраво виражене при перебігу захворювання в середньотяжкій і тяжкій формах. Динаміка показників вмісту каталази, насиченості трансферину сироватки

крові залізом є чутливим тестом, що може свідчити про відповідність морфологічних і патохімічних змін на слизовій оболонці порожнини рота при грипозному стоматиті.

ВИСНОВКИ. Вивчення стану оксидантно-антиоксидантної системи як одного з факторів неспецифічної резистентності організму при грипозному стоматиті показало, що вже при легкій формі захворювання відбувається зниження функціональної активності АОС, що супроводжується активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів. Інтенсифікація процесів ПОЛ при грипозному стоматиті, очевидно, призводить до підтримання запальних процесів, загибелі клітин та їх лізису, розладів гемодинаміки, ступінь яких визначається тривалістю захворювання та активністю патологічного процесу [14, 16, 20]. Було встановлено, що збільшення тяжкості захворювання супроводжується зниженням функціональної активності АОС організму, що викликає порушення балансу між вільнорадикальною та АО системами на користь активації процесів ПОЛ, що ускладнює перебіг захворювання і процес лікування та реабілітації, тому поряд із противірусними та антимікробними засобами необхідно використовувати антиоксиданти прямої чи непрямой дії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антипкін Ю. Г. Актуальні питання вакцинації дітей / Ю. Г. Антипкін // Перинатологія і педіатрія. – 2008. – № 4. – С. 11–12.
2. Бабенко Г. А. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях / Г. А. Бабенко. – К. : Здоров'я, 1968. – 64 с.
3. Видиборець С. В. Клінічна класифікація залізодефіцитної анемії / С. В. Видиборець, С. М. Гайдюкова // Лік. справа. – 2001. – № 5–6. – С. 19–24.
4. Гаврилов В. Б. Анализ метода определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, М. Н. Мишкорудная, Л. М. Мажуль // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
5. Гемонов В. В. Защитные свойства поверхностных слоев эпителия слизистой оболочки полости рта / В. В. Гемонов, М. А. Могильный // Стоматология. – 2006. – № 3. – С. 4–6.
6. Голотюк В. В. Можливість корекції церулоплазміною ендогенної інтоксикації, що зумовлена обструкцією ободової кишки / В. В. Голотюк // Онкологія. – 2001. – № 4. – С. 286–289.
7. Далечин В. И. Современные препараты, содержащие сверхмалые дозы действующего вещества,

и традиционные гомеопатические средства в профилактике и лечении ОРВИ и гриппа у детей / В. И. Далечин // Педиатрия. – 2009. – № 1. – С. 95–100.

8. Данилова Е. Железодефицитные анемии у детей и их лечение актиферритином / Е. Данилова // Ліки України. – 2000. – № 7–8. – С. 28–29.

9. Изменения слизистой оболочки полости рта при инфекционных заболеваниях : учеб. пособ. / Р. В. Казакова, Н. В. Нейко, Г. Б. Матейко [и др.] ; под ред. Р. В. Казаковой. – Львов : ГалДент, 2009. – 168 с.

10. Коровина Н. А. Острые респираторные вирусные инфекции в амбулаторной практике врача-педиатра / Н. А. Коровина, А. Л. Заплатников. – М. : Медпрактика, 2004. – 114 с.

11. Крамарев С. А. Епідемія грипу в Україні / С. А. Крамарев // Наук.-практ. журн. для педіатрів "З турботою про дитину". – 2010. – № 1. – С. 9.

12. Лемецкая Т. И. Влияние мексидола на мягкие ткани полости рта в условиях стоматологической патологии / Т. И. Лемецкая, Т. В. Сухова, Ю. А. Петрович // Стоматология. – 2008. – № 6. – С. 31–35.

13. Острые респираторные заболевания у детей: лечение и профилактика // Научно-практическая программа Союза педиатров России. – М., 2002.

14. Процеси перекисного окислення ліпідів та стан активності супероксиддисмутази у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень з вторинною імунною недостатністю / І. С. Лемко, М. Л. Габор, Д. В. Решетар [та ін.] // Укр. пульмонолог. журн. – 2006. – № 3. – С. 20–22.

15. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А. П. Шепелев, И. В. Корниенко, А. В. Шестополов, А. Ю. Антипов // Вопр. мед. химии. – 2001. – 46, № 2. – С. 110–116.

16. Роль радикалів у окислюванні ліпопротеїнів плазми крові людини / І. М. Бараненко, С. А. Щекатоліна, І. Бейзигель, А. С. Контущ // Одес. мед. вістник. – 2003. – № 6 (80). – С. 9–12.

17. Соодаева С. К. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе ХОБЛ / С. К. Соодаева // Атмосфера. – 2002. – № 1 (4). – С. 24–25.

18. Таточенко В. К. Препараты для симптоматического лечения острых респираторных вирусных

инфекций у детей / В. К. Таточенко // Вопр. совр. педиатрии. – 2004. – № 3 (4). – С. 112–114.

19. Учайкин В. Ф. Рецидивирующие респираторные инфекции у детей: применение иммуномодуляторов для лечения и профилактики / В. Ф. Учайкин // Педиатрия. – 2009. – 87, № 1. – С. 127–132.

20. Цитооксидантные маркеры воспаления в оценке эффективности дифференцированной терапии тяжелых форм обструктивных заболеваний легких / Ю. И. Гринштейн, В. А. Шестовицкий, В. М. Кулигина // Клини. медицина. – 2003. – № 7. – С. 28–31.

21. Эффективность церулоплазмина в реанимационной онкологической клинике / Н. А. Осипова, Р. И. Якубовская, Н. В. Эделева [и др.] // Лік. справа. – 2001. – № 5–6. – С. 140–145.

22. Helliwel B. Free Radicals in Biology and Medicine / B. Helliwel, J. M. Gutteridge. – Oxford Clarendon Press, 2000.

23. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, The world health report 2008: primary health care now more than ever. – WHO. – 2008. – 152 p.

Н. А. Гевкалюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГРИППОЗНОМ СТОМАТИТЕ У ДЕТЕЙ

Резюме

Изучение состояния оксидантно-антиоксидантной системы как одного из факторов неспецифической резистентности организма при гриппозном стоматите показало интенсификацию процессов перексидного окисления липидов, что сопровождается снижением функциональной активности антиоксидантной системы, степень выраженности которой определяется длительностью заболевания и активностью патологического процесса, осложняет течение заболевания и диктует необходимость применения в комплексной терапии препаратов антиоксидантного действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перексидное окисление липидов, антиоксидантная система, гриппозный стоматит.

N. O. Hevkalyuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

SOME INDICATORS OF OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM AT INFLUENZA STOMATITIS IN CHILDREN

Summary

The study of oxidant-antioxidant system as one of the factors of nonspecific resistance of the organism at influenza stomatitis showed intensification of lipid peroxidation, accompanied by a decrease in the functional activity of the AOS, the severity of which is determined by disease duration and activity of the pathological process, complicates the disease and necessitates the use of complex therapy drugs antioxidant action.

KEY WORDS: lipid peroxidation, antioxidant system, influenza stomatitis.

Отримано 15.03.13

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

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ХВОРИХ ПІСЛЯ ПЕРЕНЕСЕНОГО ІШЕМІЧНОГО ПІВКУЛЬНОГО ІНСУЛЬТУ

На основі обстеження 60 хворих після перенесеного ішемічного півкульного інсульту вивчено зміни вмісту стабільного метаболіту ендотеліального вазорегулюючого агента оксиду азоту – нітриту. Проведено оцінку рівня нітриту у хворих різної статі залежно від віку, тривалості післяінсультного періоду, ступеня порушення мінеральної щільності кісткової тканини. Встановлено залежність вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту після перенесеного ішемічного інсульту від віку, тривалості післяінсультного періоду та наявності остеопенічних змін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемічний півкульний інсульт, оксид азоту, остеопенія.

ВСТУП. Мозкові інсульти (МІ) є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем. Згідно з прогнозами експертів ВООЗ, у найближчі двадцять років кількість інсультів збільшиться до 23 млн, а число смертей внаслідок них зросте, відповідно, до 7,8 млн щороку. Але найчастішим наслідком МІ є не смерть, а інвалідизація. Сьогодні у світі налічують понад 62 млн хворих з наслідками інсульту [2]. Для розуміння патологічних процесів у мозку, що виникають на тлі ішемічного інсульту, важливого значення надають вивченню патофізіології церебральних ішемій.

Хронічні й гострі порушення мозкового кровообігу перебігають на фоні змін ендотелію [1]. Найбільш вірогідною ланкою ендотеліальної дисфункції є система синтезу важливого ендотеліального чинника – оксиду азоту [5, 12], який відіграє роль універсального модулятора різноманітних функцій організму, включаючи регуляцію дихання, підтримку імунного статусу організму, серцево-судинного гомеостазу, активності макрофагів, експресії генів, пластичності нервової тканини, пам'яті, вивільнення нейротрансмітерів [7, 10]. У мозку NO бере участь у процесах міжклітинної комунікації, синаптичної пластичності; регулює функціональну активність багатьох рецепторів, вивільнення нейротрансмітерів і передачу нервового збудження, слугує ретроградним регулятором пресинаптичного виділення глутамату [3, 4].

Доведено, що NO в нормальних фізіологічних умовах має могутню судинорозширювальну дію. Проте, за даними ряду авторів, роль оксиду азоту при церебральній ішемії не така

однозначна [8, 9]. При реперфузії переважає ушкоджувальний ефект NO, що посилює процеси руйнування вмираючих клітин. Ефект NO залежить від його дози. Так, велика кількість оксиду азоту бере участь в реакціях оксидантного стресу та каскадах глутаматної ексайтотоксичності, що лежить в основі церебральної ішемії [13]. З іншого боку, NO може захищати нейрони при токсичній дії глутамату, підвищуючи синтез цГМФ та блокуючи NMDA-рецептори.

Відомими є антиагрегантний та вазодилатуючий ефекти оксиду азоту при церебральній ішемії [6]. Таким чином, проявляється подвійний біологічний ефект NO, властивий багатьом природним модуляторам. На даний момент іде активний пошук методів корекції порушень, викликаних NO і його метаболітами при інсульті, проте повноцінних експериментальних досліджень небагато [11]. Зокрема, є достатня кількість досліджень, в яких з'ясовано ступінь порушення рівня оксиду азоту при хронічній церебральній ішемії, в гострій стадії ішемічного інсульту [1]. Проте в літературних джерелах немає достатньої інформації щодо змін вмісту NO після перенесеного ішемічного інсульту.

Метою даної роботи було оцінити рівень NO за вмістом його стабільних метаболітів у крові хворих після перенесеного ішемічного півкульного інсульту (ІПІ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проводили загальноклінічне, клініко-неврологічне, нейровізуалізаційне (КТ), інструментальне (дослідження стану кісткової тканини за допомогою двофотонного рентгенівського денситометра (Dual energy X-Ray Absorptiometry – DEXA)

© М. С. Мисула, 2013.

