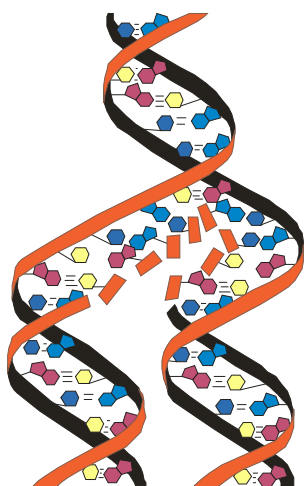


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

3(56) TOM 15
2013

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить щоквартально
Published 4 times per year

Заснований у грудні 1999 року
Founded in December 1999

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

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

Відповідно до постанови Президії ВАК України № 1-05/3 від 14.04.2010 р. журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних і біологічних наук. Журнал включено до Міжнародної наукометричної бази Google Scholar.

Журнал "Медична хімія" акредитований науково-видавничою радою Президії АМН України (лист № 02-17/1341 від 25.10.2001 р.).

Рекомендовано до видання вченою радою ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" (протокол № 17 від 4 червня 2013 р.).

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична хімія"
Видавництво "Укрмедкнига"
Майдан Волі, 1
46001, м. Тернопіль
УКРАЇНА

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:
Journal "Medical Chemistry"
Publishing House "Ukrmedknyga"
Maidan Voli, 1
46001, Ternopil
UKRAINE

Tel.: (0352) 43-49-56
(0352) 52-80-09
Fax: (0352) 52-41-83
<http://www.tdmu.edu.te.ua>

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

© Науковий журнал "Медична хімія", 2013
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2013

Зміст

Contents

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ваврух П. О., Боднар Я. Я., Ваврух Г. П. (Тернопіль)
ДИНАМІКА ІНТЕГРАЛЬНИХ МАРКЕРІВ ЕНДОГЕНОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ, СПРИЧИНЕНОЇ ВВЕДЕННЯМ
ЦИТОСТАТИКІВ

5

Швець В. М. (Запоріжжя) ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД
ГОМОГЕНАТУ СЕРЦЯ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ
ТА ОСОБЛИВОСТІ ЙОГО МОДУЛЯЦІЇ ПРИ СТРЕСІ

10

Федевич Ю. М. (Львів) ВПЛИВ ГАПТОГЛОБІНУ НА
КИСНЕЗВ'ЯЗУВАЛЬНІ ТА НІТРИТРЕДУКТАЗНІ
ВЛАСТИВОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ

15

Кулінич О. С., Дьомшина О. О., Штеменко Н. І.
(Дніпропетровськ) МОДУЛЯЦІЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТІ
ЦИСПЛАТИНУ КЛАСТЕРНИМИ СПОЛУКАМИ
РЕНІЮ(III) У МОДЕЛІ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

21

Мисула І. Р., Суховолець І. О. (Тернопіль) ПЕРЕБІГ
ПАРОДОНТИТУ ПРИ ГІПОЕРГІЧНОМУ ТА
ГІПЕРЕРГІЧНОМУ ТИПАХ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ НА
ФОНІ АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОПАТІЇ

27

Борис Р. М. (Одеса) ДИНАМІКА ФЕРМЕНТАТИВНОЇ
ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕРІОД
ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА ПОЄДНАНУ КРАНІОСКЕЛЕТНУ
ТРАВМУ

31

Павлишин Г. А., Козак К. В. (Тернопіль) ОЦІНКА
ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ДІТЕЙ З
НАДМІРНОЮ МАСОЮ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯМ

36

Вовк Т. Б. (Київ) ВПЛИВ Ig G ХВОРИХ НА СИСТЕМНИЙ
ЧЕРВОНИЙ ВОВЧАК НА ПОКАЗНИКИ
ХРОНОМЕТРИЧНИХ ТЕСТІВ

40

Яковлева Л. В., Чорна Н. С., Бабенко Д. М. (Харків)
ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОЗВИТКУ
ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ ЧЕРЕЗ 1 І ЧЕРЕЗ
3 МІСЯЦІ ВІД ПОЧАТКУ ІНДУКЦІЇ
ІНСУЛІНЗАЛЕЖНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА
ВПЛИВ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ БЕРЕЗИ
БОРОДАВЧАСТОЇ НА ЇЇ ПРОГРЕСУВАННЯ

44

Пида В. П. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТО-
ЗАХИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ
З БРУНЬОК ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ НА
МОДЕЛІ ТЕТРАЦИКЛІНОВОГО ГЕПАТИТУ

48

Яковлева Л. В., Стефанів І. В. (Харків, Тернопіль)
ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ
АКТИВНОСТІ СТОМАТОЛОГІЧНОЇ НАСТОЯНКИ
"КАСДЕНТ" НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ГІНГІВІТУ В ЩУРІВ

52

Глушко К. Т. (Тернопіль) ІМУНОЛОГІЧНІ
ОСОБЛИВОСТІ У ДІТЕЙ ІЗ ХРОНІЧНОЮ
ПАТОЛОГІЄЮ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ НА ФОНІ
ТОКСОКАРОЗУ

55

Семенів Д. В. (Івано-Франківськ) ДОСЛІДЖЕННЯ
КАРДІОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
СУБСТАНЦІЇ АРОНІЇ ГІДРОФІЛЬНОЇ НА МОДЕЛІ
АДРЕНАЛІНОВОГО МІОКАРДИТУ В ЩУРІВ

59

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Vavruk P. O., Bodnar Ya. Ya., Vavruk H. P. (Ternopil)
DYNAMICS OF INTEGRAL MARKERS OF
ENDOGENOUS INTOXICATION CAUSED BY
INTRODUCTION OF CYTOSTATICS

5

Shvets V. M. (Zaporizhzhia) PHOSPHOLIPID
COMPOSITION OF THE HEART HOMOGENATE
OF THE ADULT AND OLD RATS, AND PECULIARITIES
OF ITS MODULATION UNDER STRESS

10

Fedevych Yu. M. (Lviv) INFLUENCE OF HAPTOGLOBIN
ON OXYGEN-BINDING AND NITRITE REDUCTASE
CAPACITIES OF HEMOGLOBIN

15

Kulinich O. S., Dyomshyna O. O., Shtemenko N. I.
(Dnipropetrovsk) MODULATION OF CISPLATIN
HEPATOTOXICITY USING CLUSTER COMPOUNDS
OF RHENIUM(III) IN A MODEL OF CARCINOGENESIS

21

Mysula I. R., Sukhovolets I. O. (Ternopil) COURSE
OF PARODONTITIS, COMBINED WITH ADRENALINE
MIOCARDIOPATHY, AT HYPOERGIC AND
HYPERERGIC TYPES OF INFLAMMATORY REACTION

27

Borys R. M. (Odesa) THE DYNAMICS OF ENZYMATIC
BRANCH OF ANTIOXIDANT PROTECTION DURING
AN ACUTE REACTION TO A COMBINED CRANIO-
SKELETAL TRAUMA

31

Pavlyshyn H. A., Kozak K. V. (Ternopil) EVALUATION OF
CARBOHYDRATE METABOLISM IN CHILDREN WITH
OVERWEIGHT AND OBESITY

36

Vovk T. B. (Kyiv) Ig G INFLUENCE OF PATIENTS WITH
SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS
ON INFLUENCE BLOOD CLOTTING TESTS

40

Yakovleva L. V., Chorna N. S., Babenko D. M. (Kharkiv)
THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE
DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY AFTER
1 AND 3 MONTH FROM THE BEGINNING
OF INDUCTION OF INSULINE-DEPENDENT DIABETES
AND IMPACT OF THE DENSE EXTRACT FROM
LEAVES OF THE SILVER BIRCH AT ITS
PROGRESSION

44

Pyda V. P. (Ternopil) RESEARCH OF LIVERPROTECTIVE
PROPERTIES OF THE THICK EXTRACT FROM BUDS
OF SEA-BUCKTHORN ON A MODEL OF
TETRACYCLINE HEPATITIS

48

Yakovleva L. V., Stefaniv I. V. (Kharkiv, Ternopil) THE
STUDY OF SPECIFIC PHARMACOLOGICAL EFFECT
OF TINCTURE "KASDENT" ON THE MODEL OF
EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN RATS

52

Glushko K. T. (Ternopil) IMMUNOLOGICAL FEATURES OF
CHRONIC DIGESTIVE PATHOLOGY AMONG
CHILDREN WITH TOXOCARIASIS

55

Semeniv D. V. (Ivano-Frankivsk) INVESTIGATIONS OF
CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF
CHOKEBERRY'S HYDROPHILIC SUBSTANCE TO THE
MODELS OF RATS' ADRENALINE MYOCARDITIS

59

**ПРОБЛЕМИ ВИКЛАДАННЯ
БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**

Сиротинська І. Д. (Івано-Франківськ) ДОСВІД
ВИКОРИСТАННЯ НЕТРАДИЦІЙНИХ ФОРМ
ПРОВЕДЕННЯ ЛЕКЦІЙ ДЛЯ ІНОЗЕМНИХ
СТУДЕНТІВ

ОГЛЯД

Палиця Л. М., Ястремська С. О., Корда М. М.
(Тернопіль) ТОКСИЧНІСТЬ ФУЛЕРЕНІВ: ОЦІНКА
РИЗИКУ ЇХ ВПЛИВУ НА ЗДОРОВ'Я ЛЮДЕЙ

**PROBLEMS OF BIOLOGICAL
CHEMISTRY TEACHING**

Syrotynska I. D. (Ivano-Frankivsk) THE EXPERIENCE
OF APPLYING OF ALTERNATIVE FORMS OF THE
LECTURES FOR FOREIGN STUDENTS

64

REVIEW

Palytsa L. M., Yastremska S. O., Korda M. M. (Ternopil)
TOXICITY FULLERENES: RISK ASSESSMENT THEIR
IMPACT ON HUMAN HEALTH

67

П. О. Ваврух, Я. Я. Боднар, Г. П. Ваврух
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДИНАМІКА ІНТЕГРАЛЬНИХ МАРКЕРІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, СПРИЧИНЕНОЇ ВВЕДЕННЯМ ЦИТОСТАТИКІВ

Визначено інтегральні маркери ендогенної інтоксикації в експериментальних тварин з ендогенною інтоксикацією, відтвореною шляхом поєданого введення тетрахлорметану і бактерійного полісахариду, а також введення циклофосфану, та при корекції карболайном. З'ясовано, що ентеросорбент "Карболайн" зменшує біохімічні показники ендогенної інтоксикації. Можна вважати, що в основі цього феномена лежать відновлення рівноваги між анаболічними і катаболічними процесами, поновлення структури і функцій мембранних утворів за рахунок активації метаболічних процесів, зниження концентрації субстратів вільнорадикальних реакцій, сорбції екзо- та ендогенних токсинів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: маркери ендогенної інтоксикації, цитостатики, тетрахлорметан, циклофосфан.

ВСТУП. Як свідчить аналіз літератури, на сьогодні увага дослідників зосереджена на вивченні впливу на процеси структурної реорганізації міокарда токсичних речовин, у тому числі лікарських засобів. За таких умов при оцінці паренхіматозно-стромальних співвідношень у міокарді враховують проліферативну активність кардіоміоцитів та морфогенез кардіосклерозу на місці дифузної загибелі окремих м'язових клітин серця. Зазначені морфологічні прояви кардіоміопатії є основою регенераторно-пластичної недостатності міокарда, яка має притаманні їй морфологічні особливості, що відрізняють її від метаболічних та ішемічних пошкоджень серця [2]. Найбільш яскраво вона проявляється при супресії або інгібуванні кардіоспецифічних генів у результаті дії цитостатичних (цитотоксичних) препаратів. Цей ефект уперше був відзначений клініцистами при трактуванні розвитку антрациклінової кардіоміопатії і серцевої недостатності в онкологічних хворих після застосування курсу хіміотерапії.

Подібна структурна реорганізація міокарда може бути відтворена в експерименті тривалним впливом бактеріальних ліпополісахаридів, особливо в поєднанні з паренхіматозним токсичним пошкодженням печінки і/або нирок [6, 7]. При цьому міокард стає мішенню вторинного пошкодження ендогенними ток-

сичними сполуками. Викладене дозволяє припустити або заперечити участь ендогенного токсичного компонента і дисметаболических порушень у розвитку регенераторно-пластичної недостатності міокарда при курсовій хіміотерапії. Фрагментарність робіт, присвячених даній проблемі, спонукала нас до проведення цих досліджень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальне відтворення онкогенноподібної інтоксикації проведено на 110 білих нелінійних щурах-самцях при стандартному їх утримуванні й харчуванні. Інтегральні маркери ендогенної інтоксикації за умов уведення цитостатиків вивчено на трьох експериментальних моделях, всі зміни оцінено в трьох часових інтервалах (30, 60, 90 діб). До 1-ї групи входили тварини, яким вводили циклофосфан ("Артеріум", Україна) внутрішньочеревно в дозі 15 мг/кг 1 раз на 5 днів протягом 30–90 діб. До 2-ї – щури, яким, крім циклофосфану, з метою корекції ендогенної інтоксикації вводили внутрішньошлунково карболайн у дозі 1 г/кг. Тваринам 3-ї групи внутрішньошлунково вводили кожні 48 год 10 % олійний розчин тетрахлорметану з розрахунку 3–5 мл/кг маси. На 6-й день до цієї процедури додавали внутрішньочеревне введення бактеріального ліпополісахариду в дозі 0,2 мг/кг маси тіла. На 7-й день маніпуляцій не проводили [6, 7]. Усіх тварин виво-

дили з експерименту на 30-ту, 60-ту та 90-ту доби, не раніше ніж через 48 год після останньої ін'єкції цитостатика.

Як інтегральні лабораторно-біохімічні показники розвитку ендотоксикозу визначали вміст молекул середньої маси (МСМ) [8, 10], концентрацію ТБК-активних продуктів [11], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [1, 3] та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) [9].

Перед експериментом усі тварини були оглянуті й пройшли необхідний карантин. Маніпуляції, що завдають щурам біль, проводили під знеболюванням. Для анестезії використовували ефірний і тіопенталовий наркоз ("Тіопентал натрію-КМП" 25 мг/кг внутрішньочеревно). Контрольні групи формували для кожної серії експерименту з урахуванням статі й віку тварин, у всіх випадках визначено межі біологічної норми для всіх тестованих показників. Роботу з піддослідними тваринами виконували згідно з правилами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) [12].

Статистичний аналіз отриманих кількісних даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики [5] з визначенням середньої арифметичної величини (M) та похибки середньої арифметичної величини (m). У зв'язку з відсутністю нормального закону розподілу для статистичної оцінки значимості різниці між середніми величинами у вибірках використовували непараметричний метод – U-тест Манна-Уїтні. Аналіз результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" в програмному пакеті "Statsoft Statistica". Достовірними вважали відмінності при $p \leq 0,05$ (95,5 %).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При введенні тетрахлорметану і бактерійного ліпополісахариду в плазмі крові щурів відмічено збільшення рівня МСМ у всі терміни дослідження (табл. 1). Так, показник рівня МСМ₁ на 30-ту добу експерименту перевищував аналогічне значення у тварин контрольної групи в 1,38 раза ($p < 0,001$), а МСМ₂ – в 1,51 раза ($p < 0,001$) відповідно. На 60-ту добу значення показників становили 143 і 227 % від рівня контрольних тварин відповідно. На 90-ту добу значення показників рівня МСМ₁ перевищували норму в 1,53 раза, а МСМ₂ – у 2,57 ($p < 0,001$). Очевидно, досліджувані токсиканти посилюють в організмі тварин катаболічні процеси, завдяки чому і зростає вміст середніх молекул [4, 6, 7]. Значне збільшення їх вмісту вказує на різке підвищення концентрації ланцюгових і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів МСМ, причому переважає концентрація ароматичних амінокислот.

Одним з інтегральних маркерів, за яким можна відстежувати стан плазматичних мембран і його зміни при дії чинників ендогенної інтоксикації, є ЕІІ. В основі цього методу лежить уявлення про еритроцит як універсальний адсорбент. За дії досліджуваних токсикантів на 30-ту добу дослідження ступінь проникнення барвника через еритроцитарну мембрану зріс до 143 % від показника контрольної групи тварин і продовжував збільшуватись, сягаючи до 90-ї доби 193 % від норми. Зважаючи на це, можна опосередковано судити, що досліджувані токсиканти підвищують проникність клітинних мембран, проявляючи, таким чином, мембранолітичну активність. Універсальністю будови плазматичних і внутрішньоклітинних мембран пояснюється один з основних неспецифічних механізмів порушення внутрішньоклітинного гомеостазу, і, незалежно від фактора, що ініціює реакцію окиснення або перекиснення ліпідів мембран, її проникність під його впливом різко зростає, що призводить

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили тетрахлорметан і бактерійний полісахарид ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=8)	Хронічна ендогенна інтоксикація		
		30 діб (n=10)	60 діб (n=10)	90 діб (n=8)
МСМ ₁ , ум. од.	351,3±14,5	486,2±8,9***	503,8±9,1***	537,5±12,7***
МСМ ₂ , ум. од.	204,3±11,2	307,7±10,5***	463,4±10,3***	525,6±27,4***
ЕІІ, %	30,9±0,8	44,2±0,8***	55,9±1,0***	59,6±1,2***
ЦІК	104,3±3,9	185,3±5,1***	184,0±9,5***	197,8±12,7***
МДА, мкмоль/л	5,61±0,32	7,16±0,51	7,43±0,59	8,02±0,60*

Примітки. У цій і наступних таблицях:

- 1) * – $p < 0,05$;
- 2) ** – $p < 0,01$;
- 3) *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

до ряду порушень всередині клітини і завершується пошкодженням клітинних органел та виходом ферментів [4, 6, 7]. Цей процес відіграє значну роль у розвитку ендогенної інтоксикації.