фірми Lunar corp. (Madison, WI) – Lunar DPX-A), біохімічне (вміст нітрит-аніонів у сироватці крові визначали високоспецифічним спектрофотометричним методом Гріна за даними кольорової реакції з реактивом Гріса) дослідження.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Визначено вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в 60 хворих після перенесеного ішемічного півкульного інсульту. Контрольну групу склали 20 здорових осіб, репрезентативних за віком і статтю з обстежуваними пацієнтами. ІПІ у правій середній мозковій артерії перенесли 25 (41,7 %), у лівій – 35 (58,3 %) пацієнтів. Серед обстежуваних було 40 (66,7 %) осіб чоловічої статі та 20 (33,3 %) осіб жіночої статі віком від 39 до 75 років (середній вік склав $(55 \pm 2,5)$ року). Найчисельнішою була група хворих середнього віку (45–59 років) – 36 осіб (60 %), хворих молодого віку (до 45 років) було 6 (10 %), похилого (понад 60 років) – 18 (30 %). Вперше церебральний інсульт перенесли 88,3 % хворих, повторно – 11,7 %. За тривалістю післяінсультного періоду хворих, які перенесли ІПІ, поділили на чотири групи (1-ша – до 6 місяців, 2-га – від 6 до 12 місяців, 3-тя – від 1 до 3 роки, 4-та – понад 3 роки). До 1-ї групи ввійшли 19 (31,7 %) пацієнтів, до 2-ї – 14 (23,4 %), до 3-ї – 20 (33,2 %), до 4-ї – 7 (11,7 %). При аналізі отриманих даних щодо метаболічних порушень звертали увагу на стать, вікові групи, тривалість післяінсультного періоду, наявність остеодіфіцитних порушень та супутніх захворювань.

В обстежуваних пацієнтів середній показник стабільного метаболіту оксиду азоту склав $(2,27 \pm 0,31)$ мкмоль/л (при значенні $(3,62 \pm 0,17)$ мкмоль/л у контрольній групі). Враховуючи вміст досліджуваного показника, ми поділили всіх обстежуваних пацієнтів за відхиленням даного значення на три групи. Так, у 31 (51,7 %) хворого цей показник перебував у межах від 1,8 до 2,2 мкмоль/л, у 18 (30 %) пацієнтів – від 2,2 до 2,6 мкмоль/л, а в 11 (18,3 %) – від 2,6 до 3,1 мкмоль/л.

Серед обстежуваних чоловіків та жінок вміст стабільного метаболіту оксиду азоту в них між собою практично не відрізнявся і становив $(2,27 \pm 0,28)$ мкмоль/л проти $(2,29 \pm 0,37)$ мкмоль/л відповідно.

Аналіз концентрації стабільних метаболітів NO у хворих різних вікових груп після перенесеного ішемічного півкульного інсульту показав (рис. 1), що середній показник у 1-й групі (до 45 років) був на рівні $(2,67 \pm 0,38)$ мкмоль/л, що достовірно ($p < 0,01$) нижче за значення норми $(3,62 \pm 0,17)$ мкмоль/л. У хворих 2-ї групи

концентрація стабільних метаболітів достовірно ($p < 0,01$) зменшилась на 37 % порівняно з контрольною групою та на 14,6 % порівняно з особами до 45 років. Проте найнижче значення зафіксовано в пацієнтів, вік яких сягав понад 59 років $(2,14 \pm 0,19)$ мкмоль/л, із достовірною ($p < 0,01$) різницею з усіма попередніми групами та значенням норми. Встановлено кореляційний зворотний зв'язок ($r = -0,46$) між віком хворих і стабільним метаболітом NO.

Отже, можна зробити висновок, що з віком функція ендотелію зазнає пригнічення в пацієнтів, які перенесли ішемічний півкульний інсульт.

Ми провели оцінку рівня стабільного метаболіту NO у хворих з різною тривалістю післяінсультного періоду. Було встановлено (рис. 2), що рівень стабільних метаболітів NO в 1-й досліджуваній групі з терміном після перенесеного ІПІ до 6 місяців зменшився, порівняно з контрольною групою, на 44 % і склав 2,03 мкмоль/л. У 2-й групі (термін після перенесеного ІПІ – 6–12 місяців) досліджуваний показник знизився на 42 % (до 2,11 мкмоль/л) порівняно з контрольною групою. Для 3-ї групи, в якій термін після ІПІ склав від 1 до 3 років,

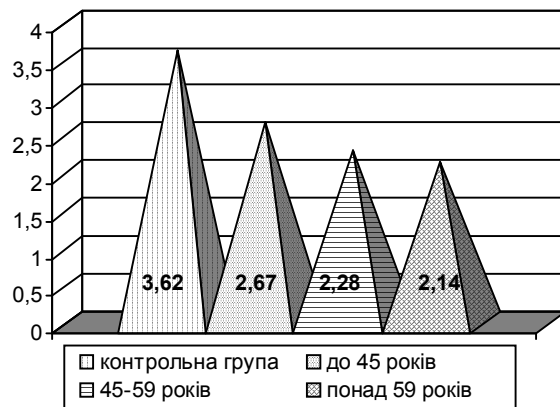


Рис. 1. Концентрація стабільних метаболітів NO у хворих різних вікових груп після перенесеного ішемічного півкульного інсульту.

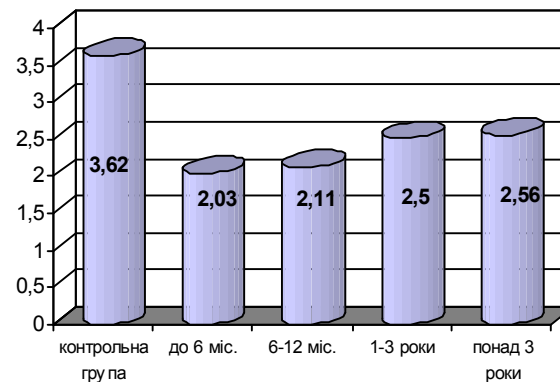


Рис. 2. Концентрація стабільних метаболітів NO у хворих після перенесеного ішемічного півкульного інсульту залежно від тривалості післяінсультного періоду.

було характерне зменшення концентрації стабільних метаболітів NO на 31 %, що становила 2,51 мкмоль/л. У 4-й групі (термін після перенесеного ІПІ – понад 3 роки) даний показник становив 2,56 мкмоль/л, тобто зменшився, порівняно з контрольною групою, на 29 %.

Отже, найнижчий рівень стабільних метаболітів NO зафіксовано у 1-й та 2-й групах, проте без значної різниці між собою. Найвищий рівень даних показників виявлено у групах хворих, які мали ІПІ 1–3 роки тому і більше, але при цьому вони були нижчими порівняно з групою контролю. Рівень стабільних метаболітів NO був достовірно ($p < 0,01$) меншим, ніж у групі контролю та хворих 1-ї групи.

Встановлено сильний ($r = 0,85$) прямий кореляційний зв'язок між вмістом стабільного метаболіту NO та тривалістю післяінсультного періоду.

Таким чином, це дозволяє припустити, що більш ранні періоди після перенесеного ІПІ проходять на фоні більшого зниження маркерів метаболізму NO.

Встановлено, що у хворих з наявними супутніми захворюваннями (цукровий діабет, жовчнокам'яна хвороба, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, хронічний гепатит, хронічний панкреатит, хронічний пієлонефрит, ревматична хвороба серця) концентрація стабільних метаболітів NO в сироватці крові була вищою лише на 5 %: ($2,36 \pm 0,39$) мкмоль/л проти ($2,23 \pm 0,25$) мкмоль/л ($p < 0,01$).

Проаналізовано вміст стабільного метаболіту NO в сироватці крові хворих залежно від наявності або відсутності остеопорозу змін (рис. 3). Встановлено достовірне зниження ($p < 0,01$) даних показників у групі хворих з явищами остеопенії різного ступеня та остеопорозу. Так, у хворих з остеопенією рівень стабільного метаболіту NO перебував у межах від 1,8 до 2,2 мкмоль/л у 8 (44,4 %) пацієнтів, коливався від 2,2 до 2,6 мкмоль/л – у 7 (38,9 %), від 2,6 до 3,1 мкмоль/л – у 3 (16,7 %), тоді як у пацієнтів з остеопорозом даний показник перебував у межах від 1,8 до 2,2 мкмоль/л у 8 (66,7 %) хворих, коливався від 2,2 до 2,6 мкмоль/л – у 3 (25 %), від 2,6 до 3,1 мкмоль/л – у 1 (8,3 %). У групі осіб без дефіциту кісткової тканини вміст стабільних метаболітів NO був

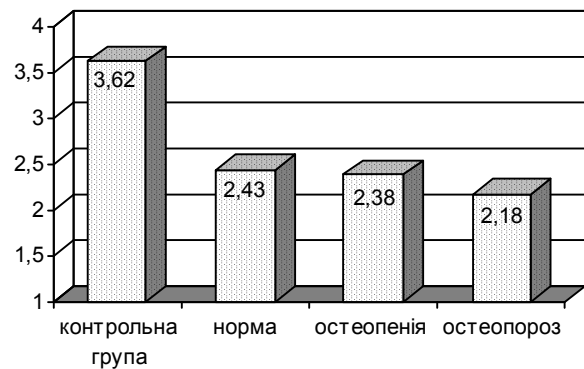


Рис. 3. Концентрація стабільних метаболітів NO при наявності або відсутності остеопорозу.

найвищим, проте нижчим порівняно з групою контролю ($2,43 \pm 0,21$) мкмоль/л проти ($3,62 \pm 0,17$) мкмоль/л). У даній групі показник від 1,8 до 2,2 мкмоль/л відзначали в 1 (25 %) хворого, від 2,2 до 2,6 мкмоль/л – у 2 (50 %), від 2,6 до 3,1 мкмоль/л – в 1 (25 %).

Також встановлено, що при вмісті стабільного метаболіту NO від 1,8 до 2,2 мкмоль/л остеопенію спостерігали у 8 (47,1 %) пацієнтів, остеопороз – також у 8 (47,1 %), нормальні показники мінеральної щільності кісткової тканини – в 1 (5,8 %) особи. У групі хворих з показником від 2,2 до 2,6 мкмоль/л остеопенію відзначали у 7 (58,3 %) пацієнтів, остеопороз – у 3 (25 %), нормальні показники мінеральної щільності кісткової тканини – у 2 (16,7 %) осіб. При вмісті стабільного метаболіту оксиду азоту від 2,6 до 3,1 мкмоль/л остеопенію різного ступеня вираження виявлено у 3 (60 %) пацієнтів, остеопороз – в 1 (20 %), мінеральну щільність кісткової тканини у межах норми – в 1 (20 %) хворого.

ВИСНОВКИ. У ході дослідження встановлено достовірне ($p < 0,01$) зниження концентрації маркерів метаболізму NO у хворих, які перенесли ішемічний півкульний інсульт. Відзначено залежність даного показника від віку пацієнтів (а саме збільшення його з віком), що може вказувати на послаблення синтетичних можливостей ендотелію і підвищену інактивацію оксиду азоту. Доведено, що вміст стабільного метаболіту оксиду азоту залежить від тривалості післяінсультного періоду ($r = 0,85$) та рівня остеопорозу ($r = 0,2$ ($p < 0,05$)).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волошин П. В. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии / П. В. Волошин, В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя. – Харьков, 2006. – 92 с.

2. Зозуля Ю. П. Проблеми судинно-церебральної патології та шляхи їх вирішення / Ю. П. Зозуля, Т. С. Міщенко // Журн. Акад. мед. наук України. – 2011. – 17, № 1. – С. 19–25.

3. Кульматицький А. Оксид азоту та перекисне окиснення ліпідів у гострому періоді повторного ішемічного інсульту / А. Кульматицький, В. Шевага, М. Білобрин // Клініч. та експерим. патологія. – 2011. – **10**, № 4 (38). – С. 49–56.