Одним з індикаторів визначення імунного статусу організму і розвитку аутоімунних процесів є рівень ЦІК у крові [1, 3]. Тривала циркуляція в організмі імунних комплексів навіть при незначному підвищенні їх рівня спричиняє накопичення їх у тканинах, підвищення агрегації і адгезії тромбоцитів, що, у свою чергу, зумовлює порушення мікроциркуляції крові та пошкодження тканин.

За умов змодельованої хронічної ендогенної інтоксикації концентрація ЦІК достовірно підвищувалася протягом усіх термінів дослідження. Зокрема, на 30-ту добу від початку введення токсикантів їх рівень становив 178 % від норми і залишався таким до 60-ї доби. На 90-ту добу зафіксовано подальше зростання ЦІК, що склало 190 % від норми. Як свідчать отримані дані, у тварин дослідної групи за умов хронічної інтоксикації тетрахлорметаном і бактерійним полісахаридом спостерігають переважання анаболічних процесів, на що вказувало збільшення МСМ, і порушення їх виведення з організму, що видно з підвищення рівня ЦІК.

Однією з причин цього можуть бути активація вільнорадикальних процесів і збільшення в організмі концентрації продуктів пероксидації ліпідів та білків. Проведене нами визначення одного з ключових маркерів ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА) підтверджує цю

тезу. Зокрема, на 30-ту добу дослідження концентрація МДА зростала в 1,28 раза і мала тенденцію до подальшого підвищення, досягнувши на 90-ту добу експерименту показника 143 % від норми (табл. 1).

При тривалому введенні циклофосфану ознаки ендогенної інтоксикації виявляли з перших термінів спостереження (табл. 2), але приріст МСМ обох фракцій був несуттєвим: в 1,24–1,41 раза до 30-ї доби, 1,34–1,59 раза до 60-ї доби, 1,49–1,68 раза до 90-ї доби (всі $p < 0,001$). Аналогічну тенденцію відмічено стосовно показника ЕІІ. На 30-ту добу перевищення відносно контролю становило 1,20 раза і зростало до 90-ї доби, сягнувши 139 %. Рівень ЦІК зростав найбільшою мірою порівняно з іншими показниками, однак ступінь зростання був нижчим, ніж при хронічній інтоксикації, спричиненій тетрахлорметаном та бактерійним полісахаридом.

На противагу цьому, з ранніх термінів дослідження і до 90-ї доби реєстрували різко підвищений рівень МДА, що переважав такий у щурів контрольної групи більш ніж у 1,58 раза, а з 90-ї доби досягнув 183 % від норми (табл. 2).

Як свідчать наведені дані, введення циклофосфану за окремими маркерами ендогенної інтоксикації відповідає проявам класичного ендотоксикозу, але за приростом МДА, як відображення активації вільнорадикальних процесів, відрізняється від нього вираженням та динамікою.

У подальшому ми провели дослідження основних інтегральних маркерів ендотоксико-

Таблиця 2 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили циклофосфан ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=8)	Хронічна інтоксикація циклофосфаном		
		30 дів (n=8)	60 дів (n=10)	90 дів (n=10)
МСМ ₁ , ум. од.	351,3±14,5	435,8±8,0***	469,5±9,6***	522,4±11,6***
МСМ ₂ , ум. од.	204,3±11,2	287,3±12,6***	325,2±6,0***	342,7±8,8***
ЕІІ, %	30,9±0,8	37,2±1,2***	39,8±1,0***	42,8±1,1***
ЦІК	104,3±3,9	175,8±5,1***	196,6±3,8***	207,7±4,2***
МДА, мкмоль/л	5,61±0,32	8,84±0,38***	9,13±0,47***	10,27±0,56***

Таблиця 3 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили циклофосфан і карболайн ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=8)	Хронічна інтоксикація циклофосфаном+карболайн		
		30 дів (n=10)	60 дів (n=10)	90 дів (n=10)
МСМ ₁ , ум. од.	351,3±14,5	413,8±5,4**	441,1±6,8***	503,7±7,6***
МСМ ₂ , ум. од.	204,3±11,2	257,2±9,6*	301,8±4,8***	327,2±8,7***
ЕІІ, %	30,9±0,8	34,2±1,2*	37,4±1,0***	39,4±1,1***
ЦІК	104,3±3,9	158,5±2,1***	176,5±2,7***	184,3±2,2***
МДА, мкмоль/л	5,61±0,32	7,13±0,41*	8,32±0,38***	9,19±0,26***

зу за умов введення циклофосфану при корекції ентеросорбентом "Карболайн" (табл. 3). Як свідчать наведені результати, вміст МСМ₁ у тварин, яким проводили корекцію на 30-ту добу експерименту, становив (413±5,4) ум. од., що в 1,18 раза вище від норми, і показував тенденцію до збільшення протягом усіх термінів експерименту, але приріст був не таким суттєвим і на 90-ту добу складав 143 %. Дещо більший показник зафіксовано стосовно МСМ₂: на 30-ту добу він перевищував норму в 1,26 раза, однак був достовірно нижчим за рівень у тварин, яким корекцію не проводили. До 90-ї доби цей показник досягнув рівня (327,2±8,7) ум. од., що в 1,60 раза більше, ніж у контрольній групі.

Достовірно знижувався, порівняно з тваринами, яким вводили циклофосфан, і ЕП, який на 30-ту добу зменшувався на 7,5 %, а на 90-ту – на 8,0 %.

Дещо менший вплив спричиняв ентеросорбент на рівень ЦІК. На 30-ту добу він пере-

вищував норму в 1,52 раза. У наступні терміни концентрація їх зростала до 90-ї доби і становила 177 % від норми, що, відповідно, на 10 та 12 % менше порівняно з тваринами, яким вводили циклофосфан.

МДА на 30-ту добу дослідження перевищував дані контролю в 1,27 раза, на 60-ту добу – в 1,48 раза, на 90-ту добу – досягнув рівня 163 %, що достовірно менше від рівня тварин, яким вводили тільки циклофосфан.

ВИСНОВОК. Ентеросорбент "Карболайн", застосований з метою корекції порушень метаболізму, викликаних дією циклофосфану, зменшує рівень показників ендогенної інтоксикації. Можна вважати, що в основі цього феномена лежать відновлення рівноваги між анаболічними і катаболічними процесами, поновлення структури і функцій мембранних утворів за рахунок активації метаболічних процесів, зниження концентрації субстратів вільнорадикальних реакцій, сорбції екзо- і ендогенних токсинів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белозеров Е. С. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у больных вирусным гепатитом В / Е. С. Белозеров, Т. А. Макарова // Лаб. дело. – 1982. – № 12. – С. 37-39.
2. Ваврух П. О. Гістостереометрична характеристика міокардіопатії, індукованої цитостатичними препаратами / П. О. Ваврух, Я. Я. Боднар // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2012. – № 1. – С. 20–22.
3. Гриневич Ю. А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю. А. Гриневич, А. М. Алферов // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493-495.
4. Эндотоксикоз в клінічній онкології / В. І. Дрижак, М. І. Домбрович, М. О. Загурська, Г. І. Корицький. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1999. – 128 с.
5. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников / А. И. Кобзарь. – М. : Физматлит, 2006. – 816 с.
6. Новочадов В. В. Моделирование хронического эндотоксикоза в экспериментальной патологии / В. В. Новочадов // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2005. – № 1. – С. 32–33.
7. Новочадов В. В. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология / В. В. Новочадов, В. Б. Писарев. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
8. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : метод. реком. / [Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев и др]. – М., 1985. – 18 с.
9. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
10. "Средние молекулы" – образование и способы определения / В. В. Николаичик, В. В. Кировский, В. М. Маин [и др.] // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31–33.
11. Стальная И. Д. Метод определения маломолекулы диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили ; под ред. В. Н. Ореховича // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
12. Этические принципы при работе с лабораторными животными / В. Е. Чадаев, О. А. Кузьмина, И. Ю. Кузьмина [и др.] // Эксперим. і кліні. медицина. – 2008. – № 3. – С. 162–164.

ДИНАМИКА ИНТЕГРАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ ЦИТОСТАТИКОВ

Резюме

Определены интегральные маркеры эндогенной интоксикации у экспериментальных животных с эндогенной интоксикацией, смоделированной путем сочетанного введения тетрахлорметана и бактериального липополисахарида, а также введения циклофосфана, и при коррекции карболайном. Выяснено, что энтеросорбент "Карболайн" уменьшает биохимические показатели эндогенной интоксикации. Можно полагать, что в основе этого феномена лежат восстановление равновесия между анаболическими и катаболическими процессами, обновление структуры и функций мембранных образований за счет активации метаболических процессов, снижение концентрации субстратов свободнорадикальных реакций, сорбции экзо- и эндогенных токсинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: маркеры эндогенной интоксикации, цитостатики, тетрахлорметан, циклофосфан.

P. O. Vavrukh, Ya. Ya. Bodnar, H. P. Vavrukh
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF INTEGRAL MARKERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION CAUSED BY INTRODUCTION OF CYTOSTATICS

Summary

There were determined integral markers of endogenous intoxication in experimental animals in case of endogenous intoxication by the combined injection carbon tetrachloride and bacterial polysaccharide and injection of cyclophosphamide and its correction by "Karbolyayn". It was found out that the enterosorbent "Karbolyayn" decreases the biochemical indicators of endogenous intoxication. It can be considered that in the basis of this phenomenon is the restoration of the balance between anabolic and catabolic processes, update the structure and function of membrane structures due to the activation of metabolic processes, reducing the concentration of substrate free radical reactions, absorption of exogenous and endogenous toxins.

KEY WORDS: markers of endogenous intoxication, cytostatics, carbon tetrachloride, cyclophosphamide.

Отримано 01.04.13

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

ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД ГОМОГЕНАТУ СЕРЦЯ ДОРΟΣЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЙОГО МОДУЛЯЦІЇ ПРИ СТРЕСІ

Метою роботи було вивчити фосфоліпідний склад гомогенатів серця дорослих і старих щурів, а також встановити вікові особливості його модуляції при іммобілізаційному стресі. Проведені дослідження показали, що розвиток іммобілізаційного стресу в дорослих і старих щурів супроводжується формуванням характерного комплексу змін з боку фосфоліпідного складу гомогенатів серця. Його поява зумовлена посиленням гідролізу фосфоліпідів фосфоліпазою A_2 і зниженням швидкості декарбоксілювання фосфатидилсерину в фосфатидилетаноламін у фосфатидилсериндекарбоксілазній реакції. Вікові відмінності при цьому полягають у кількісних проявах зрушень, що виникають.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фосфоліпідний спектр, фосфатидилсериндекарбоксілазна реакція, старіння, міокард, іммобілізаційний стрес.

ВСТУП. На сьогодні отримано переконливі докази того, що при старінні відбувається зниження адаптаційних можливостей організму до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища [5, 12, 13]. Проте молекулярні механізми розвитку такого феномена все ще не зрозумілі. Їх вивчення відкриває широкі перспективи в розробці нових підходів до лікування та профілактики вікової патології у похилому віці, перш за все захворювань серця і судин. З огляду на це і беручи до уваги особливу роль стимуляції вільнорадикальних процесів у формуванні стресорних та ішемічних уражень міокарда [3, 10, 15], в роботі було проведено вивчення фосфоліпідного складу гомогенатів серця дорослих і старих щурів, а також вікових особливостей його модуляції при іммобілізаційному стресі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 40 щурах-самцях лінії Вістар. Використовували тварин двох груп: дорослих (віком 10–12 місяців) і старих (віком 22–25 місяців). Обидві вікові групи тварин, у свою чергу, поділили на дві підгрупи: 1-ша – інтактні; 2-га – щури, яких піддавали іммобілізаційному стресу шляхом фіксації на спині протягом 30 хв. Ефективність розвитку стресу контролювали за збільшенням рівня адреналіну в крові.

Негайно після припинення іммобілізації тварин декапітували. Вилучали та відмивали

від крові серце. Виділяли міокард лівого шлуночка і гомогенізували з 0,1 М натрій-фосфатним буфером (рН 7,5). Далі 10 % гомогенатів використовували для екстракції ліпідів [2]. Ліпідні екстракти піддавали фракціонуванню за допомогою тонкошарової хроматографії.

Поділ ліпідних фракцій гомогенатів проводили за допомогою одновимірної тонкошарової хроматографії в системі гексан–діетиловий ефір–оцтова кислота у співвідношенні 80:20:1 на скляних пластинках розміром 10 на 15 см із тонким шаром силікагелю (Ляяне Калур, Естонія). При цьому способі поділу пляма фосфоліпідів залишалася на старті [1].

Фракціонування фосфоліпідів здійснювали за допомогою двовимірної тонкошарової хроматографії на пластинках “Kieselgel-60” розміром 7 на 7 см (Merck). Для поділу використовували дві різні системи розчинників. Перша система складалася із суміші хлороформ–метанол–бензол–конц. NH_4OH у співвідношенні 32,5:15:5:3, друга – із суміші хлороформ–метанол–бензол–ацетон–льодяна оцтова кислота–вода у співвідношенні 35:15:5:2,5:2:0,5.

Ідентифікацію фосфоліпідів на пластинках після поділу проводили з використанням величини R_f та за допомогою їх диференційного забарвлення [2].

Розділені фракції зішкрібали з пластинок і екстрагували реактивом Фолча [2]. Екстракти випарювали і піддавали мінералізації з хлорною кислотою при 180 °С протягом 20 хв. У

мінералізатах визначали вміст неорганічного фосфору з використанням реактиву Васьковського [2].

У спеціальних експериментах вивчали швидкість включення радіоактивної мітки з $1-^{14}\text{C}$ оцтовою кислотою до складу фосфоліпідів серця. Для цього щурам внутрішньочеревно вводили нейтралізований розчин $1-^{14}\text{C}$ оцтової кислоти в ізотонічному розчині хлористого натрію в дозі 100 мкКі на 100 г маси. Експозиція становила 24 год. Після цього тварин піддавали декапітації, а їх серце використовували для виділення і фракціонування ліпідів.

Швидкість включення радіоактивної мітки у фосфоліпідів оцінювали за величиною їх питомої радіоактивності. Вимірювали радіоактивність на сцинтиляційному спектрометрі БЕТА-2 з використанням толуольного сцинтилятора.

Концентрацію білка в гомогенатах визначали за методом Лоурі [11].

Отримані дані піддавали статистичній обробці за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати експериментів показали, що величина співвідношення фосфоліпідів/білок (ФЛ/білок) у гомогенатах серця старих щурів не відрізнялася від величини співвідношення фосфоліпідів у дорослих тварин (рис. 1). При стресі значення даного показника в щурів обох

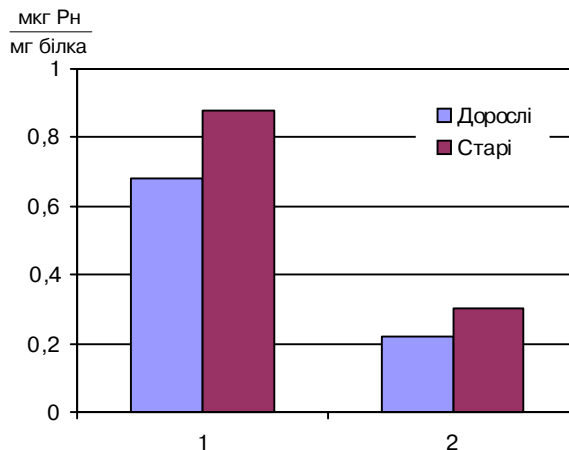


Рис. 1. Співвідношення ФЛ/білок у гомогенатах серця дорослих і старих щурів у нормі (1) та після імобілізаційного стресу (2).

дослідних вікових груп різко зменшувалося і складало при цьому в старих тварин 34 %, а у дорослих – 32 % від його вихідного рівня.

Безсумнівно, поява змін з боку величини співвідношення ФЛ/білок зумовлена модуляцією фосфоліпідного складу серцевого м'яза. З огляду на це, було проведено вивчення фосфоліпідного спектра гомогенату серцевого м'яза інтактних дорослих і старих щурів, а також тварин, підданих імобілізаційному стресу.

Виконані дослідження дозволили виявити вікові особливості фосфоліпідної організації

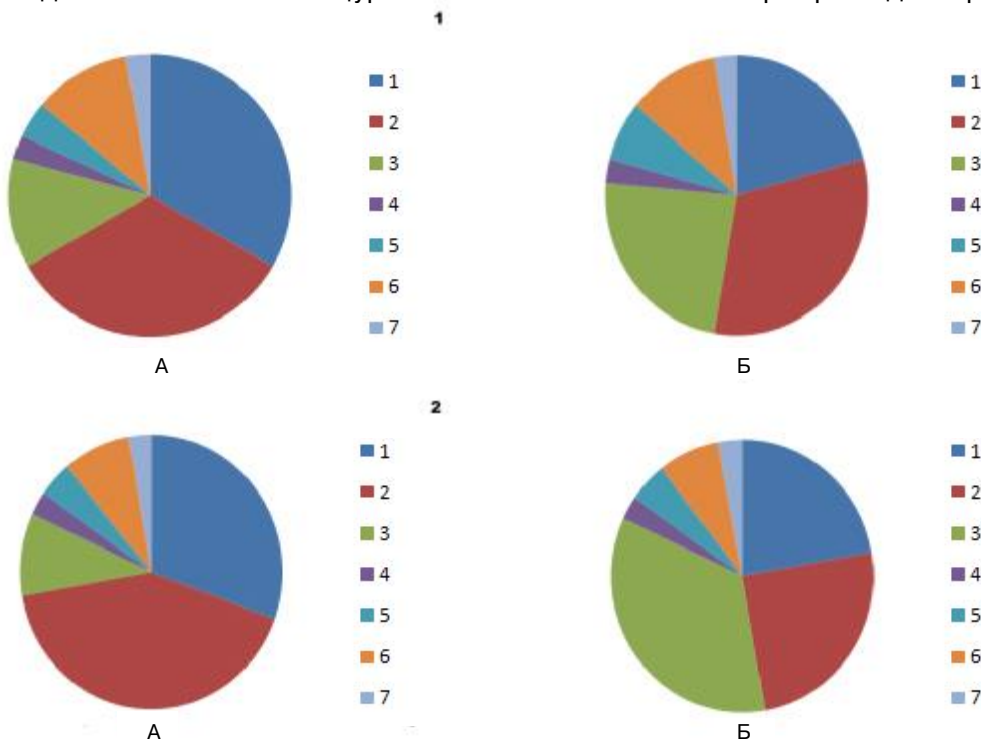


Рис. 2. Фосфоліпідний спектр гомогенатів серця дорослих (1) і старих (2) щурів у нормі (А) та після імобілізаційного стресу (Б): 1 – фосфатидилхолін; 2 – фосфатидилетаноламін; 3 – фосфатидилсерин + фосфатиділінозитол; 4 – вільні жирні кислоти; 5 – лізофосфатидилхолін; 6 – кардіоліпін. Вміст фосфоліпідів виражено у % від їх суми.

серця (рис. 2). Встановлено, що у фосфоліпідному спектрі міокарда старих щурів збільшена частка лізофосфатидилхоліну (ЛФХ), а також фосфатидилетаноламіну (ФЕ), в середньому на 20 % і, навпаки, зменшена частка фосфатидилхоліну (ФХ) на 17 % порівняно з величиною аналогічного показника в інтактних дорослих тварин.

Встановлені вікові відмінності у фосфоліпідному складі серця старих тварин доповнювалися різким обмеженням швидкості включення радіоактивної мітки з $1\text{-}^{14}\text{C}$ оцтовою кислотою до складу ФХ і ФЕ (рис. 3). Причому зменшення величини питомої радіоактивності ФЕ у старих щурів, порівняно з дорослими, було в 1,8 раза більшим, ніж зниження питомої радіоактивності ФХ.

Характер змін, що виникають у фосфоліпідній структурі гомогенатів серця, дозволяє припускати їх взаємозв'язок або зі стимуляцією гідролізу фосфоліпідів за рахунок фосфоліпази A_2 , або з гальмуванням процесу реакціювання даного лізофосфатиду, або з обмеженням швидкості метилювання ФЕ у ФХ.

Беручи до уваги літературні дані про зниження рівня енергозабезпечення кардіоміоцитів при старінні [6, 9] і наведені вище результати вивчення швидкості включення радіоактивної мітки з $1\text{-}^{14}\text{C}$ оцтовою кислотою у ФХ і ФЕ, більш обґрунтовано припустити, що основною причиною накопичення ЛФХ у серці старих тварин є обмеження швидкості реакціювання лізофосфатидів у серці. Слід зауважити, що формування дефіциту в забезпеченні міокарда макроергічними фосфатами при старінні може лежати і в основі зниження частки ФХ у фосфоліпідному спектрі міокарда. Це пов'язано з енергозалежним характером основних шляхів біосинтезу цього фосфоліпиду, в тому числі процесу метилювання ФЕ.

При стресі у тварин обох вікових груп виникали односпрямовані зміни з боку фосфоліпідної структури міокарда. Вони проявлялися різким зменшенням частки ФХ і ФЕ, а також накопиченням ЛФХ і фракції, яка містила у своєму складі фосфатидилсерин і фосфатидилінозитол (ФС + ФІ) (рис. 2).

Крім цього, за умов іммобілізації у тварин формувалися і деякі вікові відмінності в характері модифікації фосфоліпідної структури серця. Так, у дорослих щурів при іммобілізації відбувалося різке зменшення частки ФХ, а в старих – ФЕ у фосфоліпідному спектрі. Зростання вмісту фосфоліпідної фракції, яка містила у своєму складі ФС і ФІ, було більш значним у серці старих щурів, а ЛФХ – у дорослих тварин.

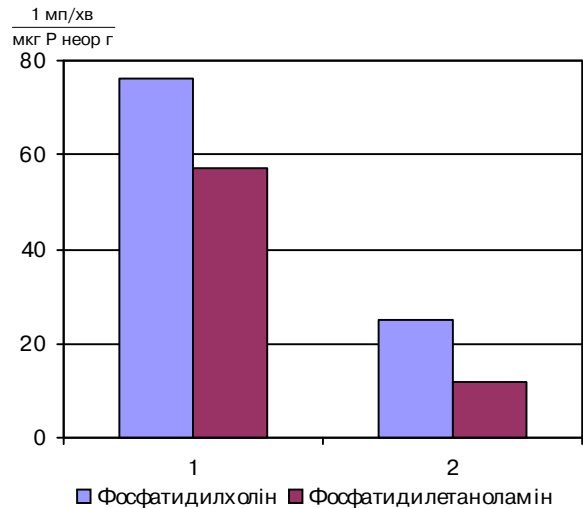


Рис. 3. Швидкість включення радіоактивної мітки з $1\text{-}^{14}\text{C}$ оцтовою кислотою до складу ФХ та ФЕ серця дорослих (1) і старих (2) щурів.

Оцінюючи причини появи змін, необхідно відзначити відомий факт стресової стимуляції ліполітичних процесів у серці, в тому числі активацію фосфоліпази A_2 [3]. З активацією цього ферменту в міокарді щурів при стресі може бути пов'язане зменшення вмісту в ньому ФХ, а також накопичення ЛФХ.

Певну роль у зниженні вмісту ФЕ в серці щурів при стресі, поряд зі стимуляцією процесу його часткового гідролізу фосфоліпазою A_2 , очевидно, відіграє і зменшення швидкості його біосинтезу. Важливе значення може мати гальмування фосфатидилсериндекарбоксилазної (ФСДК) реакції. Останнє підтверджується отриманими нами даними про збільшення частки фосфоліпідної фракції в міокарді, що містить у своєму складі ФС. Літературні дані про регуляторний ефект адреналіну на ФСДК [7] дозволяють припускати участь даного ферменту в механізмі посилення ефекту стресорного зниження ФЕ в серці старих тварин порівняно з дорослими.

Аналізуючи результати проведених досліджень, можна зробити висновок, що розвиток іммобілізаційного стресу в дорослих і старих щурів супроводжується формуванням характерного комплексу змін з боку фосфоліпідного складу гомогенатів серця. Його поява пов'язана з посиленням гідролізу фосфоліпідів фосфоліпазою A_2 і зниженням швидкості декарбоксилювання ФС у ФЕ в фосфатидилсериндекарбоксилазній реакції. Вікові відмінності при цьому зумовлені різницею в кількісних проявах зрушень, що виникають у дорослих і старих щурів. Їх поява, очевидно, зумовлена особливостями регуляції ліпідного обміну серця при старінні, пов'язаними насамперед зі зміною адренореактивності серця [17].

ВИСНОВКИ. 1. Старіння супроводжується модуляцією фосфоліпідної структури серця, причиною чого може бути поява вікових змін у фосфоліпідній організації мембран кардіоміоцитів.

2. Зміна складу ліпідного бішару клітинних мембран при старінні призводить до модифікації його фізико-хімічних властивостей [4, 8, 14], у результаті чого виникають умови для модуляції трансмембранного перенесення сиг-

налу в клітину і порушення нормального перебігу електрофізіологічних процесів на сарколемі [16].

3. Модуляція фосфоліпідної структури міокарда може бути одним із факторів зниження його адренореактивності при старінні. Водночас зміна адренореактивності набуває особливого значення при з'ясуванні характеру змін у фосфоліпідному складі серцевого м'яза за умов стресу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Биологические мембраны. Методы / под ред. Дж. Финделя, У. Эванза. – М. : Мир, 1990. – 424 с.
2. Кейтс М. Техника липидологии. – М. : Мир, 1975. – 282 с.
3. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф. З. Меерсон. – М. : Медицина, 1984. – 270 с.
4. Состав и свойства клеточных мембран тканей животных с разной продолжительностью жизни / О. К. Кульчицкий, Л. Н. Богацкая, Р. Н. Потапенко, В. Е. Сабко // Продолжительность жизни. – К., 1991. – С. 71–72.
5. Фролькис В. В. Старение и увеличение продолжительности жизни / В. В. Фролькис. – Л. : Наука, 1988. – 239 с.
6. Фролькис В. В. Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы / В. В. Фролькис, В. В. Безруков, О. К. Кульчицкий. – К. : Наук. думка, 1994. – 320 с.
7. Якушев В. С. Влияние адреналина и ацетилхолина на активность фосфатидилсериндекарбоксилазы сердца / В. С. Якушев, В. В. Давыдов // Фармакол. и токсикол. – 1985. – № 3. – С. 45–46.
8. Biochemical changes of rat brain membrane with ageing / G. Caldorini, C. Bonetti, A. Battistella [et al.] // Neurochem. Res. – 1983 – **8**, № 4. – P. 483–492.
9. Davydov V. V. Adenine nucleotide and creatine phosphate pool adult and old rat in heart during immobilization stress / V. V. Davydov, V. N. Shvets // Gerontology. – 2002. – **48**. – P. 81–83.
10. Davydov V. V. Age-dependent differences in the stimulation of lipid peroxidation in the heart of rats during immobilization stress / V. V. Davydov, V. N. Shvets // Exp. Gerontol. – 2003. – **38**, № 6. – P. 693–698.
11. Lowry O. Protein measurement with the Pholin phenol reagent / O. Lowry, K. I. Resebrought, A. L. Farr // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265–275.
12. Martin I. Oxidative damage and age-related functional declines / I. Martin, M. S. Grotewiel // Mech. Ageing Dev. – 2006. – **127**, № 5. – P. 411–423.
13. Mitochondrial biogenesis and healthy aging / G. Lopez-Luch, P. M. Irusta, P. Navas, R. de Cabo // Exp. Gerontol. – 2008. – **43**, № 9. – P. 813–819.
14. Pepe S. Dietary polyunsaturated fatty acids and age-related membranes / S. Pepe // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2007. – **1114**. – P. 381–388.
15. Sahin E. Immobilization stress in rat tissues: alteration of protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system / E. Sahin, S. Gumuslu // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2007. – **144**, № 4. – P. 324–347.
16. Susceptibility to ventricular arrhythmias in aged heart / S. Rossi, S. Baruffi, A. Bertuzzi [et al.] // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. – 2007. – № 1. – P. 410–414.
17. Weiss B. Modulation of adrenergic receptors during aging / B. Weiss // Neurobiol. Aging. – 1988. – **9**, № 1. – P. 61–62.

ФОСФОЛИПИДНИЙ СОСТАВ ГОМОГЕНАТА СЕРДЦА ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС И ОСОБЕННОСТИ ЕГО МОДУЛЯЦИИ ПРИ СТРЕССЕ

Резюме

Целью работы было изучить фосфолипидный состав гомогенатов сердца взрослых и старых крыс, а также установить возрастные особенности его модуляции при иммобилизационном стрессе. Проведенные исследования показали, что развитие иммобилизационного стресса у взрослых и старых крыс сопровождается формированием характерного комплекса изменений со стороны фосфолипидного состава гомогенатов сердца. Его появление обусловлено усилением гидролиза фосфолипидов фосфолипазой A_2 и снижением скорости декарбоксилирования фосфатидилсерина в фосфатидилэтаноламин в фосфатидилсериндекарбоксилазной реакции. Возрастные различия при этом заключаются в количественных проявлениях возникающих сдвигов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **фосфолипидный спектр, фосфатидилсеринкарбоксилазная реакция, старение, миокард, иммобилизационный стресс.**

V. M. Shvets
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF THE HEART HOMOGENATE OF THE ADULT AND OLD RATS, AND PECULIARITIES OF ITS MODULATION UNDER STRESS

Summary

The aim of the work was to study the phospholipids composition of the heart homogenates of adult and old rats, and to determine its age-modulation under the immobilization stress. Studies showed that the development of immobilization stress in adult and rats is accompanied by the formation of the characteristic complex of changes in the phospholipids composition of the heart homogenates. Its appearance is due to increased hydrolysis of phospholipids by phospholipase A_2 and a decrease in the rate of decarboxylation of PS in PE in the phosphatidylserine carboxylic reaction. Age differences are about the quantity changes of the occurring shifts.

KEY WORDS: **phospholipids composition, phosphatidylserine carboxylic reaction, ageing, myocardium, immobilization stress.**

Отримано 22.05.13

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

ВПЛИВ ГАПТОГЛОБІНУ НА КИСНЕЗВ'ЯЗУВАЛЬНІ ТА НІТРИТРЕДУКТАЗНІ ВЛАСТИВОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ

У модельних дослідженнях показано вплив білка плазми крові гаптоглобіну на киснезв'язувальні та нітритредуктазні властивості гемоглобіну. Встановлено, що комплекс гаптоглобіну з гемоглобіном (Hr-Hb) за рахунок певних конформаційних перебудов набуває властивості легше зв'язувати кисень поза еритроцитами, ніж вільний гемоглобін, а також утворений комплекс має менші нітритредуктазні властивості, ніж вільний гемоглобін. Таким чином, імовірно, комплекс Hr-Hb запобігає утворенню надлишкової кількості NO і тим самим зменшує можливість активації процесів ліпопероксидації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кров, плазма, гаптоглобін, гемоглобін, комплекс гаптоглобін-гемоглобін (Hr-Hb).

ВСТУП. У формуванні неспецифічної реактивності організму суттєву участь беруть білки "гострої фази". Серед них одне із центральних місць займають глікопротеїни, які продукуються печінкою та низкою інших органів і циркулюють у кров'яному руслі.

Зростання концентрації цих сполук спостерігають при різних патологічних станах, зокрема при інфекційних захворюваннях, неопластичних, аутоімунних процесах тощо. Дані білки характеризуються значною поліфункціональністю, що, очевидно, пов'язано як з їх складною будовою, так і з впливом, який вони проявляють при різних функціональних або патологічних станах організму.

Одним із таких глікопротеїнів є гаптоглобін (Hr). Молекула Hr містить близько 83 % білкового компонента і 20 % – вуглеводного. Кількісне визначення небілкового компонента гаптоглобіну показало наявність приблизно 5,1 % N-ацетилнейрамінової кислоти, 5,4 % глюкозаміну, 1 % фукози і по 8,5 % галактози та манози [1, 25].

Методом електрофорезу в поліакриламідному або крохмальному гелі розрізняють такі фенотипи: Hr 1-1 хімічно однорідний (інші типи Hr є неоднорідними). Цей фенотип характеризується одною широкою смугою, яка розташована у початковій зоні α_2 -глобулінів, має молекулярну масу 99 000 Да; Hr 2-2 представлений комплексом із 4-5 вузьких смуг, що згруповані поблизу старту, має молеку-

лярну масу приблизно 160 000 Да; Hr 2-1 характеризується слабовираженою смугою, що аналогічна фенотипу 1-1, комплексом із 4-5 вузьких смуг поблизу старту, які дещо відрізняються за рухливістю від смуг фенотипу 2-2, і ще одною чіткою смугою (гібридною), що розташовується між першою та останньою смугами [16, 17, 23].

Виявлено, що Hr 1-1 – монодисперсний білок, а Hr 2-1 і Hr 2-2 циркулюють у крові у вигляді системи полімерів. Він складається з поліпептидів двох типів – α і β , які відрізняються за молекулярною масою. Така будова характерна для Hr усіх досліджуваних видів ссавців, включаючи людину. Специфічною властивістю гаптоглобіну є його здатність зв'язувати позаеритроцитарний гемоглобін (Hb) у стабільний комплекс [23].

У молекулі гаптоглобіну є дві ділянки, з кожною з яких зв'язується по одному $\alpha\beta$ -димеру гемоглобіну. Гемоглобінозв'язувальний центр гаптоглобіну розташований на його β -ланцюзі, й цей поліпептид утворює з гемоглобіном комплекс β -Hb, а α -ланцюг не утворює. Додавання α -ланцюга до комплексу β -Hb утворює функціонально активний комплекс. Отже, гемоглобін не заважає зв'язуванню β -ланцюга гаптоглобіну з α -поліпептидом, і цей α -ланцюг, очевидно, не відіграє суттєвої ролі в утворенні комплексу Hr-Hb [15, 19].

Зв'язування гаптоглобіну та гемоглобіну в стабільний комплекс, імовірно, викликає деякі зміни структури і властивостей цих білків

у результаті взаємного впливу молекул. Зокрема, властивості гемоглобіну, що входить до складу даного комплексу, відрізняються від того, який не входить до складу комплексу, наприклад, за реактивністю гему. Апогемоглобін здатний зв'язувати чотири еквіваленти гему, майже повністю відновлюючись до гемоглобіну, а комплекс Нр-апоНб зовсім не зв'язує гем [14, 24].

Серед переносників O_2 провідна роль належить Нб еритроцитів крові. Цей унікальний гемопротеїн є поліфункціональною молекулою. Достатньо вивчено такі функції Нб, як: транспортна – перенесення O_2 , CO_2 , оксиду азоту, регуляція кислотно-лужної рівноваги, монооксигеназна, пероксидазна, каталазна активності [3, 5–7, 10]. Особлива роль належить білок-білковим взаємодіям. Важливими у цьому відношенні є білки “гострої фази” і серед них гаптоглобін. Зростання концентрації гаптоглобіну в крові може призводити до зміни функції інших білків та, відповідно, метаболічних процесів [1, 2, 4].