4. Куровська В. О. Роль оксиду азоту в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку / В. О. Куровська, В. П. Пішак, С. С. Ткачук // Бук. мед. вісник. – 2008. – **12**, № 4. – С. 143–149.

5. Малахов В. А. Система оксиду азоту при церебральному ішемічному інсульті: некоторые патогенетические аспекты / В. А. Малахов, А. Н. Загородняя // Укр. мед. часопис. – 2007. – № 2 (58). – С. 97–100.

6. Мартюшев-Поклад А. В. Стресс-лимитирующие системы и нейрональная пластичность в патогенезе психических и неврологических расстройств / А. В. Мартюшев-Поклад, Т. А. Воронина // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2003. – **2**, № 4. – С. 15–25.

7. Мацко М. А. Співвідношення деяких медіаторів стресреалізуючих і стреслімітуючих систем в

гострому періоді ішемічного інсульту // Патол. фізіол. і експерим. тер. – 2004. – № 4. – С. 14–16.

8. Нечипуренко Н. И. Роль оксида азота при ишемии головного мозга / Н. И. Нечипуренко // Мед. новости. – 2004. – № 1. – С. 7–10.

9. Покровский В. И. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства / В. И. Покровский, Н. А. Виноградов // Терапевт. арх. – 2005. – № 1. – С. 82–88.

10. Сомова Л. М. Оксид азоту як медіатор запалення / Л. М. Сомова, Н. Г. Плехова // Вісник ДВО АН. – 2006. – № 6. – С. 7–80.

11. Lind L. Endothelium-dependent vasodilation in hypertension – A review / L. Lind, S. Grantsam, J. Millgard // Blood Pressure. – 2000. – № 9. – P. 4–15.

12. Moncada S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – № 43. – P. 109–142.

13. Sapolsky R. M. Glucocorticoids stress and their adverse neurological effects: Relevance to aging / R. M. Sapolsky // Experimental Gerontology. – 1999. – № 34. – P. 721–732.

М. С. Мысула

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОЛУШАРНОГО ИНСУЛЬТА

Резюме

На основании обследования 60 больных после перенесенного ишемического полушарного инсульта изучено изменения содержания стабильного метаболита эндотелиального вазорегулирующего агента оксида азота – нитрита. Проведена оценка уровня нитрита у больных разного пола в зависимости от возраста, длительности послеинсультного периода, степени нарушения минеральной плотности костной ткани. Установлена зависимость содержания стабильного метаболита оксида азота после перенесенного ишемического инсульта от возраста, длительности послеинсультного периода и наличия остеопорозных изменений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемический полушарный инсульт, оксид азота, остеопения.

M. S. Mysula

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

METABOLIC PROCESSES PECULIARITIES IN PATIENTS WHO SUFFERED FROM HEMISPHERE ISCHEMIC STROKE

Summary

The content changes of stable metabolite of endothelial vascular regulatory agent of nitrogen oxide – nitrite were studied on the basis of examination of 60 patients who suffered from hemisphere ischemic stroke. The level of nitrite in patients of different sex depending on age, duration of post-stroke treatment period, the degree of bone mineral density changes was analyzed. We stated the dependence of stable metabolite contents of nitrogen oxide after suffering from ischemic stroke to the duration of post-stroke treatment period and osteoporotic changes.

KEY WORDS: hemisphere ischemic stroke, nitrogen oxide, osteopenia.

Отримано 16.04.13

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

ВПЛИВ L-КАРНІТИНУ НА ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ТЛІ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ

Дослідження проведено на білих щурах-самцях масою 220–250 г, в яких моделювали харчову депривацію та гостре отруєння парацетамолом. З метою корекції виявлених порушень використано L-карнітин. Встановлено односпрямовані зміни молекул середньої маси та еритроцитарного індексу інтоксикації у плазмі крові, що проявлялися позитивним впливом застосованого середника з найкращим ефектом на 7-му добу. Незважаючи на позитивний корегувальний ефект L-карнітину, рівень ендогенної інтоксикації залишався статистично вищим від контрольних значень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостре отруєння парацетамолом, харчова депривація, ендогенна інтоксикація, L-карнітин.

ВСТУП. Передозування парацетамолу (ПА) являє собою одне з найпоширеніших отруєнь фармацевтичними середниками у всьому світі. Його вважають безпечним у терапевтичних дозах, але при передозуванні ПА розвивається геморагічний центродольовий некроз гепатоцитів, що може призвести до летальних наслідків [8, 10]. Незважаючи на значні зусилля щодо вивчення механізму парацетамоліндукованого ураження печінки та шляхів його корекції, дуже часто не враховують стану організму людини та захворювань, на тлі яких розвивається токсичне ураження печінки.

За глибиною фізіологічних зрушень, які можуть викликатись різними екстремальними чинниками, тривале аліментарне голодування є одним із найбільш значимих. Харчова депривація характеризується поєднанням гормональних і метаболічних змін, при цьому активуються симпатoadреналова і гіпофізарно-наднирковозалозна системи, знижується активність тиреоїдної та гонадної систем, метаболізм переключається з вуглеводного на жировий тип обміну при загальному гальмуванні процесів енергопродукції [2, 9].

Сучасні напрямки лікування токсичного ПА ураження зводяться, головним чином, до таких терапевтичних заходів: впливу фармакологічними препаратами на біохімічні процеси та ультраструктурну організацію в гепатоцитах;

© М. В. Гембаровський, 2013.

застосування різноманітних методів очищення внутрішнього середовища організму людини – гемодіалізу, перитонеального діалізу, замінного переливання крові або фізико-хімічних сорбційних методів; тимчасового заміщення функцій гепатоцитів, уражених патологічним процесом [6]. Проте, незважаючи на численні дослідження вітчизняних і зарубіжних спеціалістів, проблема біохімічної корекції екзотоксикозів залишається все ще не вирішеною [5]. Перспективним щодо гепатопротекторного ефекту може бути препарат L-3-окси-4-триметил-амінобутирату – L-карнітин [1]. Це низькомолекулярна органічна сполука, яка відіграє роль переносника ацильних груп у симпорті з протонами через внутрішню мітохондріальну мембрану в матрикс, де здійснюється їх β-окиснення.

З огляду на вищенаведене, метою даної роботи було вивчити вплив L-карнітину на характер змін показників ендогенної інтоксикації в щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі харчової депривації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для вивчення ендогенної інтоксикації за умов токсичного ураження ПА на тлі харчової депривації та їх корекції L-карнітином використовували білих безпородних щурів-самців, яких утримували на стандартному раціоні віварію при вільному доступі до води. Токсичне ураження ПА викли-

кали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення тваринам суспензії ПА у 2 % розчині крохмалю в дозі 1250 мг/кг маси тіла (1/2 LD₅₀). До кожної дослідної групи входило 6 тварин. Харчову депривацію викликали шляхом утримування щурів в умовах повного харчового голодування при достатньому доступі до води. З метою корекції викликаних порушень перорально вводили 20 % розчин L-карнітину, попередньо розведений у 10 разів ізотонічним розчином натрію хлориду, щодоби в дозі 50 мг/кг у всі дні експерименту [7].

Експеримент проводили на 30 тваринах масою 220–250 г, яких поділили на такі групи: 1-ша – інтактні щури; 2-га – тварини, уражені ПА на тлі харчової депривації; 3-тя – тварини, уражені ПА на тлі харчової депривації, яким проводили корекцію L-карнітином.

Через 3 і 7 днів здійснювали 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. Ступінь вираження ендogenous токсичного синдрому оцінювали за вмістом у плазмі крові молекул середньої маси (MCM) при довжині хвилі 254 і 280 нм та еритроцитарним індексом інтоксикації (EII) [3, 4].

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати наших досліджень показали, що поєднаний вплив парацетамолу та харчової депривації на 3-тю добу експерименту проявляв більшу

токсичну дію порівняно з окремим введенням ПА чи моделюванням аліментарного голодування, що характеризувалося зростанням показників ендogenous інтоксикації, яка поглиблювалася зі збільшенням тривалості харчової депривації.

Встановлено, що повне голодування є фактором, який потенціює токсичність ПА. Тому з метою корекції виявлених порушень ми використали L-карнітин. З наведених даних видно, що введення L-карнітину зумовило зниження рівня ендogenous інтоксикації у плазмі крові уражених щурів. Так, при введенні ураженим тваринам L-карнітину спостерігали зменшення рівня MCM/254 (продукти катаболізму білків, пептидів, що містять ланцюгові амінокислоти) у крові через 3 доби експерименту на 21,8 %, MCM/280 (складові розпаду білків, що містять ароматичні амінокислоти, нуклеїнових кислот – пурини, піримідини, рибозид сечової кислоти) – на 19,7 %, EII – на 22,2 % порівняно з результатами 2-ї групи піддослідних тварин (p<0,001). Найкращий ефект при застосуванні даного середника для корекції спостерігали на 7-му добу, коли рівень MCM/254 зменшувався на 26,2 %, MCM/280 – на 20,8 %, EII – на 26,6 % порівняно з результатами 2-ї групи піддослідних тварин (p<0,001). Незважаючи на позитивний корегувальний ефект L-карнітину в крові отруєних ПА, рівень ендogenous інтоксикації залишався статистично вищим від контрольних значень, зокрема на 3-тю добу показник MCM/254 був більшим у 2,2 раза, MCM/280 – в 1,7 раза, EII – в 1,7 раза, через 7 днів – у 2,5 раза, 1,8 раза і 2,0 рази відповідно (табл.).

При зіставленні отриманих результатів щодо показників ендogenous інтоксикації за умови дії L-карнітину в плазмі крові щурів із

Таблиця – Показники вмісту MCM (ум. од.) та EII (%) у плазмі крові щурів при гострому парацетамольному ураженні на тлі харчової депривації та за корекції L-карнітином (M±m, n=6)

Показник	Група тварин				
	інтактні, 1-ша група	уражені ПА на тлі харчової депривації, 2-га група		корекція L-карнітином, 3-тя група	
		3-тя доба	7-ма доба	3-тя доба	7-ма доба
MCM/254, ум. од.	0,372±0,008	0,796±0,005 p ₁ <0,001	0,894±0,008 p ₁ <0,001	0,623±0,007 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,660±0,010 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
MCM/280, ум. од.	0,199±0,003	0,546±0,005 p ₁ <0,001	0,618±0,007 p ₁ <0,001	0,438±0,006 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,490±0,005 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
EII, %	43,42±1,24	96,52±0,60 p ₁ <0,001	116,52±3,42 p ₁ <0,001	75,13±1,29 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	85,47±1,20 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки:

- 1) p₁ – відмінності достовірні порівняно з інтактними тваринами;
- 2) p₂ – відмінності достовірні між 2-ю та 3-ю групами уражених тварин.

гострим ПА ураженням на тлі харчової депривації встановлено односпрямовані їх зміни, які проявлялися позитивним впливом застосованого середника, що характеризувалося статистично значимим зменшенням як ланцюгових, так і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів МСМ та сумарного токсичного впливу на мембрани еритроцитів, з найкращим ефектом на 7-му добу (рис.). Причому, чим триваліший час від початку введення тваринам L-карнітину, тим показники ендогенної інтоксикації зазнавали більших змін у напрямку нормалізації.