Метою наших досліджень було вивчити вплив гаптоглобіну на киснезв'язувальні та нітритредуктазні властивості позаеритроцитарного гемоглобіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для модельних досліджень було використано кров практично здорових осіб віком 35–65 років, отриману в Центральній станції переливання крові м. Львова. Кров транспортували в лабораторію кафедри біохімії в спеціальному термостатованому посуді з наявністю охолоджувального реагенту при температурі $4\text{ }^\circ\text{C}$. Дослідження було проведено в день отримання матеріалу.

Кров брали натще з ліктьової вени, як антикоагулянт використовували 3,8 % цитрат натрію. Для досліджень застосовували гаптоглобін фірми “Fluka” (Швейцарія) типу 2-1. Показник P_{50} (парціальний тиск кисню, що відповідає 50 % насиченню оксигемоглобіну), за яким оцінювали спорідненість гемоглобіну до кисню (СГК), визначали методом змішування та коригування [22].

Побудову кривих дисоціації оксигемоглобіну гемолізатів еритроцитів здійснювали модифікованим спектрофотометричним методом, використовуючи гемолізати еритроцитів, тричі промитих фізіологічним розчином. Криві дисоціації кисню (КДК) будували в координатах pO_2 (мм рт. ст.) і ступеня насичення Нб киснем (HbO_2 , %) при визначеному pO_2 , застосовуючи дані спектрофотометрії розчинів Нб з різним ступенем оксигенації [12].

При вивченні впливу гаптоглобіну на киснезв'язувальні властивості гемоглобіну в інкубаційну суміш вносили 0,5 мг Нр із розрахунку на 1 мл інкубаційної суміші, яка містила 0,5 мг Нб. Проводили інкубацію протягом 30 хв при $37\text{ }^\circ\text{C}$.

Дослідження нітритредуктазної активності дезоксигемоглобіну проводили таким чином. До відновленого шляхом десатурації гемоглобіну, розчиненого в К-На-фосфатному буфері (рН 7,36), у сатуратор із пристроєм для введення реагентів у безкисневих умовах, додавали 0,3 мл розчину $NaNO_2$ (0,26 ммоль/л), фіксували спектрофотометрично при 480 нм швидкість переходу дезоксигемоглобіну в нітрозозформу. Аналогічно визначали вплив гаптоглобіну на процес переходу дезоксигемоглобіну в нітрозозформу [9].

Отримані результати статистично оброблено за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені нами модельні дослідження показали, що при взаємодії Нб з Нр має місце зсув вліво (рис. 1) кривої оксигенації (P_{50}) гемоглобіну людини, яка в контролі становила $(26,64 \pm 0,63)$ мм рт. ст., а при утворенні комплексу з Нр – $(18,43 \pm 0,65)$ мм рт. ст.

Ці дані свідчать про те, що при утворенні комплексу Нр-Нб спорідненість гемоглобіну до кисню зростає.

Як видно з рисунка 1, хід кривої оксигенації у координатах pO_2 – % HbO_2 характеризується більшою крутизною в ділянці нижньої інфлексії. Верхня інфлексія кривої розміщується лівіше порівняно з вільним гемоглобіном.

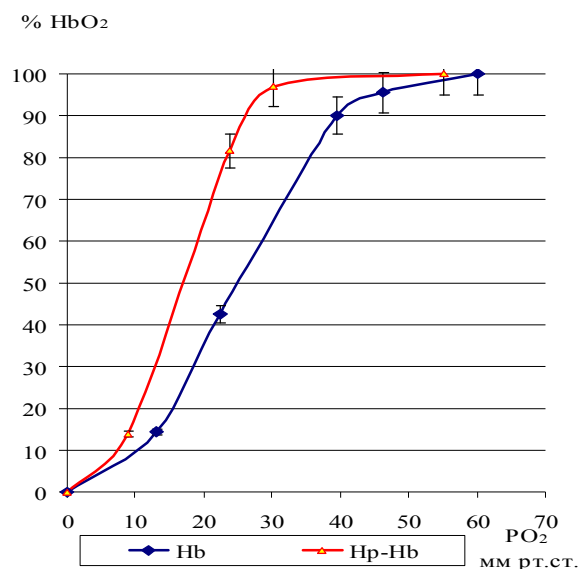


Рис. 1. Крива оксигенації вільного гемоглобіну та в комплексі з гаптоглобіном ($p < 0,05$ порівняно з Нб, $n=5$).

Крива наближається до гіперболічної форми, що свідчить про зменшення ступеня кооперативності та коефіцієнта Хілла. Збільшення спорідненості Hb до O₂ за присутності гаптоглобіну вказує на сповільнення процесів конформаційних переходів у молекулі гемоглобіну, зумовлених приєднанням H_r.

Цей ефект (гальмування) зумовлений послабленням процесу мобільної внутрішньомолекулярної перебудови зв'язків між поліпептидними ланцюгами молекули гемоглобіну.

Зв'язування гаптоглобіну і гемоглобіну в стабільний комплекс, очевидно, викликало деякі зміни структури і властивостей цих білків у результаті взаємного впливу молекул. Зокрема, властивості гемоглобіну, що входить до складу даного комплексу, відрізняються від того, який не входить до складу комплексу, наприклад, за реактивністю гем. Апогемоглобін здатний зв'язувати чотири еквіваленти гем, відновлюючись до гемоглобіну, а комплекс H_r-апоHb зовсім не зв'язує гем. Комплекс H_r-Hb дає диференційний спектр у зоні λ 453–713 нм. Наявність смуг при λ 500 і 630 нм у диференційному спектрі вказує на перехід молекули гемоглобіну з R-структури в T-структуру. В оксигемоглобіну такий перехід R→T спостерігають при відщепленні кисню та утворенні дезоксигемоглобіну [1]. Проте комплекс гаптоглобіну з гемоглобіном проявляє вищу спорідненість до кисню, і перехід молекули з R- у T-структуру, очевидно, відбувається завдяки внутрішньомолекулярним ефектам. Важливу роль при цьому відіграє зміна конформації глобінової частини молекули гемоглобіну під впливом гаптоглобіну.

Таким чином, зв'язування молекули гаптоглобіну з молекулою гемоглобіну має вплив, подібний до дезоксигенування Hb, при цьому спостерігають подібні конформаційні зміни. У результаті даних перебудов утворений комплекс набуває властивості легше приєднувати й утримувати кисень і таким чином впливати на окисно-відновні процеси в крові, відіграючи роль їх регулятора.

Враховуючи те, що Hb є не тільки білком, що здійснює функцію транспортера кисню до тканин, але також бере участь в інших процесах (оксидазних, монооксигеназних, пероксидазних), було досліджено нітритредуктазні властивості Hb та їх зміни за умов утворення комплексу H_r-Hb.

Метаболічні ефекти NO реалізуються як на внутрішньоклітинному, так і на системних рівнях організації багатоклітинних організмів. До цих ефектів належить вплив NO на рівень забезпеченості тканин та органів киснем. З

огляду на те, що спорідненість NO до гемоглобіну в 8000 разів більша, ніж у O₂, оксид азоту, при фізіологічних концентраціях, робить свій внесок у формування киснезв'язувальних властивостей гемоглобіну за рахунок утворення метгемоглобіну, S-нітрозогемоглобіну та нітрозилгемоглобіну. У зв'язку з цим, значного поширення набуває концепція дихального циклу як системи трьох газів – O₂/CO₂/NO [8, 18]. Водночас S-нітрозогемоглобін, який, за словами М. Перутца, є "буфером NO" [21], здійснює транспорт NO до тканин від місця його синтезу. За високого рівня NO (≥2–4 мкМ) проявляються його цитотоксичні ефекти. Зокрема, змінюється спорідненість кисню до гемоглобіну внаслідок зміни співвідношення дериватів гемоглобіну та підвищення інтенсивності процесів нітрозилування, при цьому зсув кривої дисоціації гемоглобіну вправо викликає активацію процесів вільнорадикального окиснення, ліпопероксидації, окисної модифікації білків [13].

Одним із важливих моментів є участь NO в оксидативному стресі. Зв'язування NO із супероксиданіоном призводить до утворення пероксинітриду, що є досить стабільною молекулою ($\tau_{1/2} \approx 1$ с), і саме він опосередковано, через гідроксильний радикал, викликає пошкодження клітинних та субклітинних структур [20].

Суттєву роль відіграє також зв'язування позаеритроцитарного гемоглобіну з більшими лігандами, зокрема такими, як гаптоглобін, оскільки утворений комплекс ефективніше зв'язує кисень.

Таким чином, регуляція комплексом H_r-Hb метаболізму оксиду азоту та його похідних має важливе значення, оскільки регулюючи ці процеси, комплекс впливає на антиоксидантний статус організму.

Проведені нами дослідження свідчать про зниження нітритредуктазної активності комплексу H_r-Hb *in vitro* порівняно з позаеритроцитарним гемоглобіном.

Результати дослідження кінетики перетворення NO₂⁻ на NO позаеритроцитарним гемоглобіном та в комплексі з гаптоглобіном показано на рисунку 2.

Як видно з наведених результатів, на першій хвилині при проходженні нітритредуктазної реакції з гемоглобіном спостерігають більшу активність, про що свідчить ΔE, яка, відповідно, складає 0,0276±0,00365 (p≤0,05), суттєво меншу швидкість відзначають при реакції з комплексом H_r-Hb – 0,0178±0,00327 (p≤0,05).

Аналогічні зміни швидкості нітритредуктазної активності спостерігають, відповідно, на 2, 3, 4, 5 та 6 хвилинах. Крім того, на 5 і 6 хви-

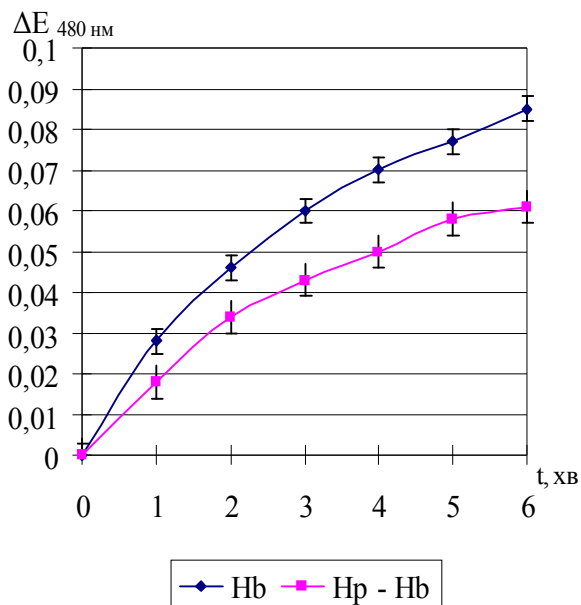


Рис. 2. Нітритредуктазна реакція комплексу Hb-Hp. ($p \leq 0,05$ порівняно з Hb, $n=5$).

линах показники з комплексу Hb-Hp виходять на плато, а при вільному гемоглобіні реакція активно відбувається далі. Отримані результати свідчать про те, що розчини гемоглобіну (гемолізати), інкубованого з гаптоглобіном, проявляють відносно меншу нітритредуктазну активність.

Хоч, за даними окремих авторів [10, 11], дезоксигемоглобін характеризується більшою нітритредуктазною властивістю, ніж оксигемоглобін, проте, очевидно, в комплексі з гапто-

глобіном важливе значення має його здатність до знешкодження продуктів пероксидного окиснення та депонування NO.

Встановлена В. П. Реутовим та співавторами здатність дезоксигемоглобіну (Hb) за відсутності O_2 відновлювати нітрит-аніон (NO_2^-) до NO відкриває важливу функціональну роль гемічної компоненти крові. За рахунок нітритредуктазної активності Hb здійснює низку перетворень продуктів метаболізму NO в єдиний цикл [10, 11]. Враховуючи те, що у тканинах присутні ізоферменти NO-синтаз, у результаті функціонування яких утворюється оксид азоту в тканинах, відповідно, в крові є низка чинників, зокрема комплекс Hb-Hp, який, маючи меншу нітритредуктазну здатність, ніж вільний гемоглобін, може на рівні цілісного організму регулювати перетворення оксиду азоту.

ВИСНОВКИ. Отже, результати досліджень вказують на те, що позаеритроцитарний гемоглобін здійснює ряд важливих функцій:

1. Комплекс Hb-Hp за рахунок певних конформаційних перебудов набуває властивості легше зв'язувати кисень поза еритроцитами, ніж вільний гемоглобін.

2. Утворений комплекс має менші нітритредуктазні властивості, ніж вільний гемоглобін, і, таким чином, імовірно, запобігає утворенню надлишкової кількості NO й тим самим попереджує ініціацію процесів ліпопероксидації.

3. Комплекс Hb-Hp, очевидно, бере участь у депонуванні NO.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бейсембаева Р. У. Гаптоглобін: Структура, свойства и роль в организме позвоночных / Р. У. Бейсембаева // Усп. соврем. биологии. – 1984. – **98**, вып. 3 (6). – С. 409–425.

2. Брюханова Э. В. Влияние гаптоглобина на способность гемоглобина разлагать перекись водорода с образованием свободных радикалов / Э. В. Брюханова, А. Н. Осипов, Ю. А. Владимиров // Пульмонология. – 1995. – **5**, № 1. – С. 56–59.

3. Взаимоотношения сродства гемоглобина к кислороду и перекисного окисления липидов при лихорадке / М. В. Борисюк, В. В. Зинчук, В. Н. Корнейчик [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – **114**, № 7. – С. 27–30.

4. Гаптоглобін сироватки крові при захворюванні раком легень / І. П. Федорович, М. Ф. Тимочко, Ю. М. Федевич [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 1995. – **67**, № 2. – С. 103–105.

5. Гемический компонент системы транспорта кислорода в регуляции процессов перекисного окисления липидов / М. В. Борисюк, В. Н. Корнейчик, А. В. Рожко [и др.] // Система транспорта кислорода. – Гродно, 1989. – С. 6–13.

6. Зинчук В. В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при введении липополисахарида в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду и L-аргинин-NO-системы / В. В. Зинчук // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – **131**, № 1. – С. 39–42.

7. Коробов В. М. Вплив гіпоксичної гіпоксії на кисеньзв'язувальні властивості гемоглобінів щурів і напівводних амніот / В. М. Коробов // Експерим. та клін. фізіол. і біохім. – 2001. – № 1. – С. 38–40.
8. Коробов В. М. Роль оксиду азоту в регуляції транспорту газів / В. М. Коробов // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 4. – С. 13–18.
9. Пат. 4914972 Україна, B01L3/00. Пристрій для визначення кисневодисоціаційних кривих міоглобінів / Федорович І. П., Коробов В. М. (Україна); 15866 С1; заявник і патентовласник Львів. держ. мед. ін-т. – № G01N33/48; заявл. 20.12.91; опубл. 30.06.97.
10. Реутов В. П. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина // Биохимия. – 1998. – **63**, вып. 7. – С. 1029–1040.
11. Реутов В. П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов // Усп. биол. хим. – 1995. – **35**. – С. 189–228.
12. Струбицкий И. В. Определение кислородсвязывающих кривых гемоглобина методом спектрофотометрии / И. В. Струбицкий, В. Н. Коробов, Р. В. Алексевич // Лаб. дело. – 1988. – № 12. – С. 11–13.
13. Borisiuk M. V. Analysis of the relationship between hemoglobin-oxygen affinity and lipid peroxidation during fever / M. V. Borisiuk, V. V. Zinchuk // Acta Bioch. Pol. – 1995. – **42**, № 1. – P. 69–74.
14. Dvorankova B. The conformation changes of haemoglobin on its haptoglobin / B. Dvorankova, Z. Pavlicek // Coll. Czech. Chem. Commun. – 1981. – **46**, № 5. – P. 1288–1295.
15. Haptoglobin heavy and light chains. Structural properties reassembly and formation of minicomplex with haptoglobin / I. Vallette, M. Waks, J. C. Weijman [et al.] // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 2. – P. 672–679.
16. Hever O. Hemoglobin binding capacity of heat incubated sera of different haptoglobin subtypes / O. Hever // Experientia. – 1977. – **33**, № 5. – P. 599–600.
17. Hooper D. C. Determination of the subunit composition of haptoglobin 2-1 polymers using quantitative densitometry of polyacrylamide gels / D. C. Hooper, A. C. Peacock // J. Biol. Chem. – 1976. – **251**, № 19. – P. 5845–5851.
18. Kosaka H. Physiological role of NO as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues / H. Kosaka, A. Seiyama // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1996. – **218**, № 3. – P. 749–752.
19. Makinen M. W. Circular dichroism and electron paramagnetic resonance of the haptoglobin – hemoglobin complex / M. W. Makinen, H. Kon // Biochemistry. – 1971. – **10**, № 1. – P. 43–52.
20. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // Physiol. Rev. – 2007. – **87**(1). – P. 315–424.
21. Perutz M. F. Blood. Taking the pressure off / M. F. Perutz // Nature. – 1996. – **380**, № 6571. – P. 205–206.
22. Severinghaus J. W. Blood gas calculator / J. W. Severinghaus // J. Appl. Physiol. – 1966. – **21**, № 5. – P. 1108–1116.
23. Subunit compositions of haptoglobin 2-2 polymers / G. M. Fuller, M. A. Rasco, M. L. Mc Combs [et al.] // Biochemistry. – 1973. – **12**, № 2. – P. 253–258.
24. Tsapis A. Studies on the subunit dissociation of deoxyhemoglobin using hemoglobin – haptoglobin interaction / A. Tsapis, J. Thillet, J. Rosa // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1978. – **85**, № 1. – P. 511–516.
25. Waks M. The association equilibrium between haptoglobin and apohemoglobin / M. Waks, M. Rogard, N. Cittanova // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1978. – **80**, № 1. – P. 252–258.