Під час гострого ПА ураження на тлі харчової депривації зсув метаболізму в бік катаболічних реакцій у крові зумовлював появу великої кількості проміжних та кінцевих продуктів обміну, біологічно активних речовин, продуктів деструкції органів і тканин, продуктів активного протеолізу, гідроперекисів ліпідів і білків, що призводило до посилення ендогенного токсикозу, що підтвержували наведені маркери ендогенної інтоксикації. За умови корекції L-карнітином відбувалося поступове відновлення детоксикаційної функції гепатоцитів уражених щурів під впливом застосованого лікувального середника, що сприяло збільшенню окиснення токсичних ендо- та екзогенних продуктів. Враховуючи те, що зростання вмісту МСМ віддзеркалює посилення катаболічних процесів, то зменшення їх вмісту під впливом L-карнітину можна оцінювати як прояв нормалізації метаболічних процесів,

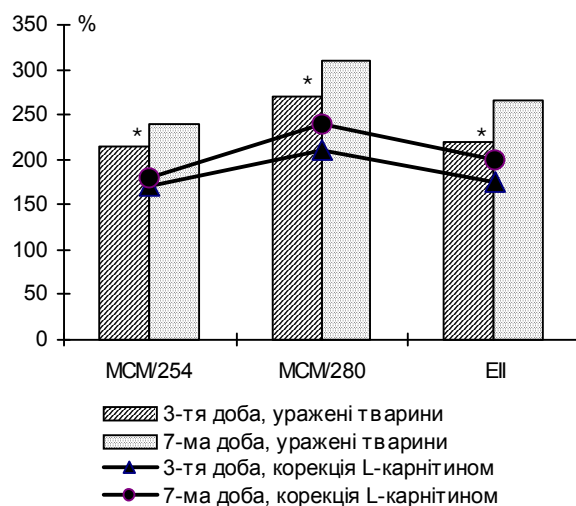


Рис. Порівняльна характеристика показників ендогенної інтоксикації (%) у щурів з гострим парацетамольним ураженням на тлі харчової депривації та за умови корекції L-карнітином (* – відмінності достовірні між 2-ю і 3-ю групами уражених тварин).

зокрема як доказ зрівноваження між катаболізмом та анаболізмом.

ВИСНОВОК. L-карнітин позитивно впливає на підвищені показники ендогенної інтоксикації за умови токсичного ураження парацетамолом на тлі харчової депривації, що проявляється зменшенням ланцюгових і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів молекул середньої маси та сумарного токсичного впливу на мембрани еритроцитів з найкращим корегульним ефектом на 7-му добу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ацетил-L-карнітин: биологические свойства и клиническое применение (обзор) / Е. В. Ефимов, Т. А. Гуськова, В. М. Копелевич, В. И. Гунар // Хим.-фарм. журн. – 2002. – **36**, № 3. – С. 3–7.
2. Влияние пищевой депривации на углеводный метаболизм в органах и тканях крыс / Т. А. Косматых, М. Ю. Шевченко, В. Н. Попов [и др.] // Вестник ВГУ. Серия "Химия, биология". – 2001. – № 2. – С. 118–120.
3. 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.
4. Корякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических наруше-

ний (обзор литературы) / Е. В. Корякина, С. В. Белова // Клини. лаб. диагн. – 2004. – № 3. – С. 3–8.

5. Криницька І. Я. Вплив комбінації карнітину хлориду та ентеросорбенту "Альгігель" на показники вільнорадикального окиснення білків та ліпідів у щурів за умови гострого алкогольного отруєння на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю / І. Я. Криницька, М. В. Чорна // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2010. – Вип. 39. – С. 16–20.

6. Посохова К. А. Вплив тіотриазоліну й ацетилцистеїну на стан печінки при її ураженні парацетамолом / К. А. Посохова, А. С. Вольська, І. А. Демчук // Запороз. мед. журн. – 2010. – **12**, № 5. – С. 195–197.

7. Сидорьяк Н. Г. Влияние L-карнитина на перекисное окисление липидов и липидный состав сыво-

ротки крови при гемической гипоксии / Н. Г. Сидорьяк, Д. В. Волгин // Укр. биохим. журн. – 1996. – **68**, № 5. – С. 54–58.

8. 2001 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System / T. L. Litovitz, W. Klein-Schwartz, G. C. Rodgers [et al.] // Am. J. Emerg. Med. – 2002. – **20**. – P. 391–452.

9. 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.

10. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? / J. S. Gujral, T. R. Knight, A. Farhood [et al.] // Toxicol. Sci. – 2002. – **67**. – P. 322–328.

Н. В. Гембаровский

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Резюме

Исследование проведено на белых крысах-самцах массой 220–250 г, у которых моделировали пищевую депривацию и острое отравление парацетамолом. С целью коррекции выявленных нарушений использован L-карнитин. Установлено односторонние изменения молекул средней массы и эритроцитарного индекса интоксикации в плазме крови, что проявлялись положительным влиянием примененного препарата с наилучшим эффектом на 7-е сутки. Несмотря на положительный корректирующий эффект L-карнитина, уровень эндогенной интоксикации оставался статистически выше контрольных значений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острое отравление парацетамолом, пищевая депривация, эндогенная интоксикация, L-карнитин.

M. V. Hembarovskyi

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF L-CARNITINE ON ENDOGENOUS INTOXICATION INDICES IN CASE OF EXPERIMENTAL ACUTE PARACETAMOL INJURY ON THE BACKGROUND OF FOOD DEPRIVATION

Summary

Investigation was made on white male rats weighting 220–250 g using the models of food deprivation and acute paracetamol poisoning. L-carnitine was used for the correction of pathological changes. The same changes of middle mass molecules and intoxication index in plasma were found which manifested by the positive impact of carnitine chloride with the best effect on the 7th day. Despite the positive effect of L-carnitine in the blood the level of endogenous intoxication were remained statistically higher than control values.

KEY WORDS: acute paracetamol injury, food deprivation, endogenous intoxication, L-carnitine.

Отримано 04.04.13

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

**ЗМІНИ ВМІСТУ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ
В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ**

У 80 хворих у гострому періоді ішемічного інсульту (II) визначено вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (NO). Встановлено, що у 47,5–55,0 % хворих рівень NO підвищується, в 36,5–40,0 % – знижується та у 6,2–12,5 % – достовірно не відрізняється від значень контрольної групи. Вміст NO_3^- та загального NO_2^- достовірно частіше зростає у хворих віком від 45 до 60 років порівняно з пацієнтами, старшими 60 років. Достовірно вищі показники стабільних метаболітів NO у гострому періоді II виявлено при атеротромботичному та кардіоемболічному II відносно хворих з гемодинамічним і лакунарним II.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: підтипи ішемічного інсульту, гострий період інсульту, оксид азоту.

ВСТУП. Оксид азоту (NO) було визначено як одну з найбільш універсальних і унікальних молекул людини. Він відіграє важливу роль у контролі мозкового кровообігу, тромбоутворенні й модулює активність нейронів. NO є посередником у багатьох фізіологічних процесах, зокрема в підтримці судинного тонуусу і запалення. Крім цих фізіологічних функцій, NO також бере участь у патофізіології різних розладів, зокрема тих, в яких регуляція кровотоку і запалення відіграє ключову роль [12].

NO утворюється в ендотеліальних клітинах, нейронах, глії і макрофагах під дією 3 різних ізоформ ферменту синтази оксиду азоту (NOS). Церебральна ішемія ініціює всі ізоформи NOS. Високі концентрації NO, генеровані кальцієзалежною активацією нейрональної конституційної NOS та індукційної форми NOS у макрофагах та інших типах клітин, беруть участь у запальних і цитотоксичних реакціях, які призводять до смерті нейронів [1]. На противагу цьому, NO, генерований активацією ендотеліальної конституційної NOS, можливо, має захисний ефект, що знижує здатність тромбоцитів до агрегації, запобігає адгезії лейкоцитів до ендотелію, підвищує судинну дилатацію і церебральний кровотік. Роль NO в пошкодженні мозкової речовини при ішемічному інсульті (II) є комплексною [11]. Надмірна кількість сполук NO може бути цитотоксичною через пряме пригнічення ферментів, що каталізують життєво важливі клітинні функції, які беруть

участь в енергетичному метаболізмі та синтезі ДНК. Шкідливі ефекти NO можуть бути пов'язані з його відомою спорідненістю до заліза та тіолових груп [9]. NO також сприяє вивільненню вільних радикалів через утворення пероксинітританіона, який потім формує цитотоксичні гідроксильні радикали і супероксиданіон [10].

Окрім конституційних та індукційних форм NOS, виділено особливу ізоформу – мітохондріальну (mNOS), яка розміщена на внутрішній мембрані мітохондрії [8]. Результати досліджень підтвердили існування mNOS як незалежної форми NOS. mNOS постійно контролює мітохондріальне дихання [4], її вважають ключовим ферментом у реперфузійному пошкодженні [7], вона може бути пов'язана з апоптозом після інсульту.

Останні дослідження також показують, що нітрозативний стрес може викликати ексайтотоксичність через неправильне згорання білка, агрегацію та мітохондріальну фрагментацію [6]. S-нітрозолування, ковалентна реакція NO зі специфічними тіоловими групами сприяє NO-індукованому згоранню білків і їх агрегації, що компрометує динаміку мітохондріального процесу поділу–зчеплення та призводить до нейротоксичності [6].

Разом із тим, NO визначено як ендотелій-розслаблюючий фактор, який відіграє важливу роль у підтримці та регуляції судинного тонуусу і відповідного периферичного судинного опору [2].

© Н. Р. Сохор, С. І. Шкробот, О. Ю. Бударна, 2013.

Ця подвійна роль NO в церебральній ішемії, нейротоксична і нейропротекторна, викликає значні наукові дискусії та суперечливі результати експериментальних моделей інсульту.

Тому метою даного дослідження було вивчити вміст NO у гострому періоді II залежно від віку хворих та підтипу II.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Спостерігали 80 хворих з II, які перебували на стаціонарному лікуванні в інсультному відділенні Тернопільської обласної комунальної клінічної психоневрологічної лікарні. Вік пацієнтів склав від 45 до 75 років (у середньому – $(58,1 \pm 7,2)$ року). Відповідно до віку хворих поділили на дві групи: до 1-ї ввійшло 42 (52,5 %) пацієнти віком 45–60 років, до 2-ї – 38 (47,53 %) хворих, старших 60 років, серед них чоловіків було 43 (53,8 %), жінок – 37 (46,2 %). Обстежували тих пацієнтів, яких приймали в стаціонар у перші 24 год від початку мозкового інфаркту. Критеріями виключення були: наявність повторних II, порушення свідомості, глибше за сопор (за шкалою Глазго менше 9–10 балів), та пацієнти з поліорганною недостатністю (серцево-легеневою декомпенсацією, хронічною нирковою патологією). Діагноз мозкового інфаркту верифікували за допомогою спіральної комп'ютерної томографії (Astelon 4, Toshiba). Тяжкість стану хворих та ступінь неврологічного дефіциту оцінювали на 1-шу добу: за наявності II в каротидному басейні – за шкалою NIHSS, вертебробазиллярного – за шкалою Hoffenberth B. і співавт. (1990).