Ю. М. Федевич

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ВЛИЯНИЕ ГАПТОГЛОБИНА НА КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ И НИТРИТРЕДУКТАЗНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОГЛОБИНА

Резюме

В модельных исследованиях показано влияние белка плазмы крови гаптоглобина на кислородсвязывающие и нитритредуктазные свойства гемоглобина. Установлено, что комплекс гаптоглобина с гемоглобином (H_р-H_б) за счет определенных конформационных перестроек приобретает свойства легче связывать кислород вне эритроцитов, чем свободный гемоглобин, а также образованный комплекс обладает меньшими нитритредуктазными свойствами, чем свободный гемоглобин. Таким образом, вероятно, комплекс

Hp-Hb предотвращает образование избыточного количества *NO* и тем самым уменьшает возможность активации процессов липопероксидации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **кровь, плазма, гаптоглобин, гемоглобин, комплекс гаптоглобин-гемоглобин (Hp-Hb).**

Yu. M. Fedevych

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF HAPTOGLOBIN ON OXYGEN-BINDING AND NITRITE REDUCTASE CAPACITIES OF HEMOGLOBIN

Summary

Model experiments demonstrated the influence of the blood plasma protein haptoglobin on oxygen-binding and nitrite reductase capacities of hemoglobin. It was found that owing to the particular conformation transformations the complex of haptoglobin with hemoglobin (Hp-Hb) acquires the capacity to bind oxygen away from erythrocytes more efficiently than free hemoglobin. It was also established that the complex formed has lower nitrite reductase capacities than free hemoglobin. Thus, it is possible that the complex (Hp-Hb) prevents formation of an excessive amount of NO and lowers the possibility of activation of lipoperoxidation processes.

KEY WORDS: **blood, plasma, haptoglobin, hemoglobin, haptoglobin – hemoglobin complex (Hp-Hb).**

Отримано 28.05.13

Адреса для листування: Ю. М. Федевич, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

МОДУЛЯЦІЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТІ ЦИСПЛАТИНУ КЛАСТЕРНИМИ СПОЛУКАМИ РЕНІЮ(III) У МОДЕЛІ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

Введення сполуки ренію з ізобутиратними лігандами, розташованими в цис-положенні навколо почверного зв'язку, призводило до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та зниження активації ферментативних процесів тканин печінки в моделі канцерогенезу та за умов введення цисплатину. Сполука $Re_{cisobyt}$ проявила більш ефективні властивості до модуляції гепатотоксичної дії цисплатину, ніж аналогічна сполука ренію з адамантільними лігандами. Вперше вивчено вміст відновленого глутатіону в клітинах печінки та плазмі крові щурів-пухлиноносіїв при введенні системи реній-платина і запропоновано приблизну схему, що пояснює можливу роль глутатіонової системи у прояві гепатопротекторних властивостей сполук з почверним зв'язком.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **модуляція, гепатотоксичність, цисплатин, кластерні сполуки ренію(III).**

ВСТУП. У наших попередніх роботах [2] показано гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію(III) з органічними лігандами (КРОЛ) у моделях канцерогенезу та токсичного гепатиту. Було випробувано КРОЛ тетракарбоксилатного, тетрафосфатного та цис-дикарбоксилатного типів. У ряді сполук КРОЛ структурного типу цис-дикарбоксилатів визначено сполуку з адамантільними лігандами, що проявляла надзвичайно значні гепатопротекторні властивості, що пояснювалось саме властивостями каркасних лігандів стереїдного типу. Проте існує й інша точка зору щодо пояснення цього явища – унікальні властивості почверного зв'язку як пастки радикалів, які виявляють *in vivo* незалежно або разом із властивостями органічного радикала. Отже, пошук гепатопротекторів у ряді цис-дикарбоксилатів є перспективним напрямком досліджень. Відомо, що система глутатіонового захисту є однією з найважливіших стратегій знешкодження небезпечних радикальних вибухів [6, 13, 23], що супроводжують цисплатинову терапію і канцерогенну дію в печінці [10, 12, 15–18, 24, 26]. Глутатіонову антиоксидантну ланку в печінці не досліджували у моделі канцерогенезу та при застосуванні протипухлинної системи реній-платина (система Re–Pt).

Отже, метою роботи було вивчити можливий гепатопротекторний вплив кластерної сполуки ренію цис-дикарбоксилатного ряду з

ізобутирільними лігандами при використанні системи Re–Pt у моделі канцерогенезу щурів та з'ясувати питання про участь даної системи в механізмі гепатопротекції.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчали сполуку цис-діізобутиратодиреній(III)тетрахлорид – $(Re_{cisobyt})$ – цис $Re_2(iC_3H_7COO)_2Cl_4$, синтезовану на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету (м. Дніпропетровськ, Україна) [5].

Експеримент з вивчення протипухлинної активності КРОЛ проводили на щурах лінії Вістар масою 100–150 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Маніпуляції зі щурами виконували відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (м. Страсбург, 1986). Карцинома Герена Т8 – типова епітеліальна солідна пухлина з ефективністю перевивання у 75 % та без випадків спонтанного розсмоктування. Чутливість цієї пухлини до відомих протипухлинних засобів дозволяє використовувати її при доборі та випробуванні нових хімотерапевтичних агентів. Донорами ракових клітин були щури-пухлиноносії, яких придбали в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України безпосередньо до трансплантації. Донора з двотижневою пухлиною (діаметром 40–45 мм) забивали, вилучали пухлину. Транс-

плантацію карциноми Герена Т8 здійснювали методом підшкірного введення в ділянку стегна задньої кінцівки 0,5 мл 20 % суспензії клітин пухлини у фізіологічному розчині. Цисплатин (сPt) вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9 добу після трансплантації пухлини. Сполуки ренію вводили за схемою антиоксидантної терапії 10 разів, починаючи з 3 доби після перевивання пухлини з інтервалом в 1 добу, в кількості 7 мкмоль/кг маси тварини, як описано в [4].

Тварин було поділено на п'ять груп (по 15 щурів у кожній): 1-ша – інтактні тварини (контроль); 2-га – тварини з карциномою Герена Т8; 3-тя – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у вигляді розчину за схемою [22]; 4-та – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили систему Re–Pt як одноразове введення цисплатину в дозі 8 мг/кг на 9 добу та сполук ренію в наноліпосомній формі, починаючи з 3 доби після трансплантації ракових клітин з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби, у дозі 7 мкг/кг з кінцевим молярним співвідношенням введених сполук ренію і платини 4:1 (Re+cPt) за схемою антиоксидантної терапії (спосіб 2) [21] ($[Re_{cisisobyt}]nl+cPt$); 5-та – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили систему Re–Pt, щурам-пухлиноносіям вводили також у вигляді змішаних наноліпосом (nl) розміром 10–100 нм, навантажених цисплатином та сполукою ренію у співвідношенні компонентів 4:1 (спосіб 3) ($[Re_{cisisobyt}+cPt]nl$ 4:1). Систему Re–Pt вводили внутрішньочеревно на 3 день після трансплантації пухлини з розрахунку 7 мкмоль/кг ренієвої сполуки десятикратно. На 21 день після трансплантації пухлини щурів декапітували під етерним наркозом.

Функцію печінки визначали за змінами активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ) і гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) з викорис-

танням стандартних лабораторних методик тест-наборів (“Реагент”, Україна, м. Дніпропетровськ) за методами [7, 19].

Рівень малонового діальдегіду (МДА) в плазмі та гомогенаті печінки визначали за методикою [1], глутатіону (GSH) – за [11].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили в Microsoft Excel із визначенням імовірних відмінностей з використанням t-критерію Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як розвиток новоутворення, так і введення сPt викликали явище гіперферментемії, тобто збільшення активності ферментів, як у плазмі крові, так і в тканині печінки (табл. 1).

Відомо, що під дією токсичних факторів, якими є канцерогенез та сPt, відбувається спочатку активація процесів трансамінування, фосфорилування, окиснення-відновлення тощо в клітинах печінки, а потім їх цитоліз із наступним вивільненням ферментів у кров [2, 12, 17, 26]. Найбільш чутливими до токсичних речовин є процеси трансамінування, про що свідчить суттєве зростання АлАТ і АсАТ у плазмі крові щурів-пухлиноносіїв. Слід відмітити, що введення сполуки $Re_{cisisobyt}$ у ліпосомній формі на фоні введення сPt знижувало як активацію біохімічних процесів у тканині печінки, так і цитолітичні процеси. Останнє можна пояснити мембраностабілізуювальною та антиоксидантною властивостями КРОЛ завдяки наявності в їх структурі почверного зв'язку [21]. Така властивість $Re_{cisisobyt}$ за своїми параметрами перевищує властивість свого попередньо вивченого аналога з адамантильними радикалами, особливо це стосується процесів вивільнення ЛДГ і ГГТ, рівень яких у плазмі крові зменшується набагато нижче контролю. Слід також відмітити, що введення $Re_{cisisobyt}$ більш вибірково впливає на активацію біохімічних процесів у тканині печінки (дані ферментативної активності у гомогенаті тканини). Особливо це

Таблиця 1 – Активність ферментів у плазмі крові й печінці щурів, % до контролю

Група	АлАТ, %		АсАТ, %		ГГТ, %		ЛДГ, %		ЛФ, %	
	плазма	гомогенат	плазма	гомогенат	плазма	гомогенат	плазма	гомогенат	плазма	гомогенат
Т8 (2-га група)	156*	246*	233*	312*	66*	150*	166*	127*	166*	72*
Т8+сPt (3-тя група)	242*	346*	248*	404*	118*	167*	505*	350*	188*	843*
Т8+[$Re_{cisisobyt}$]nl+cPt] (4-та група)	69#	153#	122#	235#	15#	60#	118#	82#	18#	331#
Т8+[$Re_{cisisobyt}$ +cPt]nl4:1 (5-та група)	80#	97#	93#	206#	4#	33#	83#	98#	14#	306#

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

1) * – достовірна різниця порівняно з контролем ($p<0,05$);

2) # – достовірна різниця порівняно з групою Т8+сPt ($p<0,05$).

стосується активності ГГТ, рівень якої знижується більше ніж у 4 рази. Оскільки ГГТ є ферментом глутатіонового циклу [9, 25], слід припустити, що дана сполука проявляє унікальні антиоксидантні властивості та впливає на процеси, пов'язані з біосинтезом глутатіону.

Введення наноліпосом змішаного складу, де цисплатин перебував у ліпосомній формі, теж призводило до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та вибірково процесів активації ферментів тканин печінки. Такий спосіб введення протипухлинної системи реній–платина з $Re_{cisobyt}$ також сприяв активному гальмуванню активності ГГТ, що було підставою розглянути здатність цієї сполуки до гальмування процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (табл. 2).

Розвиток новоутворення викликав значне підвищення (майже в 7 разів) інтенсивності процесу ПОЛ. Введення цисплатину, незважаючи на гальмування росту пухлини, також сприяло інтенсивності процесу порушення мембран печінки, що вважають однією з причин гепатотоксичності cPt [2, 8, 14, 20].

Введення щурам-пухлиноносцям сполуки Re_{cisob} різними способами гальмувало процес ПОЛ – у 13–16 разів у плазмі крові й у 2–2,5 раза у тканині печінки порівняно з тваринами 3-ї групи, яким вводили cPt. Це набагато перевищувало властивості сполуки з адамантильними радикалами, для якої ці параметри склали 4 та 1,2–1,3 відповідно [2]. Отже, заміна адамантильного ліганду на ізобутиратний у молекулі КРОЛ призводить до більш суттєвого гепатопротекторного ефекту щодо гасіння радикального процесу ПОЛ.

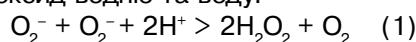
У таблиці 3 наведено рівні глутатіону в досліджених тканинах.

Як і слід було очікувати, введення $Re_{cisobyt}$ обома способами підвищувало рівень глутатіону як у плазмі крові, так і в тканині печінки

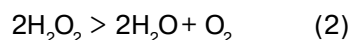
порівняно з цисплатиновою групою. Проте таке підвищення не досягало рівня контрольної групи.

Оскільки рівень глутатіону в тканині печінки досліджують уперше при застосуванні системи $Re-Pt$, не можна говорити про закономірності впливу почверного зв'язку на механізм дії глутатіонової системи печінки щурів. Проте ці дані дають нам можливість припустити такий каскад біохімічних реакцій у клітинах печінки з участю $Re_{cisobyt}$

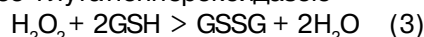
Супероксид-аніон O_2^- (активна форма кисню) бере участь в оксидативному стресі й активно перетворюється супероксиддисмутазою у пероксид водню та воду:



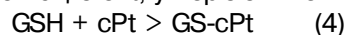
Пероксид водню розщеплюється каталазою:



або глутатіонпероксидазою



Тобто в клітинах печінки існує 2 шляхи для знешкодження пероксиду водню. Імовірно, сполука $Re_{cisobyt}$ взаємодіє з радикалами за типом супероксиддисмутазної, каталазної реакцій (1), (2) або й раніше із супероксид-аніоном O_2^- . Внаслідок цього реакція (3) гальмується субстратно – відсутністю пероксиду водню і глутатіон може здійснювати більш ефективну детоксикацію cPt, утворюючи кон'югат:



Отже, гальмування пероксидного стресу сполукою ренію призводить до більш інтенсивної детоксикаційної функції печінки пухлиноносців шляхом вивільнення глутатіону з глутатіонпероксидазної реакції.

Водночас гамма-глутаміловий цикл теж отримує додатковий субстрат (рис.).

ГГТ – єдиний відомий фермент, що розщеплює глутатіон і глутатіонові кон'югати. Активний центр ферменту міститься на зовнішній

Таблиця 2 – Рівень ТБК-активних продуктів плазми і гомогенату печінки щурів

Група	МДА в плазмі, ммоль/мл	МДА в печінці, ммоль/г
Контроль (1-ша група)	0,419±2,08	1,375±2,67
T8 (2-га група)	2,708±5,51*	2,500±5,05*
T8+cPt (3-тя група)	2,291±1,89*	1,750±2,12*
T8+[$Re_{cisobyt}$]n+cPt (4-та група)	0,143±0,005 [#]	0,932±1,97 [#]
T8+[$Re_{cisobyt}$]n+cPt4:1 (5-та група)	0,178±0,08 [#]	0,754±1,24 [#]

Таблиця 3 – Кількість відновленого глутатіону в плазмі й гомогенаті печінки щурів

Група	GSH у плазмі, мкмоль/л	GSH у печінці, мкмоль/кг
Контроль (1-ша група)	0,560±0,13	0,780±0,23
T8 (2-га група)	0,081±0,036*	0,068±0,004*
T8+cisPt (3-тя група)	0,212±0,095*	0,156±0,007*
T8+[$Re_{cisobyt}$]n+cisPt (4-та група)	0,231±0,028 [#]	0,135±0,048 [#]
T8+[$Re_{cisobyt}$]n+cisPt 4:1 (5-та група)	0,229±0,072 [#]	0,209±0,066 [#]

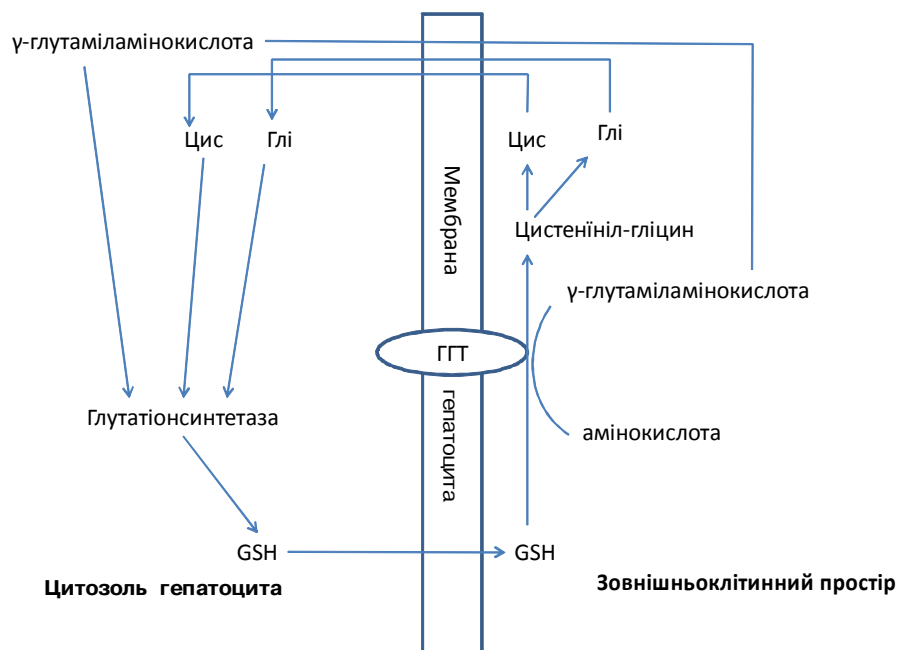


Рис. Гамма-глутаміловий цикл за [13] (скорочено).

мембрані клітини й активується завдяки збільшенню концентрації глутатіону, що відбувається внаслідок гальмування реакції (3). Водночас збільшується концентрація глутатіону в зовнішньоклітинному просторі, що ми спостерігаємо в експерименті при дослідженні рівня глутатіону в плазмі крові. Запропонована нами схема пояснює зниження активності ГГТ та концентрації глутатіону впливом Re, проте є гіпотетичною та вимагає додаткових досліджень.