Вміст стабільних метаболітів NO визначали у сироватці крові на 1-шу добу II методом імуноферментного аналізу за допомогою стандартних наборів виробництва компанії "R&D System". Середня тривалість життя оксиду азоту в організмі людини становить декілька секунд. NO, який не брав участі в хімічних реакціях, швидко окиснюється до неактивних сполук – нітритів і нітратів. Це стабільні метаболіти NO, які слугують методом оцінки інтенсивності його синтезу [5]. Даний набір Total NO/Nitrite/Nitrate Assay має дві аналітичні опції. Перша полягає у визначенні ендogenous нітриту (NO_2^-). Під час другої нітрат перетворюється в нітрит з використанням нітрат-редуктази і проводиться вимірювання загального нітриту. Для отримання

концентрації нітрату (NO_3^-) від значення загального NO_2^- віднімали концентрацію ендogenous NO_2^- .

Контрольну групу (КГ) склали 20 практично здорових осіб, за віком і статтю репрезентативних щодо хворих основної групи.

Статистичну обробку отриманих результатів виконано за допомогою пакета статистичного аналізу "Statistica 8". Визначали такі показники, як: середнє значення (M), стандартна помилка (m).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Гемодинамічний ішемічний інсульт (ГДІ) діагностовано у 24 (30,0 %) обстежуваних хворих, атеротромботичний (АТІ) – у 17 (21,3 %), кардіоемболічний (КЕІ) – у 21 (26,2 %) та лакунарний (ЛІ) – у 18 (22,3 %). Ішемічний інсульт у каротидному басейні спостерігали в 62 (77,5 %) пацієнтів, у вертебробазиллярному – в 18 (22,5 %). Середній вік хворих з ГДІ складав $(60,3 \pm 3,2)$ року, з АТІ – $(66,5 \pm 2,2)$ року, з КЕІ – $(63,8 \pm 3,7)$ року та з ЛІ – $(61,1 \pm 3,8)$ року.

Відповідно до тяжкості стану і ступеня неврологічного дефіциту легкий II було відмічено у 28 (35,0 %) хворих, середнього ступеня тяжкості – у 37 (46,25 %), тяжкий – у 15 (18,75 %). Розподіл хворих з II у різних судинних басейнах відображено в таблиці 1.

Легкий II діагностовано у 10 (41,7 %) пацієнтів з ГДІ, одного (5,9 %) хворого з АТІ, 3 (14,3 %) пацієнтів з КЕІ та 14 (77,8 %) пацієнтів з ЛІ. Інсульт середньої тяжкості відзначено в 11 (45,8 %) пацієнтів з ГДІ, 9 (52,9 %) хворих з АТІ, 13 (61,9 %) пацієнтів з КЕІ та 4 (22,2 %) пацієнтів з ЛІ. Тяжкий ступінь неврологічного дефіциту виявлено у 3 (12,5 %) хворих з ГДІ, 7 (41,2 %) хворих з АТІ та 5 (43,8 %) хворих з КЕІ. У пацієнтів з ГДІ середній бал за шкалою NIHSS становив $(7,4 \pm 0,6)$ бала, АТІ – $(11,9 \pm 0,9)$ бала, КЕІ – $(9,1 \pm 1,2)$ бала та ЛІ – $(5,5 \pm 0,7)$ бала.

При аналізі вмісту стабільних метаболітів NO виявлено різноспрямовані зміни нітратів та нітритів у хворих з II (табл. 2). Відповідно до цих змін було виділено 3 групи хворих: з підвищеним вмістом стабільних сполук NO, зі зниженим їх вмістом та пацієнти, в яких рівень цих показників достовірно не відрізнявся від значень КГ.

Таблиця 1 – Розподіл хворих за ступенем тяжкості та судинним басейном

Ступінь тяжкості II	Судинний басейн			
	каротидний		вертебробазиллярний	
	абс.	%	абс.	%
Легкий	21	33,9	7	38,9
Середньої тяжкості	29	46,8	8	44,4
Тяжкий	12	19,3	3	16,7

Таблиця 2 – Вміст стабільних метаболітів NO у гострому періоді II (M±m)

Показник	Контрольна група	Хворі з II з підвищеним вмістом метаболітів NO	Хворі з II зі зниженим вмістом метаболітів NO
NO ₃ ⁻	61,3±5,1	140,9±6,8*	39,6±5,0*
Ендогенний NO ₂ ⁻	37,8±5,9	61,1±6,1*	25,5±4,1*
Загальний NO ₂ ⁻	99,1±8,4	198,3±10,5*	57,0±5,8*

Примітка. * – показники достовірно відрізняються від значень КГ (p<0,05).

Було встановлено, що у 44 (55,0 %) пацієнтів рівень NO₃⁻ достовірно (p<0,05) зростає, у 30 (37,5 %) – достовірно (p<0,05) знижується та ще в 6 (7,5 %) хворих – достовірно не відрізняється від КГ. Вміст ендогенного NO₂⁻ у 38 (47,5 %) хворих був достовірно (p<0,05) підвищеним, у 32 (40,0 %) – достовірно нижчим та у 10 (12,5 %) – близьким до значень КГ. Загальний NO₂⁻ у 46 (57,5 %) пацієнтів достовірно перевищував, у 29 (36,3 %) – був достовірно (p<0,05) нижчим та у 5 (6,2 %) – наближався до рівня КГ.

У хворих 45–60 років у середньому по групі відмічали достовірно (p<0,05) вищі значення NO₃⁻ і загального NO₂⁻ та була відсутня достовірна різниця між вмістом ендогенного NO₂⁻ порівняно з пацієнтами, старшими 60 років (табл. 3). Виявлено, що у хворих 1-ї групи вміст NO₃⁻ збільшувався частіше, ніж у пацієнтів 2-ї групи. Так, рівень нітратів був достовірно (p<0,05) вищим відносно КГ у 28 (66,7 %) із 42 хворих 45–60 років. В 11 (26,2 %) пацієнтів цього віку він знижувався та ще у 3 (7,1 %) хворих був близьким до значень КГ. У хворих 2-ї групи частіше відмічали зменшення вмісту NO₃⁻ – 20 (52,6 %), у 15 (39,5 %) – зростання та у 3 (7,9 %) – рівень NO₃⁻ значно не відрізнявся від показників КГ. Ендогенний NO₂⁻ у 24 (57,1 %) хворих 1-ї групи підвищувався, в 15 (35,7 %) – знижувався та у 3 (7,1 %) – був близьким до значень КГ. Відносно осіб 2-ї групи відмічено, що в 19 (50,0 %) пацієнтів

ендогенний нітрит був зменшеним, у 14 (36,8 %) – зростає, у 5 (13,2 %) – суттєво не змінювався. Загальний NO₂⁻ у 28 (66,7 %) хворих 1-ї групи був значно підвищеним, у 13 (31,0 %) – зниженим та в одного (2,4 %) – близьким до показників КГ. У 20 (52,6 %) хворих, старших 60 років, вміст загального NO₂⁻ зростає, у 14 (36,8 %) – зменшувався та ще у 4 (7,9 %) – достовірно не відрізнявся від КГ. Таким чином, у пацієнтів 45–60 років у гострому періоді II, порівняно з пацієнтами похилого віку, частіше збільшувався вміст NO₃⁻ та загального NO₂⁻. У відповідь на зростання активності NOS закономірно підвищувався вміст нітритів. Це може свідчити як про більш виражені цитотоксичні ефекти NO, так і про суттєвішу вазорелаксуючу дію оксиду азоту в цієї групи хворих. У хворих, старших 60 років, достовірно (p<0,05) частіше рівень NO₃⁻ та загального NO₂⁻ знижувався порівняно з пацієнтами середнього віку.

Аналіз вмісту стабільних метаболітів NO у пацієнтів з різними патогенетичними варіантами II показав, що у хворих з АТІ діагностовано достовірно (p<0,05) вищий рівень NO₃⁻ в сироватці крові порівняно з КГ і відносно пацієнтів з іншими підтипами мозкового інфаркту (табл. 4). Так, саме в цієї категорії хворих виявлено достовірне збільшення вмісту ендогенного та загального NO₂⁻ – (81,2±5,8) та (234,2±11,6) мкмоль/л відповідно. Достовірно (p<0,05) вищі значення нітрату та за-

Таблиця 3 – Вміст стабільних метаболітів у хворих з II різного віку (M±m)

Показник	Вік хворих	
	1-ша група (45–60 років) (n=42)	2-га група (старші 60 років) (n=38)
NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	104,9±6,5	90,1±7,4*
Ендогенний NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	46,7±8,7	47,3±3,9
Загальний NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	156,6±7,2	135,5±10,6*

Примітка. * – показники достовірно відрізняються відносно значень хворих 45–60 років (p<0,05).

Таблиця 4 – Вміст стабільних метаболітів у хворих з підтипами II (M±m)

Показник	Підтип II			
	ГДІ	АТІ	КЕІ	ЛІ
NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	96,9±6,5*	153,7±8,9*	114,0±7,4*	93,4±9,8*
Ендогенний NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	40,3±4,3	81,2±5,8*	48,8±3,9*	42,6±4,2
Загальний NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	136,9±7,2*	234,2±11,6*	162,1±10,6*	128,9±10,1*

Примітка. * – показники достовірно відрізняються від аналогічних у КГ (p<0,05).

гального нітриту відносно пацієнтів з ГДІ та ЛІ виявлено у хворих з КЕІ. Достовірної різниці між вмістом ендogenousного нітриту в пацієнтів з КЕІ та ГДІ й ЛІ не відмічено. Не спостерігали достовірної різниці між рівнем стабільних метаболітів NO у хворих з ГДІ та ЛІ.

У пацієнтів з ГДІ та ЛІ вміст ендogenousного NO₂⁻ достовірно не відрізнявся відносно показників КГ. Проте відмічали достовірне (p<0,05) підвищення NO₃⁻, що вказувало на зростаючий вплив NOS та достовірне (p<0,05) збільшення вмісту загального NO₂⁻.

Проаналізовано особливості змін стабільних метаболітів NO при підтипах ІІ. Встановлено, що вміст нітратів при різних патогенетичних варіантах мозкового інфаркту змінювався таким чином. При ГДІ рівень NO₃⁻ у 10 (41,7 %) пацієнтів був підвищеним, у 14 (58,3 %) хворих – зниженим. При АТІ у більшості випадків вміст NO₃⁻ зростав – у 12 (70,6 %) хворих, у 2 (11,8 %) – зменшувався та у 3 (17,6 %) – був наближеним до КГ. У 13 (61,9 %) пацієнтів з КЕІ виявлено достовірне (p<0,05) підвищення нітратів, у 7 (33,3 %) – їх зниження, в одного (4,8 %) хворого достовірної відмінності від значень КГ не спостерігали. При ЛІ у 8 (44,4 %) хворих вміст NO₃⁻ збільшувався, ще у 8 (44,4 %) – був достовірно меншим та у 2 (11,1 %) – достовірно не відрізнявся від КГ.

Вміст ендogenousного NO₂⁻ при ГДІ був таким: в 11 (45,8 %) – підвищеним, у 9 (36,5 %) – достовірно нижчим та у 4 (16,7 %) – близьким до КГ. При АТІ у всіх хворих відмічали достовірне зростання ендogenousного NO₂⁻. При КЕІ у 12 (57,1 %) пацієнтів вміст ендogenousного NO₂⁻ був достовірно збільшеним, у 4 (19,0 %) – достовірно меншим та у 5 (23,8 %) – достовірно не відрізнявся від КГ. У хворих з ЛІ у 8 (44,4 %) випадках виявлено достовірне підвищення цього показника та ще у 10 (55,6 %) – його зниження.

Відносно змін загального NO₂⁻ у хворих з ГДІ у 13 (54,2 %) випадках виявлено його підвищення, в 11 (45,8 %) – зниження. При АТІ у всіх пацієнтів загальний NO₂⁻ достовірно збільшувався. При КЕІ у 14 (66,7 %) хворих відмічали

підвищені значення, в 7 (33,3 %) – знижені. При ЛІ у 6 (33,3 %) випадках виявлено збільшення вмісту загального NO₂⁻, у 7 (38,9 %) – зниження та у 5 (27,8 %) – його рівень достовірно не відрізнявся від значень КГ.

Найвищі показники стабільних метаболітів при АТІ та КЕІ можна пояснити більш вираженими цитотоксичними ефектами NO у хворих з вищим ступенем неврологічного дефіциту і тяжчим станом. Активація NO при гострих запальних процесах виконує певною мірою і захисну функцію, забезпечуючи максимальну перфузію тканин. Проте надлишок NO інгібує білки-ферменти дихального ланцюжка мітохондрій і циклу Кребса, знижує синтез аденозинтрифосфату, що призводить до некрозу та посилення процесів апоптозу. При ЛІ достовірно нижчий вміст метаболітів NO пов'язаний з легшим станом хворих та малими вогнищами ІІ. Зокрема, в деяких дослідженнях показано залежність рівня NO-синтази від розміру інфарктного вогнища [3]. Одночасно порушення NO при ЛІ можуть бути зумовлені також розладами синтезу ендотелієм вазодилатуючих факторів.

ВИСНОВКИ. 1. У гострому періоді ІІ відмічають різноспрямовані зміни стабільних метаболітів NO: у 47,5–55,0 % хворих – підвищення, у 36,5–40,0 % – зниження та у 6,2–12,5 % – показники близькі до значень контрольної групи.

2. У хворих віком від 45 до 60 років достовірно частіше зростає вміст NO₃⁻ та загального NO₂⁻, що може бути зумовлено як підвищенням активності NOS (посилення синтезувальної функції ендотелію) за умов гіпоксії та вазоспазму, так і вираженими запальними та цитотоксичними розладами.

3. У гострому періоді АТІ та КЕІ виявлено достовірно вищі показники стабільних метаболітів NO порівняно з хворими з ГДІ й ЛІ.

Перспективи подальших досліджень будуть спрямовані на вивчення кореляційних зв'язків між порушеннями цитокінового статусу та вмісту стабільних метаболітів NO у гострому періоді різних підтипів ІІ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Anti-inflammatory activity of nerve growth factor in experimental autoimmune encephalomyelitis inhibition of monocyte trans-endothelial migration / A. Flugel, K. Matsumuro, H. Neumann [et al.] // Eur. J. Immunol. – 2001. – **31**. – P. 11–22.

2. Bauer V. Nitric oxide – the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions / V. Bauer, Sotnikova R. // Gen. Physiol. Biophys. – 2010. № 29(4). – P. 319–340.

3. Castillo J. Nitric oxide-related brain damage in acute ischemic stroke / J. Castillo // Stroke. – 2000. – № 31. – P. 852–857.

4. Giulivi C. A production of nitric oxide by mitochondria / C. Giulivi, J. J. Poderoso, A. Boveris // J. Biol. Chem. – 1998. – **273**. – P. 11038–11043.

5. Guevara I. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction / I. Guevara, J. Iwanejko, A. Dembinska-Kiec // Clin. Chim. Acta. – 1998. – № 274(2). – P. 177–188.

6. Gu Z. Redox reactions induced by nitrosative stress mediate protein misfolding and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases / Z. Gu, T. Nakamura, S. A. Lipton // Mol. Neurobiol. – 2010. – **41**. – P. 55–72.

7. Ignarro L. J. Heart mtNOS, a key mediator of oxidative injury in ischemia/reperfusion / L. J. Ignarro // J. Mol. Cell. – Cardiol. – 2007. – **43**. – P. 490–410.

8. Kanai A. Peterson Function and regulation of mitochondrially produced nitric oxide in cardiomyocytes /

A. Kanai, J. Kanai // Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol. – 2004. – № 286. – P. 11–12.

9. Lipton S. A. Neuronalprotectin and destruction by NO / S. A. Lipton // Cell Death Differ. – 1999. – № 6. – P. 943–951.

10. Neurovascular protection by ischemic tolerance: role of nitric oxide and reactive oxygen species / A. Kunz, L. Park, T. Abe [et al.] // J. Neurosci. – 2007. – № 27. – P. 7083–7093.

11. Roles of oxidative stress, apoptosis, PGC-1 and mitochondrial biogenesis in cerebral ischemia / Shang-Der Chen, Ding-I Yang, Tsu-Kung Lin [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2011. – № 12. – P. 7199–7215.

12. Terpolilli N. A. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke. / N. A. Terpolilli, M. A. Moskowitz, N. Plesnila // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2012. – **32**(7). – P. 1332–1346.

Н. Р. Сохор, С. И. Шкробот, О. Ю. Бударная

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Резюме

У 80 больных в остром периоде ишемического инсульта (ИИ) определено содержание стабильных метаболитов оксида азота (NO). Установлено, что у 47,5–55,0 % больных уровень NO повышается, в 36,5–40,0 % – снижается и у 6,2–12,5 % – достоверно не отличается от значений контрольной группы. Содержание NO_3^- и общего NO_2^- достоверно чаще возрастает у больных в возрасте от 45 до 60 лет по сравнению с пациентами старше 60 лет. Достоверно более высокие показатели стабильных метаболитов NO в остром периоде ИИ обнаружено при атеротромботическом и кардиоэмболическом ИИ по отношению к больным с гемодинамическим и лакунарным ИИ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: подтипы ишемического инсульта, острый период инсульта, оксид азота.

N. R. Sokhor, S. I. Shkrobot, O. Yu. Budarna

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CHANGES OF STABLE METABOLITES OF NITRIC OXIDE IN AN ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE

Summary

In 80 patients in an acute period of ischemic stroke (II) the stable metabolites of nitric oxide (NO) were investigated. It was observed that in 47,5–55,0 % patients the NO level was increased, in 36,5–40,0% – was reduced and in 6,2–12,5 % was not significantly different from the values of the control group. The content of NO_3^- and general NO_2^- was increased significantly higher in 45–60 aged patients, compared with patients older than 60 years. Higher levels of stable NO metabolites in an acute period II was detected in patients with atherothrombotic and cardioembolic II relative to patients with hemodynamic and lacunar II.

KEY WORDS: subtypes of ischemic stroke, acute period of stroke, nitric oxide.

Отримано 04.04.13

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

І. В. Ніженковська, А. Б. Гладчук, Л. В. Яніцька
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

КРЕАТИНФОСФОКІНАЗНА СИСТЕМА ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ. ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКЗОГЕННОГО ФОСФОКРЕАТИНУ ПРИ РІЗНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ ЛЮДИНИ

Креатинфосфокіназна система – один з метаболічних шляхів енергозабезпечення серцевого та скелетних м'язів. При різних патологічних станах виникають порушення обміну енергії в тканинах міокарда та скелетної мускулатури. Призначення екзогенного креатинфосфату викликає позитивний ефект, а саме нормалізацію шляхів синтезу і транспорту макроергічних фосфатів, оптимізацію роботи мітохондріальних K_{ATP} -каналів, лімітування утворення мітохондріальної пори і розвитку апоптозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: креатинфосфокіназна система, екзогенний креатинфосфат, механізми дії креатинфосфату.

Історія вивчення креатинфосфокіназної системи цікава і незвичайна: незважаючи на те, що відкриття креатинфосфату відбулось у 1927 р., а креатинфосфокіназну реакцію відкрив Ламан у 1934–1936 рр., дослідники досі відкривають нові функції креатинфосфокіназної системи. Розвиток ідей про фізіологічну роль креатинфосфокіназної системи із самого початку був тісно пов'язаний з успіхами в галузі вивчення м'язової фізіології та біоенергетики. Дослідження креатинкіназної системи дають уявлення про загальні принципи організації обміну речовин та метаболічного контролю в клітині.

Складові частини креатинфосфокіназної системи.

Креатинфосфокіназа. Креатинфосфокіназа (КФК) (КФ 2.7.3.2) – фермент енергетичного обміну, належить до фосфотрансфераз. Бере участь в енергетичному обміні клітин м'язової, нервової та інших типів тканин, фосфорилуючи при цьому креатин з участю АТФ [1]. Креатинфосфокіназа каталізує перенесення залишків фосфорної кислоти, її ангідридів і ефірів [2].

Молекула креатинфосфокінази складається з двох субодиниць – димерів В і М, при комбінації яких утворюються три ізоферменти: ММ – м'язовий, ВВ – мозковий, МВ – гібридний, що міститься у великій кількості в серцевому м'язі (М – muscle, В – brain) [47]. Їх класифікують за органом приналежності на три основних види: КФК-ВВ – мозок, КФК-МВ –

серцевий м'яз, КФК-ММ – скелетні м'язи [50]. Креатинфосфокіназа локалізована в основному в посмугованих м'язах, матці та мозку. В плазмі крові здорових людей ізофермент КФК-ММ складає приблизно 98 % загальної активності КФК, близько 2 % припадає на КФК-МВ, відсутній КФК-ВВ [5]. Активність загальної креатинфосфокінази зумовлена ізоензимами, які виділяються в плазму крові зі скелетної та серцевої мускулатури [41]. В нормі її активність у плазмі крові складає 0–1,20 ммоль неорганічного фосфату. В чоловіків – нижче 80U/1, у жінок – нижче 70U/1, у дітей до 1 року – нижче 94U/1, у чоловіків – менше 195U/1 при 37 °С, а у жінок – менше 170U/1 при 37 °С [17].

На частку МВ-ізоферменту припадає менше 10U/1, ВВ-ізоферменту – менше 8U/1, ММ-ізоферменту – менше 76U/1. У новонароджених активність ферменту вища, ніж у дорослих, але протягом одного місяця вона повертається до норми [22].

Збільшення активності креатинфосфокінази в крові відмічають у ранній період інфаркту міокарда (в 10–30 разів через 3–4 год). Найвищу активність відзначають через 18–30 год, через 72 год активність КФК нормалізується [8].

Експериментальний інфаркт міокарда, викликаний у щурів шляхом перев'язування нижньої гілки лівої коронарної артерії, викликає підвищення активності креатинфосфокінази (КФК 2.7.3.2) в сироватці крові [9].

Підвищення рівня значень КФК вказує на діагностичні ознаки розвитку: при інфаркті міо-

карда, ураженні м'язової тканини, гіпотиреозі; інсульті; гострій алкогольній інтоксикації; шизофренії; епілепсії; маніакально-депресивному синдромі; травмах голови; гострій променевої хвороби [4, 41]. Активність даного ферменту не змінюється при інфаркті легень і ураженні паренхіми печінки, знижується при тиреотоксикозі [10].

Креатин. Креатин використовується в організмі для утворення фосфокреатину – речовини, яка відіграє невід'ємну роль в енергозабезпеченні тканин [24]. Безпосереднім попередником креатину є гуанідиноцтова кислота, яка утворюється в печінковій тканині з аргініну та гліцину з участю ферменту трансамілази [53]. В печінці вона метилується (з участю S-аденозилметіоніну і метилтрансферази), завдяки чому перетворюється в креатин [1]. Показники норми креатину в плазмі (сироватці) крові: у чоловіків – 8–31 мкмоль/л (1–4 мг/л), у жінок – 15–53 мкмоль/л (2–7 мг/л).