ВИСНОВКИ. Введення сполуки ренію з ізобутиратними лігандами, розташованими в цис-положенні навколо почверного зв'язку, призводило до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та зниження активації фермен-

тативних процесів тканин печінки у моделі канцерогенезу та за умов введення цисплатину. Саме сполука $Re_{cisobyt}$ проявила більш ефективні властивості до модуляції гепатотоксичної дії цисплатину, ніж аналогічна сполука ренію з адамантильними лігандами. Вперше вивчено вміст відновленого глутатіону в клітинах печінки та плазмі крові щурів-пухлиноносіїв при введенні системи реній-платина та запропоновано приблизну схему, що пояснює можливу роль глутатіонові системи у гепатопротекторній функції сполук з почверним зв'язком. Сполуки ренію з почверним зв'язком є перспективними речовинами для медичної практики, які можна використовувати для гальмування радикальних вибухів у клітинах при різних патологічних станах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева // Лаб. дело. – 1988. – 2. – С. 41–43.
2. Івчук В. В. Вплив протипухлинної системи реній-платина на біохімічний стан печінки / В. В. Івчук // Укр. біохім. журн. – 2011. – 83, № 3. – С. 83–91.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособ. для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.
4. 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 / І. В. Леус. – К., 2012. – 21 с.

5. Синтез и свойства цис-тетрагалогено-дикарбоксилатных производных дирения(III) с адамантанкарбоновыми кислотами / А. В. Штеменко, А. А. Голыченко, И. Г. Семёнова, Я. С. Вербицкая // Вопр. химии и хим. технологии. – 2001. – № 4. – С. 31–34.

6. Blakley B. W. Strategies for prevention of toxicity caused by platinum-based chemotherapy / B. W. Blakley // Laryngoscope. – 2001. – 112. – P. 1997–2001.

7. Dawson J. M. Method of protein quantification Evidence for Photosensitivity / J. M. Dawson, P. L. Heatlic Lowry // *Anal. Biochem.* – 1984. – **140**, № 2. – P. 391–393.
8. Ellagic acid prevents cisplatin-induced oxidative stress in liver and heart tissue of rats / Y. Abdurrauf, Ahmet, O. C. Atessahin [et al.]. // *Dfsic. Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2007. – **101**. – P. 345–349.
9. Glutamyl Transpeptidase. What Does the Organization and Expression of a Multipromoter Gene Tell Us about its Functions? / W. Lieberman Michael, Roberto Barrios, Z. Bing [et al.] // *American Journal of Pathology.* – 1995. – **147**, № 5. – P. 1175–1185.
10. Iraz M. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester administration on Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin-induced oxidative damage to liver in rat / M. Iraz // *Cell. Biochem. Funct.* – 2006. – **24**. – P. 357–361.
11. Jaeschke H. Use of isolated perfused organs in hypoxia and ischemia/ reperfusion oxidant stress / H. Jaeschke, J. R. Mitchell // *Methods Enzymol.* – 1990. – **186**. – P. 752–759.
12. Koc A. Protective agent, erdosteine, against Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin-induced hepatic oxidant injury in rats / A. Koc // *Mol. Cell. Biochem.* – 2005. – **278**. – P. 79–84.
13. Leitao D. J. Quantification of sodium thiosulphate protection on Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin-induced toxicities / D. J. Leitao, B. W. Blakley // *J. Otolaryngol.* – 2003. – **32**. – P. 146–150.
14. Liposomal Forms of Rhenium Cluster Compounds: Enhancement of Biological Activity / N. I. Shtemenko, E. D. Zabitskaya, O. V. Berzenina [et al.] // *Chemistry&Biodiversity.* – 2008. – **5**. – P. 1660–1667.
15. Lu Y. Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin-induced hepatotoxicity is enhanced by elevated expression of cytochrome P450 2E1 / Y. Lu A. I. Cederbaum // *Toxicol. Sci.* – 2006. – **89**. – P. 515–523.
16. Mohamed Yousif Ibrahim. Attenuation of cisplatin-induced hepatotoxicity in rat using Zerumbone Mohamed Yousif Ibrahim // *Research Journal of Biological Sciences.* – 2009. – **4**, № 7. – P. 777–784.
17. Pratibha R. Enzymatic studies of Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats / R. Pratibha // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – **532**. – P. 290–293.
18. Rabik C. A. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents / C. A. Rabik, M. E. Dolan // *Cancer Treatment Rev.* – 2007. – **33**. – P. 9–23.
19. Reitman S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitman, S. Frankel // *Amer. J. Clin. Pathol.* – 1957. – **28**. – P. 56–63.
20. Shtemenko A. V. Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin / A. V. Shtemenko // *Dalton Trans.* – 2009. – **26**. – P. 5132–5136.
21. Shtemenko N. Dichlorotetra-mu-Isobutytratodirhenium(III): enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties / N. Shtemenko // *Anticancer Res.* – 2007. – **27**. – P. 2487–2492.
22. Taylor S. K. Erythropoietine (Erh-ipo) more than treatment of anemia in cancer and hemotherapy? / S. K. Taylor // *Medical Hypothesis.* – 2003. – № 1. – P. 89–93.
23. Visarus T. M. Pathways of glutathione metabolism and transport in isolated proximal tubular cells from rat kidney / T. M. Visarus // *Biochem. Pharmacol.* – 1996. – **52**. – P. 259–272.
24. Weijl N. I. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with Cisplatin 10 mg kg⁻¹ platin-based chemotherapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled study / N. I. Weijl // *Eur. J. Cancer.* – 2004. – **40**. – P. 1713–1723.
25. Wildefield J. B. Gamma Glutamyl Transferase / J. B. Wildefield // *Clinical Laboratory Sciences.* – 2001. – **38**, № 4. – P. 263–355.
26. Zorzi D. Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases / D. Zorzi // *Br. J. Surg.* – 2007. – **94**, № 3. – P. 86–95.

Е. С. Кулинич, О. А. Демшина, Н. И. Штеменко
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

МОДУЛЯЦИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ЦИСПЛАТИНА КЛАСТЕРНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ РЕНИЯ(III) В МОДЕЛИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Резюме

Введение соединения рения с изобутиратными лигандами, расположенными в цис-положении вокруг четвертичной связи, приводило к торможению процессов цитолиза клеток печени и снижению активации ферментативных процессов тканей печени в модели канцерогенеза и при введении цисплатина. Соединение $Re_{cisobut}$ проявило более эффективные свойства к модуляции гепатотоксического действия цисплатина, чем аналогичное соединение рения с адамантильными лигандами. Впервые изучено содержание глутатиона

в клетках печени и плазме крови крыс-опухоленосителей при введении системы рений–платина и предложено предположительную схему, объясняющую возможную роль глутатионовой системы в проявлении гепатопротекторных свойств соединений с четвертичной связью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **модуляция, гепатотоксичность, цисплатин, кластерные соединения рения(III).**

O. S. Kulinich, O. O. Dyomshyna, N. I. Shtemenko
OLES HONCHAR DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY

MODULATION OF CISPLATIN HEPATOTOXICITY USING CLUSTER COMPOUNDS OF RHENIUM(III) IN A MODEL OF CARCINOGENESIS

Summary

Introduction of compounds of Rhenium with isobutyrate ligands situated in cis-configuration around quadruple bond led to inhibition of cytolysis of liver cells and reduced activation of enzymatic processes of the liver tissue in a model of carcinogenesis. The compound with isobutyrate ligands showed more effective properties in modulation of cisplatin hepatotoxicity than the analogous rhenium compounds with adamantyl ligands. The Rhenium-Platinum were first studied glutathione content in the liver and blood plasma of tumor-bearing rats after introduction and possible role of glutation system in hepatoprotective function compounds quadruple bond was proposed.

KEY WORDS: **modulation, hepatotoxicity, cisplatin, cluster compounds of Rhenium(III).**

Отримано 15.03.13

Адреса для листування: О. О. Дьомшина, вул. Тополина, 17, кв. 6, Дніпропетровськ, 49040, Україна, e-mail: d.olga.1970@gmail.com

ПЕРЕБІГ ПАРОДОНТИТУ ПРИ ГІПОЕРГІЧНОМУ ТА ГІПЕРЕРГІЧНОМУ ТИПАХ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ НА ФОНІ АДРЕНАЛІНОВОЇ МІОКАРДІОПАТІЇ

Досліджено зміни пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи при гіпо- і гіперергічному типах запальної реакції в пародонті на фоні адреналінової міокардіопатії. Виявлено підвищення рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів та зниження активності антиоксидантної системи залежно від термінів експерименту і типу запальної реакції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний пародонтит, адреналінова міокардіопатія, типи запальної реакції, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

ВСТУП. Запальні захворювання пародонта на сьогодні є однією з основних причин порушень функціонального стану зубощелепної системи. Висока їх поширеність та значне “омолодіння” даної патології викликають підвищену увагу науковців до цієї проблеми. Особливо часто запалення пародонта поєднується з ураженнями серцево-судинної системи, які діагностують, згідно з результатами досліджень, майже в 93 % випадків [2, 3, 5, 8].

Відомо, що при виникненні запальних змін у тканинах пародонта одну з основних ролей відіграє порушення гомеостазу в системі прота антиоксидантів. Зважаючи на це, при дослідженні пародонтиту, поєданого з адреналіновою міокардіопатією, важливим є визначення показників діяльності даної системи, зокрема малонового діальдегіду (МДА), дієнових (ДК) та трієнових кон'югатів (ТК), супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ) [1, 5, 6, 7].

Метою даної роботи було дослідити стан пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи в пародонті при поєднанні пародонтиту й адреналінової міокардіопатії за гіпоергічного та гіперергічного типів запальної реакції.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 28 білих щурах масою 170–200 г, яких утримували у звичайних умовах та на стандартному раціоні віварію і в подальшому використовували в експерименті відповідно до науково-практичних рекомендацій з утри-

© І. Р. Мисула, І. О. Суховолець, 2013.

мання лабораторних тварин і роботи з ними [4]. Тварин поділили на дві групи: контрольну й основну. Основну групу поділили ще на три підгрупи залежно від термінів виведення з експерименту.

Пародонтит моделювали травматичним методом шляхом накладання шовкової лігатури на шийки нижніх зубів, попередньо порушивши зубоясенне з'єднання. На 7-му добу лігатуру видаляли (А. І. Воложин, С. І. Виноградова, 1991).

Типи запальної реакції моделювали за методикою В. Н. Сокрута (1992) та А. Г. Высоцкого (1993).

Гіпоергічний тип запальної реакції моделювали шляхом внутрішньом'язового введення алкілюючого цитостатика циклофосфану (10 мг/кг маси тіла) за 3 дні до моделювання експериментального пародонтиту і щоденно протягом 7-ми наступних днів. Гіперергічний тип запальної реакції моделювали шляхом внутрішньом'язового введення пірогеналу на фізіологічному розчині (5–10 мінімальних пірогенних доз на одну тварину) за день до моделювання експериментального пародонтиту і щоденно протягом 7-ми днів.

Адреналінове пошкодження міокарда моделювали на 7-му добу експерименту шляхом одноразового внутрішньочеревного введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату (“Дарниця”, Україна) з розрахунку 0,5 мг/кг маси тіла (О. О. Маркова, 1998).

Тварин виводили з експерименту через годину після моделювання адреналінової кар-

діоміопатії, на 3-тю і 7-му доби. Матеріалом дослідження був гомогенат пародонта, в якому визначали МДА (В. С. Конюхова, 1989), ДК і ТК (Волчегорський та співавт., 1989), КАТ (М. А. Королюк, 1988) та СОД (Чевари С. и др., 1985).

Статистичну обробку здійснювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Розрахунки проведено з використанням програми "STATISTICA-8".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні пародонта було виявлено достовірне підвищення рівня продуктів ПОЛ в обидвох групах тварин. Проте динаміка та інтенсивність цих змін відрізнялись залежно від типу запальної реакції. Так, дані таблиці 1 свідчать про те, що рівень МДА в групі тварин з гіпоергічним типом запалення на 1-шу годину експерименту зріс у 2,4 раза порівняно з контролем, на 3-тю добу – в 2,6 раза, на 7-му – майже в 5 разів.

Рівень ДК підвищився в 1,3 раза на 1-шу годину експерименту, в 1,4 раза – на 3-тю добу та в 1,8 раза – на 7-му.

Рівень ТК зріс в 1,4 раза на 1-шу годину дослідження порівняно з контрольною групою, в 1,5 раза – на 3-тю добу та в 1,8 раза – на 7-му.

У тварин з гіперергічним типом запалення ці показники були достовірно більшими, що свідчило про вищу активність ПОЛ як у крові тварин, так і в пародонті. Пік пошкодження зміщувався ближче до початку експерименту – на 3-тю добу, коли вміст продуктів ПОЛ у пародонті досліджуваних тварин був найвищим.

З даних таблиці 2 видно, що рівень МДА підвищився втричі уже на 1-шу годину експерименту порівняно з контрольною групою, в 4,8 раза – на 3-тю добу (що і було піком процесу) й у 4,3 раза – на 7-му порівняно з контролем.

Рівень ДК підвищився в 1,9 раза протягом 1-ї години дослідження, у 2,2 раза – на 3-тю добу експерименту та вдвічі – на 7-му.

Рівень ТК зріс в 1,8 раза на 1-шу годину експерименту порівняно з контролем, у 2,1 раза – на 3-тю добу та в 1,9 раза – на 7-му.

З отриманих результатів видно, що пародонтит, поєднаний з міокардіопатією, супроводжувався зростанням кількості продуктів ПОЛ у пародонті тварин. На величину змін істотно впливав тип запальної реакції.

Так, у тварин з гіперергічним типом запалення активність процесів ПОЛ була досить високою, а вміст усіх показників різко збільшився ще на 1-шу годину дослідження, досягаючи свого максимуму на 3-тю добу.

У тварин з гіпоергічним запаленням активність ПОЛ змінювалася повільніше, показники повільно зростали з 1-ї до 7-ї доби, і максимум цієї активності можна вважати 7-му добу.

Аналізуючи наведені дані, доцільно з'ясувати, як змінюється активність системи антиоксидантного захисту у відповідь на пошкодження. Для цього досліджували зміни активності СОД і КАТ. Досі було вивчено лише зміну їх активності у слині досліджуваних тварин, проте важливо з'ясувати, які зміни виникають власне у тканинах пародонта.

У тварин з гіпоергічним типом запальної реакції активність СОД, порівняно з контролем, зменшилася у 2,5 раза на 1-шу годину експерименту, вдвічі – на 3-тю добу та в 1,5 раза – на 7-му добу дослідження. Активність КАТ теж знижувалася від 1-ї години дослідження до 7-ї доби експерименту, проте значно меншою мірою. На 1-шу годину дослідження вона зменшилася в 1,7 раза, на 3-тю добу експерименту – в 1,4 раза, на 7-му – все ще залишалася досить низькою (табл. 3).

Зміни показників антиоксидантного захисту у тварин з гіперергічним типом запальної реакції (табл. 4) свідчать про деякий дисбаланс в її системі. Активність СОД на 1-шу годину

Таблиця 1 – Рівень МДА, ДК, ТК у слизовій оболонці тварин з гіпоергічним типом запалення при поєднанні пародонтиту з адреналіновою міокардіопатією

Показник	Контроль	1-ша година експерименту	3-тя доба експерименту	7-ма доба експерименту
МДА, Мкмоль/кг	0,81±0,011	1,92±0,024	2,10±0,014	4,04±0,020
ДК, ум. од./л	0,69±0,009	0,88±0,009	0,96±0,008	1,24±0,009
ТК, ум. од./л	0,72±0,009	0,99±0,009	1,07±0,009	1,26±0,006

Примітка. У цій і наступних таблицях: результати достовірно відрізняються від контрольної групи ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Рівень МДА, ДК, ТК у слизовій оболонці тварин з гіперергічним типом запалення при поєднанні пародонтиту з адреналіновою міокардіопатією

Показник	Контроль	1-ша година експерименту	3-тя доба експерименту	7-ма доба експерименту
МДА, Мкмоль/кг	0,81±0,011	2,49±0,011	3,90±0,010	3,45±0,009
ДК, ум. од./л	0,69±0,009	1,28±0,007	1,50±0,007	1,36±0,009
ТК, ум. од./л	0,72±0,009	1,29±0,008	1,53±0,009	1,39±0,005

Таблиця 3 – Активність СОД і КАТ у слизовій оболонці тварин з гіпоергічним типом запалення при поєднанні пародонтиту з адреналіновою міокардіопатією

Показник	Контроль	1-ша година експерименту	3-тя доба експерименту	7-ма доба експерименту
СОД, од. акт.	0,490±0,001	0,201±0,004	0,242±0,002	0,320±0,008
КАТ, мккат/л	0,520±0,022	0,300±0,013	0,370±0,034	0,402±0,011

Таблиця 4 – Активність СОД і КАТ у слизовій оболонці тварин з гіперергічним типом запалення при поєднанні пародонтиту з адреналіновою міокардіопатією

Показник	Контроль	1-ша година експерименту	3-тя доба експерименту	7-ма доба експерименту
СОД, од. акт.	0,490±0,001	0,165±0,004	0,210±0,002	0,396±0,008
КАТ, мккат/л	0,520±0,022	0,280±0,013	0,398±0,034	0,460±0,011

експерименту різко зменшилася та становила лише 34 % від норми. На 3-тю добу вона підвищилася до 43 % від контрольного вмісту, а на 7-му складала 80 % від норми.

Активність КАТ зменшилася в 1,9 раза на 1-шу годину експерименту, в 1,3 раза – на 3-тю добу і становила 88 % від норми на 7-му добу.

Отримані результати вказують на те, що перебіг запального процесу в пародонті при поєднанні з адреналіновою міокардіопатією супроводжувався зростанням кількості продуктів ПОЛ у всі терміни експерименту та пригніченням антиоксидантної системи в усіх групах тварин.