Добова екскреція креатину із сечею коливається у межах 0,00–4,56 ммоль/добу (0,00–60,00 мг/добу); в жінок – менше 189 мг/добу, в чоловіків – менше 270 мг/добу [22].

Креатинін. Фосфорилування креатину при дії креатинфосфокінази генерує креатинфосфат – джерело термінової регенерації АТФ при м'язовому скороченні. Дегідратація і дефосфорилування креатинфосфату призводять до утворення креатиніну [13]. Креатинін виділяється із сечею. Його рівень у крові та сечі зумовлений м'язовою масою і видільною здатністю нирок [3]. Добова екскреція креатиніну із сечею у практично здорових дорослих людей складає 1,00–2,00 г/добу [22].

Вміст креатиніну в добовій та порційній сечі використовують для оцінки рівня екскреції ряду метаболітів (наприклад адреналіну, нор-адреналіну в порційній сечі в перерахунку на 1 г креатиніну) і для контролю повноти збору сечі (при обстеженні хворих на психічні захворювання) [36]. Найбільш широко застосовують для виявлення креатиніну реакцію Яффе [24].

Показники норми креатиніну в крові: у дітей до 1 року – 3,00–11,00 мг/л; 1–6 років – 2,00–5,00 мг/л; 7–14 років – 3,00–8,00 мг/л; 15–16 років – 5,00–11,00 мг/л; у жінок – 6,60–11,70 мг/л (44,00–97,00 мкмоль/л); у чоловіків – 8,40–13,60 мг/л (44,00–115 мкмоль/л).

Використання екзогенного фосфокреатину в медицині.

Для оптимізації функціонального стану спортсменів та для збереження їх здоров'я є актуальною розробка адекватної системи медико-біологічного забезпечення тренувально-змагальної діяльності. При виникненні й зрос-

танні в процесі м'язової роботи кисневого дефіциту організму доводиться виконувати роботу за умов гіпоксії [7]. Відомо, що гіпоксично-ішемічне інгібування окремих метаболічних ланцюгів призводить до порушень функціонування реакцій синтезу та інтрацелюлярного транспорту продуктів вуглеводно-енергетичного обміну, накопичення в ішемізованих тканинах Ca^{2+} , вільних жирних кислот, ацидозу тощо [21, 25]. Така спрямованість метаболізму викликає зниження в організмі рівня сполук з енергетично багатим фосфорним зв'язком [14]. Призначення фосфокреатину збільшує час активності м'язів та подовжує період до розвитку втоми. У ряді робіт висловлено думку про те, що фосфокреатин підвищує вміст ендогенних макроергічних зв'язків у тканинах не тільки міокарда, а також скелетних м'язів [29]. Крім позитивної дії призначення фосфокреатину щодо шляхів синтезу макроергічних сполук, спостерігають покращення роботи внутрішньоклітинних шляхів транспорту енергії. Висунуто ще декілька можливих механізмів стосовно протекторної дії при призначенні фосфокреатину [3, 19].

Збільшення активності сукцинатдегідрогенази, внаслідок призначення фосфокреатину, ймовірно, може свідчити про активізацію $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналу внутрішньої мембрани мітохондрій, зниження перенавантаження матриксу мітохондрій Ca^{2+} , інгібування мітохондріальної пори, зменшення продукції вільних радикалів [20, 48].

Октамер мітохондріальної КФК, який здійснює вихід наново синтезованого АТФ з матриксу і зворотне перенесення АДФ, знаходиться у контактних сайтах мітохондрій, місцях зближення внутрішньої та зовнішньої мембран [31, 49]. Нормалізація роботи мітохондріальної КФК під впливом фосфокреатину, ймовірно, свідчить на користь того, що його призначення лімітує утворення мРРТ і може запобігати загибелі клітин за рахунок апоптозу, розвиток якого, за результатами багатьох досліджень, має негативні наслідки для тканин, особливо в постреперфузійний або постгіпоксичний період [29].

Оцінка ефективності застосування фосфокреатину при лікуванні ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда.

Як свідчать результати досліджень, зменшення вмісту резервів метаболічної енергії та макроергічних сполук, а саме креатинфосфату, АТФ і АДФ, спостерігають у результаті порушення біоенергетичних процесів у кардіо-міоцитах за умов дексорубіцинової серцевої недостатності [27, 46].

У зв'язку з чільною роллю креатинфосфокіназної системи в енергозабезпеченні та функціонуванні організму в цілому, великий інтерес викликають дослідження щодо застосування креатинфосфату як лікарського засобу при різних патологічних станах [37].

Відомо, що зниження рівня фосфокреатину призводить до зменшення сили скорочень міокарда і здатності повернення його до функціонального відновлення [6]. При ураженні міокарда існує тісна кореляція між кількістю насичених енергією фосфорилуваних з'єднань у клітині, життєздатністю клітин та їх здатністю відновлювати скорочувальну функцію [2].

Основною причиною смертності хворих на ішемічну хворобу серця є серцева недостатність. Сучасна медицина продовжує пошук засобів, які б обмежували пошкодження міокарда при ішемії внаслідок ураження коронарних артерій [18]. Однак відновлення кровотоку в стенозній коронарній артерії може призводити до реперфузійного пошкодження міокарда [3].

Сучасна терапія даної патології є комплексною та забезпечує клінічне відновлення і покращення стану пацієнтів [26]. До того ж треба відмітити, що при беззаперечних успіхах, досягнутих під час медикаментозного лікування, позитивний ефект його не завжди є достатнім [28, 39]. Італійські вчені розробили препарат, що являє собою екзогенний фосфокреатин, який широко використовується в міокарді як резерв для швидкого накопичення АТФ [34]. З участю ферменту креатинфосфокінази фосфокреатин швидко й ефективно перетворюється в АТФ [44]. У результаті такого перетворення він гальмує дисфункцію сарколеми ішемізованих кардіоміоцитів і стимулює енергетичний обмін, зменшуючи розмір зони некрозу та ішемії [10].

У ході рандомізованих досліджень було встановлено, що фосфокреатин має кардіопротекторну дію при інфаркті міокарда та аритмії, викликаних оклюзією коронарної артерії [11], стабілізує гемодинамічні показники, попереджує суттєве зниження функціональних показників роботи серця, проявляє антиаритмічну дію, знижує частоту і тривалість фібриляції шлуночків [3]. Крім того, додавання фосфокреатину в кардіоплегічні розчини покращує кардіопротекторний ефект [23], знижує ризик розвитку ішемії, розвиток реперфузійної аритмії при інфузійному введенні, знижує дегідратацію АТФ у клітинах міокарда, зберігає структуру мітохондрій і сарколеми, поліпшує процес функціонального відновлення міокарда після зупинки серця і зменшує частоту реперфузійної аритмії [40].

Застосування екзогенного фосфокреатину при хірургічних операціях.

Фосфокреатин традиційно застосовують і для захисту міокарда при хірургічних операціях на відкритому серці [35, 38]. Використання препарату в складі лікувального розчину перешкоджає ураженню клітинних мембран, кальцієвому перенавантаженню кардіоміоцитів і зменшенню внутрішньоклітинного запасу АТФ, що виникають внаслідок ішемії та реперфузії міокарда [23, 33]. Застосування екзогенного фосфокреатину як компонента комплексного лікування дітей з ураженням серця внаслідок токсичної дифтерії дало обнадійливі результати [12]. Лікування неотоном супроводжується більш швидкою позитивною динамікою розмірів серця, показників ЕКГ і активності ферментів, які відображають пошкодження кардіоміоцитів [18, 40]. У ряді переглянутих робіт показано позитивну дію фосфокреатину на активність нейронів кори головного мозку і швидкість передачі збудження в синапсі, яке супроводжувалось клінічними ефектами у хворих із гострим порушенням мозкового кровообігу і тяжкими неврологічними ускладненнями після операцій за умов штучного кровообігу [36].

Вищевказане підтверджує думку про позитивний вплив екзогенного фосфокреатину (неотону) на зберігання ішемізованого, але життєздатного міокарда, а також на попередження реперфузійного ураження міокарда [15, 29, 30].

Оцінка можливості поєднання екзогенного фосфокреатину в комплексній терапії онкологічних хворих з патологією серцево-судинної системи.

У зв'язку зі значною поширеністю онкологічних і серцево-судинних хвороб, вони часто поєднуються в одного пацієнта. Особливості розвитку онкологічних захворювань вимагають враховувати вибір препаратів, що будуть забезпечувати нормалізацію діяльності серцево-судинної системи [24, 32]. На відміну від багатьох інших препаратів, фосфокреатин є натуральним метаболітом організму [23]. Властивістю екзогенного креатинфосфату є зменшення вираження ішемічного та реперфузійного уражень міокарда, а також попередження зниження скорочуваності серцевого м'яза і порушень ритму [16, 42].

Таким чином, головний фармакологічний ефект екзогенного фосфокреатину при ішемії міокарда полягає в стабілізації сарколеми кардіоміоцитів, яка перешкоджає незворотним морфологічним змінам і функціональним розладам серцевого м'яза [43].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева А. М. К вопросу о превращении креатинфосфата в креатин и о новом методе определения креатина / А. М. Алексеева // Биохимия. – 1951. – **16**, вып. 2. – С. 97.
2. Береговская Н. Н. Энерготранспортное фосфорилирование. Биофизические аспекты / Н. Н. Береговская // Нарушения биоэнергетики в патологиях и пути их восстановления. – М., 1993. – С. 11–20.
3. Бизенкова М. Н. Принципы медикаментозной коррекции метаболических расстройств при ишемическом повреждении миокарда / М. Н. Бизенкова, Н. П. Чеснокова, М. Г. Романцов // Медицинские науки. Успехи современного естествознания. – 2005. – № 5 – С. 9–11.
4. Бузиашвили Ю. И. Ангиогенез как антиишемический механизм / Ю. И. Бузиашвили, С. Г. Амбатьелло, С. Т. Мацкеплишвили // Кардиология. – 2000. – № 12. – С. 82–86.
5. Бурбаева Г. М. Мозговая форма креатинкиназы в норме и при психических заболеваниях (болезнь Альцгеймера, шизофрения) / Г. М. Бурбаева, О. К. Савушкина, С. Н. Дмитриев // Вестник РАМН. – 1999. – № 1. – С. 20–24.
6. Взаимодействие креатинкиназы мышц кролика с реакционноспособным производным АТФ / З. С. Мкртчян, Л. С. Нерсесова, Ж. И. Акопян [и др.] // Биохимия. – 1980. – № 45 (5). – С. 806–810.
7. Владимиров Ю. А. Механизмы нарушения биоэнергетических функций мембран митохондрий при тканевой гипоксии / Ю. А. Владимиров, Э. М. Коган // Кардиология. – 1981. – **21**, № 1. – С. 82–85.
8. Влияние экзогенного фосфокреатина на размер экспериментального инфаркта миокарда / С. А. Крыжановский, В. Г. Канделаки, В. Г. Шаров [и др.] // Кардиология. – 1988. – **28**. – С. 88–91.
9. Гладчук А. Б. Активность ферментов сыворотки крови крыс с экспериментальным инфарктом миокарда при введении L-токоферола / А. Б. Гладчук, Ю. В. Хмелевский // Укр. биохим. журн. – 1981. – **53**, № 4. – С. 102–105.
10. Голиков А. П. Фосфокреатин: Физиологическая роль и практическое применение в кардиологии / А. П. Голиков, В. А. Рябинин, С. А. Крыжановский // Физиология человека. – 1998. – **24**, № 5. – С. 85–91.
11. Грацианский Н. А. Впервые возникающая стенокардия: особенности начального периода клинической ишемической болезни сердца / Н. А. Грацианский // Кардиология. – 1992. – **32**, № 9–10. – С. 52–58.
12. Грысык У. У. Неотон в комплексной терапии дифтерии у детей / У. У. Грысык, Э. Г. Камальдинова // Кардиопротекторное действие неотона: теория и практика. – СПб., 2001. – С. 17–20.
13. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. – Київ–Вінниця : Нова книга, 2009. – 663 с.
14. Демидова Т. Ю. Нейрогуморальные аспекты регуляции энергетического обмена / Т. Ю. Демидова // Тер. журн. – 2004. – **76**, № 12. – С. 75–78.
15. Ерлыкина Е. И. Изменение каталитических свойств митохондриальных ферментов при острой ишемии мозга / Е. И. Ерлыкина, Н. С. Колчина, И. П. Иванова // Нижегородский медицинский журнал. – 2006. – **2**. – С. 34–38.
16. Кардиопротекторное действие экзогенного креатинфосфата при острой кровопотере / О. В. Корпачова, В. Т. Долгих, Л. Г. Шихунова, А. Н. Золотов // Анестезиол. и реаниматол. – 2002. – № 6. – С. 13–16.
17. Кнооре Д. Г. Біологічна хімія / Д. Г. Кнооре. – М., 2000. – С. 135, 137, 229.
18. Коваленко А. Н. Применение Неотона в комплексной терапии инфекционных болезней, протекающих с поражением миокарда // Кардиопротекторное действие неотона: теория и практика. – СПб., 2001. – С. 20–22.
19. Корж В. П. Особливості фармакологічної дії екзогенного фосфокреатину при інтенсивних фізичних навантаженнях // Медичні перспективи. – 2009. – № 4. – С. 16–19.
20. Липская Т. Ю. Митохондриальная креатинкиназа: свойства и функции / Т. Ю. Липская // Биохимия. – 2001. – **66**, вып. 10. – С. 1361–1376.
21. Лызлова С. Н. О формировании систем энергетического обеспечения мышц в процессе миогенеза // Биохимия и биофизика мышц. – М. : Наука, 1983. – С. 91–109.
22. Мельник А. А. Клинические лаб. тесты для практической медицины / А. А. Мельник. – Киев-плюс, 2011. – 287 с.
23. Могилевский Г. М. Структурно-биохимическая характеристика эффективности интраоперационной защиты сердца человека кардиоплегическими растворами, содержащими Неотон / Г. М. Могилевский, В. Г. Шаров, М. Л. Семеновский // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М., 1989. – С. 315–328.
24. Молекулярные и биохимические аспекты кардиопротекторного действия фосфокреатина / В. А. Сакс, И. В. Джалиашвили, Е. А. Конорев, Э. Струмиа // Биохимия. – 1993. – **57**, вып. 12. – С. 23–27.
25. Мэдди Э. Биохимическое исследование мембран / Э. Мэдди. – М. : Мир, 1979. – 460 с.
26. Недошивин А. О. Применение неотона (экзогенного фосфокреатина) в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности / А. О. Недошивин, Н. Б. Перепеч // Клин. мед. – 1996. – № 6. – С. 45–48.
27. Ніженковська І. В. Біохімічні та мембранні механізми ушкодження міокарду за умов експериментальної серцевої недостатності та її корекції фізіологічно активними сполуками метаболічної дії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / І. В. Ніженковська. – К., 2009. – 40 с.
28. Николаенко Э. М. Фосфокреатин в комплексе интенсивной терапии больных, оперированных на открытом сердце: предпосылки, первый опыт и перспективы / Э. М. Николаенко, М. Л. Семеновский // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М., 1989. – С. 392–403.
29. Опыт клинического исследования применения фосфокреатина в сочетании с калиевой фар-

- макохолодовой кардиоплегией / [Г. И. Цукерман, А. И. Малашенков, Д. О. Фоминский и др.] // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М., 1989. – С. 350–361.
30. Оценка эффективности применения Неотона в послеоперационном периоде / Х. Х. Хапский, Ж. С. Филипповская, И. Х. Халий, А. Ф. Лопатин // Вестник интенсивной терапии. – 2011. – № 4. – С. 34–38.
31. Пальцев М. А. Межклеточное взаимодействие / М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – М. : Медицина, 1995. – С. 125–127.
32. Перепеч Н. Б. Возможности применения экзогенного фосфокреатина (Неотона) в комплексной терапии онкологических больных с патологией сердечно-сосудистой системы / Н. Б. Перепеч // Вopr. онкол. – 2006. – **52**, № 1. – С. 112–114.
33. Перепеч Н. Б. Неотон (механизмы действия и клиническое применение) / Н. Б. Перепеч. – 2-е изд. – СПб. : Прогресс-погода, 1997. – 88 с.
34. Перепеч Н. Б. Опыт применения Неотона в комплексной терапии больных с острым инфарктом миокарда / Н. Б. Перепеч, А. О. Недошивин, А. Э. Кутузова // Острые и клинические аспекты работы скорой медицинской помощи : сб. работ. – 1999. – С. 142–143.
35. Реваскуляризация миокарда, меняющиеся подходы и пути развития / Л. А. Бокерия, И. И. Бершвилли, И. Ю. Сигаев [и др.] // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1999. – № 6. – С. 102–112.
36. Результаты клинического испытания препарата Неотон у больных с заболеваниями нервной системы / Е. И. Гусев, Т. Л. Демина, В. И. Скворцова [и др.] // Неотон: современное состояние исследований. – Л., 1990. – 35 с.
37. Сакс В. А. Энергетика клеток миокарда / В. А. Сакс, Л. В. Розенштраух // Физиология кровообращения. – Л., 1980. – 210 с.
38. Современные состояния и перспективы развития коронарной хирургии / Л. А. Бокерия, И. И. Бершвилли, И. Ю. Сигаев [и др.] // Анн. хирургии. – 1998. – № 4. – С. 31–45.
39. Тишкин В. С. Клинико-экспериментальное исследование эффективности средств метаболической коррекции в комбинированной терапии острого инфаркта миокарда : автореф. дисс. на соискание ученой степени доктора мед. наук / В. С. Тишкин. – М., 1990. – 48 с.
40. Фосфокреатин и защита миокарда. Опыт применения в кардиохирургии / Л. Тронкони, А. Райсаро, Л. Пагани [и др.] // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М., 1989. – С. 350–361.
41. Четверикова Е. П. Свойства и функция молекулярных форм креатинкиназы / Е. П. Четверикова, Н. А. Розанова // Биохимия и биофизика мышц. – М., 1983. – С. 10–12.
42. Электрофизиологическое исследование механизмов антиаритмического действия фосфокреатина при острой ишемии и реперфузии миокарда / С. А. Крыжановский, В. Г. Качарова, Р. И. Марко [и др.] // Кардиология. – 1991. – **31**. – С. 66–69.
43. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии сердца / А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко [и др.]. – К. : Наукова думка, 2008. – 520 с.
44. Creatine phosphate (Neoton as an additive to St.Thomas Hospital cardioplegic solution. Results of a clinical study / D. J. Chambers, M. V. Brainbridge, S. Kosker [et al.] // Eur. J. Cardiothorax Surg. – 1991. – № 5. – P. 74–81.
45. Expression of creatine kinase isozyme genes during postnatal development of rat brain cerebellum: Evidence for transcriptional regulation / W. Shen, D. Willis, Y. Zhang [et al.] // Biochem. J. – 2002. – P. 369–380.
46. Jennings R. B. Letal myocardial ischemic injury / R. B. Jennings, K. A. Reimer // Amer. J. Patol. – 1981. – **102**, № 2. – P. 241–203.
47. Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism / M. Wyss, J. Smeitink, R. Wevers, T. Wallimann // Biochim. Biophys. Acta. – 1992. – P. 119–166.
48. Multiplication complex containing succinate dehydrogenase confers mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel activity / H. Adrehaly, Z. Chen, Y. Ko [et al.] // PNAS. – 2004. – **101**, № 32. – P. 880–885.
49. Stachowiak O. Membrane binding and lipid vesicle cross-linking kinetics of the mitochondrial creatine kinase octamer / O. Stachowiak, M. Dolder, T. Wallimann // Biochemistry. – 1996. – **35** (48). – P. 15522–15528.
50. Takagi Y. Creatine kinase and its isozymes / Y. Takagi, T. Yasuhara, K. Gomi // RinshoByori. – 2001. – **116**. – P. 52–61.
51. Vendelin M. Analisis of functional coupling: mitochondrial creatine kinase and adenine nucleotide translocase / M. Vendelin, M. Lemba, V. A. Saks // J. Biophys. – 2002. – **87** (1). – P. 696–713.
52. Walzel B. Novel mitochondrial creatine transport activity: implications for intracellular creatine compartments and bioenergetics / B. Walzel, O. Speer, E. Zanolla // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**. – P. 37503–37511.
53. Wyss M. Creatine and creatinine metabolism / M. Wyss, R. Kaddurach-Daouk // Physiol. Rev. – 2000. – **80**. – P. 1107–1213.

КРЕАТИНФОСФОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКЗОГЕННОГО ФОСФОКРЕАТИНА ПРИ РАЗНЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

Резюме

Креатинфосфокиназная система – один из метаболических путей энергообеспечения сердечного и скелетных мышц. При разных патологических состояниях возникают нарушения обмена энергии в тканях миокарда и скелетной мускулатуры. Назначение экзогенного креатинфосфата вызывает позитивный эффект, а именно нормализацию путей синтеза и транспорта макроэргических фосфатов, оптимизацию работы митохондриальных K_{ATP} -каналов, лимитирование образования митохондриальной поры и развития апоптоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: креатинфосфокиназная система, экзогенный креатинфосфат, механизмы действия креатинфосфата.

I. V. Nizhenkovska, A. B. Hladchuk, L. V. Yanitska
O. O. BOHOMOLET'S NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV

CREATINPHOSPHOKINASE SYSTEM OF HUMAN ORGANISM. EFFICIENCY MESUREMENT OF EXOGENIC PHOSPHOCREATINE ADMINISTRATION UNDER DIFFERENT HUMAN PATHOLOGICAL STATES

Summary

Creatinphosphokinase system is a system the main role of which is supplying energy to heart and skeletal muscle. Infringements of metabolism in the myocardium tissue and skeletal muscle are revealed in different pathological conditions. Administration of exogenic creatinphosphate caused positive effect namely the normalization of ways of synthesis and transport of macroergic phosphates, optimization of the work of K_{ATP} -channels of mitochondrion, limitation of the formation time of mitochondrial pore and apoptosis development are the possible mechanisms of creatinphosphate action.

KEY WORDS: creatinphosphokinase system, exogenous creatinphosphate, creatinphosphate action mechanism.

Отримано 17.04.13

Адреса для листування: Л. В. Яницка, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, проспект Перемоги, 34, Київ-57, 03057, Україна, e-mail: yanitskayalesya@g-mail.com.