Стан антиоксидантної системи вказував на порушення про- та антиоксидантного балансу в обидвох групах тварин, що сприяло по-

дальшій деструкції клітин та розвитку запального процесу в тканинах пародонта.

ВИСНОВКИ. 1. Перебіг запального процесу в пародонті при поєднанні з адреналіновою міокардіопатією супроводжується зростанням кількості продуктів ПОЛ у всі терміни експерименту в усіх групах тварин, проте в щурів з гіпоергічним типом запалення піком збільшення була 7-ма доба, а з гіперергічним – 3-тя.

2. З боку антиоксидантної системи спостерігають зменшення активності ферментів супероксиддисмутази і каталази, що вказує на пригнічення її активності.

Наведені дані переконливо доводять важливість враховування при пародонтиті типу запальної реакції та наявності супутньої серцевої патології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоклицкая Г. Ф. Возможности антиоксидантной коррекции перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта разной тяжести / Г. Ф. Белоклицкая // Современная стоматология. – 2000. – № 1. – С. 38–41.
2. Горбась І. М. Фактори ризику серцево-судинних захворювань: поширеність і контроль / І. М. Горбась // Здоров'я України. – 2007. – № 2. – С. 62–63.
3. Данилевский Н. Ф. Распространенность основных стоматологических заболеваний и состояние гигиены полости рта у населения различных регионов Украины (по обращаемости) / Н. Ф. Данилевский, Л. Ф. Сидельникова, А. Г. Ткаченко // Совр. стоматология. – 2003. – № 3. – С. 14–16.
4. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. – Страсбург, 1986.

5. Захворювання пародонта / [М. Ф. Данилевський, А. В. Борисенко, А. М. Політун та ін.]. – К. : Медицина, 2008.

6. Ляхович В. В. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков // Биохимия. – 2006. – **71**, вып. 9. – С. 1183–1197.

7. Сухова Т. В. Особенности свободнорадикального окисления, антиоксидантной защиты и состояния нервной системы у больных хроническим генерализованным пародонтитом : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук / Т. В. Сухова. – М., 2000. – 23 с.

8. Ярова С. П. Структура стоматологічної патології при серцево-судинних захворюваннях / С. П. Ярова, Н. В. Мозгова // Совр. стоматология. – 2006. – № 2. – С. 21–22.

ТЕЧЕНИЕ ПАРОДОНТИТА ПРИ ГИПОЭРГИЧЕСКОМ И ГИПЕРЭРГИЧЕСКОМ ТИПАХ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ НА ФОНЕ АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОПАТИИ

Резюме

Исследованы изменения пероксидного окисления липидов и антиоксидантной системы при гипо- и гиперэргическом типах воспалительной реакции в пародонте на фоне адреналиновой миокардиопатии. Обнаружено повышение уровня продуктов пероксидного окисления липидов и снижение активности антиоксидантной системы относительно терминов эксперимента и типа воспалительной реакции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный пародонтит, адреналиновая миокардиопатия, типы воспалительной реакции, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система.

I. R. Mysula, I. O. Sukhovolets
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

COURSE OF PARODONTITIS, COMBINED WITH ADRENALINE MIOCARDIOPATHY, AT HYPOERGIC AND HYPERERGIC TYPES OF INFLAMMATORY REACTION

Summary

Course of lipid peroxidation and antioxidant system during hypo- and hyperergic types of inflammatory reaction in parodontium tissues, combined with adrenaline miocardiopathy, was under investigation. There was found out the increasing of lipid peroxidation products and decreasing of antioxidant system activity according to experiment terms and type of inflammatory reaction.

KEY WORDS: experimental parodontitis, adrenaline cardiomiopathy, types of inflammation reaction, lipid peroxidation, antioxidant system.

Отримано 28.03.13

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

ДИНАМІКА ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕРІОД ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА ПОЄДНАНУ КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ

У період гострої реакції на краніоскелетну травму (перші 24 год посттравматичного періоду) вже через 2 год відмічається виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту: активність супероксиддисмутази і каталази тканини печінки знижується, що спостерігається впродовж усього експерименту. Характерною рисою їх динаміки є підвищення активності супероксиддисмутази через 12 год із наступним зниженням через 24 год та протилежні коливання активності каталази із максимальним зниженням через 12 год і підвищенням через 24 год. В умовах додаткової кровотечі активність обох ферментів у тканині печінки досягає мінімальної величини через 2 год і залишається на такому ж рівні впродовж усього експерименту. Вміст у сироватці церулоплазміну, незалежно від тяжкості краніоскелетної травми, збільшується через 2 год і залишається стабільно високим впродовж експерименту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: краніоскелетна травма, ферментативний антиоксидантний захист.

ВСТУП. Утворення активних форм кисню й інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів належать до вагомих ланок патогенезу тяжкої травми [1, 4]. Цьому насамперед сприяють розвиток запалення та міграція нейтрофілів до зони пошкодження [3]. Захисна функція останніх реалізується через екстраклітинну продукцію активних форм кисню (респіраторний вибух) та внутрішньоклітинну генерацію радикалів кисню для елімінації мікроорганізмів у фагосомі [14].

Постійним супутником тяжкої травми є кровотеча. В умовах кровотечі збільшується базальний киснезалежний метаболізм нейтрофілів, що супроводжується ще більшим зростанням спонтанної продукції активних радикалів кисню [10, 12]. Крім цього, кровотеча зумовлює гіпоксію, яка призводить до зміни умов функціонування дихального ланцюга, що збільшує можливість одноелектронного відновлення кисню [11].

На тлі проведення інтенсивної терапії та лікувального гемостазу у хворих із кровотечею можуть наростати ознаки прооксидантної активації нейтрофілів. Така ситуація настає внаслідок розвитку синдрому ішемії-реперфузії, що супроводжує відновлення кровотоку, і асоціюється із зростанням у крові рівня метаболітів

© Р. М. Борис, 2013.

арахідонової кислоти, прозапальних цитокінів та хемокінів [8].

Нейтралізація активних форм кисню здійснюється ферментативною ланкою антиоксидантного захисту, серед них провідне місце відводиться супероксиддисмутазі, каталазі та церулоплазміну [11]. Збільшення їх активності вказує на інтенсивне утворення реакційно-здатних кисневих радикалів, а зниження на тлі накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів – на виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Їх динаміка в умовах окремо експериментальної черепно-мозкової і скелетної травм описана у ряді публікацій [5, 6], однак в умовах гострого періоду поєднаної краніоскелетної травми – вивчена недостатньо.

Метою роботи було з'ясувати динаміку ферментативної ланки антиоксидантного захисту в період гострої реакції на поєднану краніоскелетну травму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 68 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на 3 групи. Першу групу склали контрольні (інтактні) тварини (8 особин). Другу – 30 тварин, в яких під тіопентало-натрієвим наркозом

(40 мг·кг⁻¹) моделювали закрити черепно-мозкову травму за методикою [5] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили удар по кожному стегну, внаслідок якого після однократного впливу викликали закритий перелом стегнових кісток. У третій дослідній групі додатково моделювали кровотечу зі стегнової вени (20–22 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої водили у порожнину живота для відтворення гематоми. З експерименту тварин виводили після наркотизації шляхом тотального кровопускання із серця через 2, 12 та 24 год після травми. Як об'єкт дослідження було обрано гомогенат печінки – ключовий орган, що відображає системний вплив тяжкої травми і розвиток поліорганної недостатності [2], та сироватку крові.

У тварин, які вижили, визначали показники ферментативної ланки антиоксидантного захисту за активністю супероксиддисмутази [13] і каталази [9] в гомогенаті тканини печінки, а також за вмістом у сироватці крові церулоплазміну [7].

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці, у відповідь на краніоскелетну травму відмічалось істотне зниження активності

супероксиддисмутази гомогенату печінки: через 2 год – у 3,6 раза ($p < 0,001$), через 12 год – у 2,2 раза ($p < 0,001$), через 24 год – у 2,9 раза ($p < 0,001$). Аналіз динаміки даного показника показав, що через 12 год його величина істотно була більшою, ніж через 2 і 24 год (відповідно, на 65,7 і 31,8 %, $p \leq 0,05$). Крім цього, активність супероксиддисмутази гомогенату печінки через 24 год була статистично достовірно більшою, ніж через 2 год (на 25,7 %, $p \leq 0,05$).

Кровотеча на тлі краніоскелетної травми зумовлювала ще більше зниження активності даного ферменту: через 2 год – у 4,4 раза ($p < 0,001$), через 12 год – у 2,9 раза ($p < 0,001$), через 24 год – у 3,1 раза ($p < 0,001$). Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 1), що через 12 і 24 год його величина була статистично достовірно більшою, ніж через 2 год (відповідно, на 50,0 і 39,7 %, $p \leq 0,05$).

Порівнюючи величину активності даного ферменту між групами з різними травмами, встановлено, що через 2 і 24 год істотних відмінностей не відмічалось ($p > 0,05$). Разом з тим, через 12 год у групі з краніоскелетною травмою, поєднаною із кровотечею, активність супероксиддисмутази гомогенату печінки була статистично достовірно меншою: на 25,0 % ($p < 0,05$).

У свою чергу, активність каталази гомогенату печінки в умовах краніоскелетної травми теж знижувалася (табл.): через 2 год – на 35,4 % ($p < 0,001$), через 12 год – на 55,4 % ($p < 0,001$), через 24 год – на 26,8 % ($p < 0,001$).

Таблиця – Відхилення показників ферментативної ланки антиоксидантного захисту в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Модель	Термін посттравматичного періоду		
			2 год	12 год	24 год
Супероксид-дисмутаза, мккат·кг ⁻¹	0,253±0,011 (n=8)	КСТ	0,070±0,004*** (n=7)	0,116±0,007*** (n=6)	0,088±0,007*** (n=6)
		КСТ+Кр	0,058±0,007*** (n=6)	0,087±0,007*** (n=5)	0,081±0,006*** (n=5)
p			>0,05	<0,05	>0,05
Каталаза, мккат·кг ⁻¹	6,28±0,24 (n=8)	КСТ	4,06±0,12*** (n=7)	2,80±0,10*** (n=6)	4,60±0,18*** (n=6)
		КСТ+Кр	4,82±0,31*** (n=6)	3,52±0,13*** (n=5)	3,49±0,13*** (n=5)
p			<0,05	<0,01	<0,001
Церулоплазмін, мг·л ⁻¹	9,36±0,24 (n=8)	КСТ	17,84±0,78*** (n=7)	22,22±1,59*** (n=6)	18,50±1,00*** (n=6)
		КСТ+Кр	18,67±0,88*** (n=6)	23,79±1,11*** (n=5)	19,01±1,24*** (n=5)
p			>0,05	>0,05	>0,05

Примітки:

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

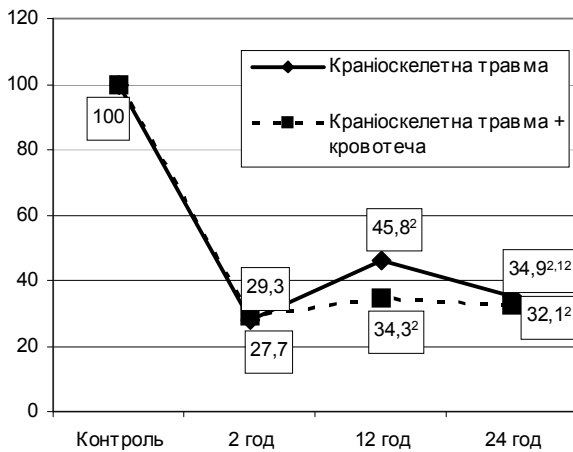


Рис. 1. Динаміка активності супероксиддисмутази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею (тут і на інших рисунках: ² – достовірність відмінностей стосовно другої години спостереження; ¹² – стосовно дванадцятої години спостереження ($p \leq 0,05$)).

Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 2), що активність каталази гомогенату печінки в умовах краніоскелетної травми досягла найменшої величини через 12 год посттравматичного періоду, що виявилось статистично достовірно меншим, ніж через 2 год (на 31,0 %, $p \leq 0,05$), і в подальшому збільшувалася, що істотно перевищувало рівень другої і дванадцятої годин посттравматичного періоду (відповідно, на 13,3 і 64,3 %, $p \leq 0,05$).

На тлі додаткової кровотечі (табл.) через 2 год після травми активність каталази гомогенату печінки знизилася на 23,2 % ($p < 0,001$), через 12 год – на 46,0 % ($p < 0,001$), через 24 год – на 44,3 % ($p < 0,001$). Аналіз динаміки даного показника показав, що він через 12 і 24 год був статистично достовірно меншим, ніж через 2 год (відповідно, на 27,0 і 27,6 %, $p \leq 0,05$).

Порівняння активності каталази гомогенату печінки в умовах різних травм показало, що через 2 і 12 год вона статистично достовірно була більшою у тварин з додатковою кровотечею (відповідно на 18,7 % ($p < 0,01$) та на 25,7 % ($p < 0,01$)). Проте через 24 год активність каталази гомогенату печінки ставала істотно більшою у тварин із самою краніоскелетною травмою (на 31,8 %, $p < 0,001$).

Вміст церулоплазміну в сироватці крові (табл.) в умовах краніоскелетної травми статистично достовірно збільшувався: через 2 год – на 90,6 % ($p < 0,001$), через 12 год – на 137,4 % ($p < 0,001$), через 24 год – на 97,6 % ($p < 0,001$). Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 3), що вже через 2 год він досягав максимальної величини й залишався практично

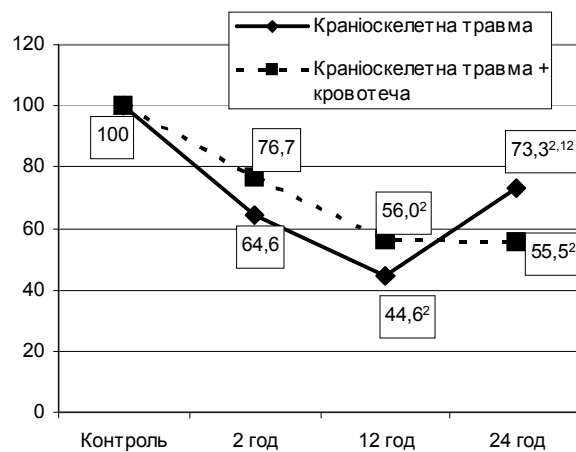


Рис. 2. Динаміка активності каталази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

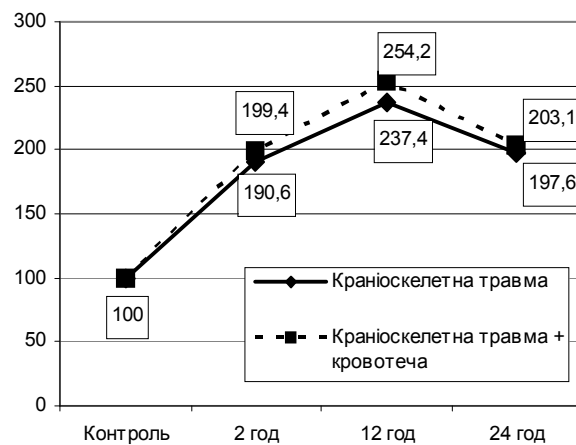


Рис. 3. Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

на такому ж рівні впродовж експерименту. Вірогідність відмінностей даного показника була меншою від критичної величини ($p > 0,05$).

Відхилення вмісту церулоплазміну в сироватці крові на тлі краніоскелетної травми, ускладненої кровотечею, було аналогічним (табл., рис. 3), як і у тварин без кровотечі, й статистично достовірно не відрізнялося ($p > 0,05$).

Таким чином, активність ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази і каталази гомогенату печінки в умовах модельованих травм істотно знижується і залишається статистично достовірно меншою впродовж досліджуваного періоду гострої реакції на модельовані травми. На тлі самої краніоскелетної травми активність супероксиддисмутази досягає мінімального рівня через 2 год, в подальшому істотно збільшується через 12 год з подальшим повторним зниженням

через 24 год. Активність каталази в цій групі досягає мінімальної величини через 12 год із наступним збільшенням через 24 год. Протифазні коливання даних ферментів через 12 і 24 год експерименту, очевидно, свідчать про особливості ресинтезу цих ферментів і часового накопичення субстратів.

Характерною рисою їх динаміки в умовах додаткової кровотечі є досягнення стабільно низького рівня через 2–12 год, що вказує на більшу тяжкість травми і появу додаткових патогенних чинників, які призводять до накопичення активних форм кисню.

У свою чергу, вміст церулоплазміну в сироватці крові в обох дослідних групах зростає вже через 2 год і залишається стабільно високим упродовж експерименту. Як свідчать дані літератури [11], синтез церулоплазміну залишається тривало підвищеним, навіть при тяжких ураженнях, і розглядається як маркер системної відповіді організму на запалення.

ВИСНОВКИ. 1. У період гострої реакції на краніоскелетну травму (перші 24 год посттравматичного періоду) вже через 2 год відміча-

ється виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту: активність супероксиддисмутази і каталази тканини печінки знижується, що спостерігається впродовж усього експерименту.

2. Характерною рисою їх динаміки є підвищення активності супероксиддисмутази через 12 год з наступним зниженням через 24 год та протилежні коливання активності каталази із максимальним зниженням через 12 год і підвищенням через 24 год.

3. В умовах додаткової кровотечі активність обох ферментів у тканині печінки досягає мінімальної величини через 2 год і залишається на такому ж рівні впродовж усього експерименту.

4. Вміст у сироватці церулоплазміну, незалежно від тяжкості краніоскелетної травми, збільшується через 2 год і залишається стабільно високим впродовж експерименту.

Перспективи подальших досліджень

У перспективі передбачається дослідження динаміки глутатіонової ланки антиоксидантної системи і відповіді на краніоскелетну травму різної тяжкості.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волотовська Н. В. Особливості реакції пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації та цитолізу під впливом травми різного ступеня тяжкості / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* – 2012. – № 1(16). – С. 29–33.
2. Волотовська Н. В. Роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ураження печінки в умовах скелетної травми різної тяжкості / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // *Бюлетень XI читань Підвисоцького, 24–25 травня 2012 р.* – Одеса, 2012. – С. 23–24.
3. Долгушин И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин. – Екатеринбург, 2001. – 315 с.
3. Ельский Е. Н. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельский, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк : ООО “Лебедь”, 2002. – 360 с.
5. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
6. Козак Д. В. Динаміка показників антиоксидантного захисту у відповідь на травму / Д. В. Козак // *Шпитальна хірургія.* – 2012. – № 3. – С. 60–64.
7. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
8. Кондратенко П. Г. Острое кровотечение в просвет органов пищеварительного канала / П. Г. Кондратенко, Н. Л. Смирнов, Е. Е. Раденко. – Донецк, 2006. – 420 с.
9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Петухова О. В. Содержание липопротеидов и продуктов перекисного окисления липидов у больных в остром периоде политравмы / О. В. Петухова, И. М. Устьянцева, В. В. Агаджанян // *Политравма.* – 2006. – № 3. – С. 65–68.
11. Свободнорадикальные процессы в биосистемах / [Т. Н. Попова, А. Н. Пашков, А. В. Семенихина и др.]. – Воронеж, 2008. – 192 с.
12. Сулаева О. М. Динаміка функціонального стану нейтрофілів у пацієнтів з виразковими кровотечами / О. М. Сулаева // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2011. – **14**, № 4, ч. 2. – С. 153–156.
13. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах [Текст] / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
14. Babior B. M. The neutrophil NADPH oxidase / B. M. Babior, J. D. Lambeth, W. M. Nauseef // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – **397**. – P. 342–344.

ДИНАМИКА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПЕРИОД ОСТРОЙ РЕАКЦИИ НА СОЧЕТАННУЮ КРАНИОСКЕЛЕТНУЮ ТРАВМУ

Резюме

В период острой реакции на краниоскелетную травму (первые 24 ч посттравматического периода) уже через 2 ч отмечается истощение ферментативного звена антиоксидантной защиты: активность супероксиддисмутазы и каталазы ткани печени снижается, что наблюдается на протяжении всего эксперимента. Характерной чертой их динамики являются повышение активности супероксиддисмутазы через 12 ч с последующим снижением через 24 ч и противоположные колебания активности каталазы с максимальным снижением через 12 ч и повышением через 24 часа. В условиях дополнительного кровотечения активность обоих ферментов в ткани печени достигает минимальной величины через 2 ч и остается на таком же уровне в течение всего эксперимента. Содержание в сыворотке церулоплазмينا, независимо от тяжести краниоскелетной травмы, увеличивается через 2 ч и остается стабильно высоким на протяжении эксперимента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: краниоскелетная травма, ферментативная антиоксидантная защита.

R. M. Borys

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

THE DYNAMICS OF ENZYMATIC BRANCH OF ANTIOXIDANT PROTECTION DURING AN ACUTE REACTION TO A COMBINED CRANIO-SKELETAL TRAUMA

Summary

During the acute response to cranio-skeletal trauma (first 24 hours of post-traumatic period) the depression of enzymatic branch of antioxidant protection is recognized after 2 hours of investigation: the activity of superoxide dismutase and catalase of liver tissue decreases, which are observed throughout the experiment. Main characteristic feature of these dynamics is the increasing of superoxide dismutase activity after 12 hours followed by its decreasing after 24 hours and opposite fluctuations in catalase activity with maximum reduction after 12 hours and increasing after 24 hours. Under the condition of additional bleeding, the activity of both enzymes in the liver tissue reaches a minimum value after 2 hours and remains at the same level throughout the experiment. Serum ceruloplasmin level increases after 2 hours regardless the severity of cranio-skeletal trauma and remains fixed high throughout the experiment.

KEY WORDS: cranio-skeletal trauma, enzymatic antioxidant defense.

Отримано 11.03.13

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

ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ДІТЕЙ З НАДМІРНОЮ МАСОЮ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯМ

У статті наведено основні особливості вуглеводного обміну в дітей з надмірною масою тіла та ожирінням. Встановлено високу поширеність гіперглікемії (35,56 %), гіперінсулінемії (33,33 %) та інсулінорезистентності (60 %) серед дітей пубертатного і препубертатного віку з надмірною масою тіла та ожирінням.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіперглікемія, гіперінсулінемія, інсулінорезистентність, ожиріння, надмірна маса тіла.

ВСТУП. Порушенням вуглеводного обміну відводять чільне місце у розгляді особливостей перебігу ожиріння та надмірної маси тіла в дітей препубертатного і пубертатного віку [5, 6, 10]. Вважають, що неодмінною складовою ожиріння і супутніх йому метаболічних порушень є синдром інсулінорезистентності [7, 9], який зумовлює виникнення компенсаторної гіперінсулінемії, порушення толерантності до глюкози (ПТГ) та, як наслідок, розвиток цукрового діабету 2 типу [3, 4, 8].

Вважають, що при центральному ожирінні зростає продукування вільних жирних кислот вісцеральними адипоцитами. Це зумовлює порушення передачі інсулінового сигналу, зниження захоплення глюкози клітинами гладких м'язів, збільшення синтезу тригліцеридів, а також стимуляцію процесів глюконеогенезу в печінці [7, 9]. У зв'язку зі зниженим поглинанням глюкози клітинами м'язів та адипоцитами, підвищеним продукуванням глюкози клітинами печінки, виникає компенсаторна гіперінсулінемія [1].

Однак при тривалій гіперглікемії клітини острівців Лангерганса втрачають здатність до підтримання постійно високої секреції інсуліну, це зумовлює прогресивне зниження його рівня з наступним розвитком порушення толерантності до глюкози та цукрового діабету 2 типу [9]. Власне порушення толерантності до глюкози вважають транзиторною стадією розладу вуглеводного обміну на шляху до цукрового діабету 2 типу [9].

У зв'язку з цим, метою даного дослідження було вивчити особливості вуглеводного обміну в дітей з надмірною масою тіла та ожирінням віком 10–17 років.

© Г. А. Павлишин, К. В. Козак, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено обстеження 90 дітей віком 10–17 років, у яких діагностовано ожиріння або ж надмірну масу тіла. Для верифікації діагнозу, відповідно до чинного наказу МОЗ України від 27.04.06 № 254 в редакції наказу МОЗ України від 03.02.09 № 55 “Про затвердження протоколів лікування дітей з ендокринними захворюваннями”, у всіх дітей проводили антропометричні вимірювання. Останні включали визначення маси тіла дитини (точність зважування складала 0,1 кг), зросту (з точністю до 0,5 см), окружності талії та окружності стегон (за допомогою сантиметрової стрічки з точністю до 0,5 см). Наступним етапом був розрахунок індексу маси тіла та співвідношення окружності талії до окружності стегон (ОТ/ОС). Індекс маси тіла (ІМТ) визначали за формулою:

$$\text{ІМТ} = \text{маса (кг)} / \text{зріст (м}^2\text{)}.$$

Надмірну масу тіла діагностували при значеннях ІМТ, які перевищували 85 перцентилів згідно з віково-статевими номограмами, однак були нижчими 95 перцентилів. Діагноз ожиріння встановлювали при ІМТ, який перевищував 95 перцентилів. Абдомінальний тип ожиріння визначали за аналізом співвідношення ОТ/ОС: у дівчаток його значення перевищували 0,8, тоді як у хлопчиків відповідний показник був більшим 0,9.

У всіх дітей вимірювали артеріальний тиск за методом Короткова.

Стан вуглеводного обміну вивчали шляхом визначення рівня глюкози у сироватці крові натще. При гіперглікемії значення глюкози дорівнювали або ж перевищували 5,6 ммоль/л. Подальшим кроком було проведення орального глюкозотолерантного тесту (ОГТТ) за стандартною методикою, навантаження з глюко-

зою становило 1,75 г/кг маси тіла дитини, однак не перевищувало 75 г. Результати ОГТТ трактували таким чином: при рівні глюкози натще у капілярній крові нижче 6,1 ммоль/л та при значеннях глюкози, які дорівнювали чи перевищували 7,8 ммоль/л, однак були меншими 11,1 ммоль/л через 2 год після навантаження, встановлювали діагноз порушення толерантності до глюкози; порушення глікемії натще (ПГН) визначали при рівні глюкози натще, рівному чи більшому 5,6 ммоль/л, проте меншому 6,1 ммоль/л, та значеннях глюкози, нижчих 7,8 ммоль/л через 2 год після навантаження.

Рівень інсуліну в крові визначали імуноферментним методом з використанням тест-систем фірми "DRG" (Німеччина). При нормоінсулінемії значення інсуліну були нижчими 25 мкОд/мл.

Для вивчення інсулінорезистентності використовували значення індексу HOMA-IR (Homeostasis model assessment) [1]. Останній розраховували за такою формулою:

$$\text{HOMA-IR} = (\text{базальний рівень інсуліну натще (мкОд/мл)} \times \text{глікемія натще (ммоль/л)}) / 22,5.$$

Керуючись літературними даними, інсулінорезистентність визначали при рівні HOMA-IR, вищому 3,16 од. [2].

Ферментативним методом визначали вміст у сироватці крові загального холестерину (ЗХС), ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ) з наступним математичним розрахунком значень ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності (ЛПНЩ, ЛПДНЩ), коефіцієнта атерогенності (КА) й рівня non-HDL-cholesterol (non-HDL-C).

Статистичний аналіз проводили з використанням комп'ютерних програм. Різницю між величинами вважали достовірною при значеннях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведено обстеження 90 дітей з надмірною масою тіла та ожирінням, серед них переважали хлопчи-

ки – 68 осіб (75,56 %). Середній вік обстежених дітей склав $(15,26 \pm 1,53)$ року. Абдомінальний тип ожиріння діагностовано у 74 дітей (82,22 %).

Гіперглікемію діагностовано в 32 дітей, що склало 35,56 % усіх обстежених. Результати гендерного аналізу гіперглікемії показали, що підвищення рівня глюкози до значень 5,6 ммоль/л чи більше частіше спостерігають серед дітей чоловічої статі. Так, гіперглікемію діагностовано у 28 хлопчиків (87,50 %) та 4 дівчаток (12,50 %).

Порушення глікемії натще діагностовано в 4 дітей (4,44 %), серед них була лише одна дівчинка, натомість порушення толерантності до глюкози встановлено у 3 хлопчиків (3,33 %).

При аналізі показників рівня інсуліну встановлено, що гіперінсулінемію діагностовано в кожній третій дитини – у 30 осіб (33,33 %). Враховуючи високу поширеність гіперінсулінемії, ми провели порівняльний аналіз основних клінічних та лабораторних показників обстежених дітей залежно від рівня інсуліну (табл. 1, 2). У зв'язку з цим, 1-шу групу обстежених склали 30 осіб з гіперінсулінемією, 2-гу – 60 дітей з нормоінсулінемією.

Таким чином, встановлено достовірну різницю між показниками окружності талії та співвідношенням ОТ/ОС, які є основними критеріями абдомінального типу ожиріння, у групах обстежених. Це корелює з літературними даними, адже саме вісцеральне ожиріння є предиктором формування інсулінорезистентності та, власне, компенсаторної гіперінсулінемії. Окрім того, встановлено, що гіперінсулінемія впливає на рівень артеріального тиску, адже систолічний АТ у групі дітей з високим рівнем інсуліну, за результатами нашого дослідження, достовірно перевищував аналогічні значення у 2-й групі обстежених.

При аналізі змін показників ліпідного профілю та значень глікемії натще не встановлено достовірних відмінностей залежно від рівня інсуліну в сироватці крові. Достовірно не відрізнялась і частота ПТГ та ПГН між досліджуваними

Таблиця 1 – Оцінка клінічних показників дітей з надмірною масою тіла та ожирінням залежно від сироваткового вмісту інсуліну

Показник	Гіперінсулінемія (30 осіб)	Нормоінсулінемія (60 осіб)	Коефіцієнт достовірності, p
Маса, кг	97,96±17,84	90,42±18,05	p>0,05
Зріст, м	1,74±0,11	1,72±0,11	p>0,05
ІМТ, кг/м ²	32,09±3,45	30,52±4,69	p>0,05
ОТ, см	102,38±9,90	96,53±11,17	p<0,02
ОС, см	110,23±7,11	106,99±8,69	p>0,05
ОТ/ОС	0,93±0,06	0,90±0,05	p<0,03
Систолічний АТ, мм рт. ст.	139,17±16,14	131,25±14,28	p<0,02
Діастолічний АТ, мм рт. ст.	85,33±8,09	82,50±9,18	p>0,05

Таблиця 2 – Оцінка лабораторних показників дітей з надмірною масою тіла та ожирінням залежно від сироваткового вмісту інсуліну

Показник	Гіперінсулінемія (30 осіб)	Нормоінсулінемія (60 осіб)	Коефіцієнт достовірності, p
ЗХС, ммоль/л	4,22±1,10	4,12±0,96	p>0,05
ЛПВЩ, ммоль/л	1,22±0,23	1,21±0,20	p>0,05
ЛПНЩ, ммоль/л	2,44±1,09	2,35±0,86	p>0,05
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,57±0,20	0,56±0,24	p>0,05
поп-HDL-C, ммоль/л	3,01±1,11	2,90±0,93	p>0,05
ТГ, ммоль/л	1,26±0,45	1,24±0,53	p>0,05
КА, од.	2,58±1,09	2,46±0,91	p>0,05
Глюкоза крові, ммоль/л	5,15±0,85	5,26±1,02	p>0,05
ПТГ, кількість осіб	2	1	p>0,05
ПГН, кількість осіб	3	1	p>0,05
НОМА-IR, од.	8,45±4,94	3,67±1,24	p<0,001

групами. Однак при аналізі індексу інсуліно-резистентності НОМА-IR було встановлено достовірну різницю між двома групами обстежених. Так, у 1-й групі інсулінорезистентність діагностовано в 100 % дітей, натомість у 2-й групі її поширеність склала 40 %.

Зважаючи на високу поширеність інсулінорезистентності серед усіх обстежених дітей та відсутність достовірної різниці між показниками глікемії у двох обстежених групах, ми провели аналіз рівня глюкози крові залежно від квартильного розподілу НОМА-IR (табл. 3). 1-й квартиль склали значення індексу НОМА-IR, нижчі 3,17 од., 2-й – 3,17–4,40 од., 3-й – 4,41–6,21 од., 4-й – показники НОМА-IR, вищі 6,21 од.

Таким чином, встановлено, що при наростанні інсулінорезистентності зростає і рівень глікемії, який є достовірно вищим у групі дітей із найбільш вираженим ступенем інсулінорезистентності (значення індексу НОМА-IR відповідають 4-му квартилю розподілу величин).

ВИСНОВКИ. 1. Порушення вуглеводного обміну є невід'ємною складовою ожиріння, зокрема його абдомінального типу. Частота реєстрації гіперінсулінемії та інсулінорезистентності є високою у дитячій популяції і складає, відповідно, 33,33 та 60 %. Гіперглікемію діагностовано у 35,56 % обстежених, остання наростає при збільшенні індексу інсулінорезистентності НОМА-IR.

2. Враховуючи те, що патогенетичним підґрунтям цукрового діабету 2 типу є явище інсулінорезистентності, вивчення стану вуглеводного обміну повинно стосуватися не лише дорослих осіб, але й дітей препубертатного та пубертатного віку. Це зумовлено тим, що патологічні зміни, які реєструють уже на етапі дитинства, пролонгуються в доросле життя, у зв'язку з чим своєчасна діагностика та корекція виявлених порушень дозволять покращити прогноз у таких пацієнтів.

Таблиця 3 – Значення глікемії залежно від квартильного розподілу НОМА-IR

Показник	Глюкоза крові натще, ммоль/л	Коефіцієнт достовірності, p
1-й квартиль (21 дитина)	4,69±0,86	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₁₋₄ <0,001
2-й квартиль (24 дитини)	5,20±0,98	p ₁₋₂ >0,05 p ₂₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,04
3-й квартиль (23 дитини)	5,08±0,84	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05 p ₃₋₄ <0,01
4-й квартиль (22 дитини)	5,80±0,89	p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,04 p ₃₋₄ <0,01

Примітки:

- 1) p₁₋₂ – достовірність різниці між показниками 1-ї та 2-ї груп;
- 2) p₁₋₃ – достовірність різниці між показниками 1-ї та 3-ї груп;
- 3) p₁₋₄ – достовірність різниці між показниками 1-ї та 4-ї груп;
- 4) p₂₋₃ – достовірність різниці між показниками 2-ї та 3-ї груп;
- 5) p₂₋₄ – достовірність різниці між показниками 2-ї та 4-ї груп;
- 6) p₃₋₄ – достовірність різниці між показниками 3-ї та 4-ї груп.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Basila A. M. Diagnostic methods of insulin resistance in a pediatric population / A. M. Basila, J. M. Hernandez, M. L. Alarcon // Boletin Medico del Hospital Infantil de Mexico. – 2011. – **68**, № 5. – P. 367–373.
2. Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents / M. Keskin, S. Kurtoglu, M. Kendirci [et al.] // Pediatrics. – 2005. – **115**, № 4. – P. 500–503.
3. Hyperinsulinemia and waist circumference in childhood metabolic syndrome / S. W. Lone, I. Atta, M. N. Ibrahim [et al.] // Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan. – 2011. – **21**, № 3. – P. 146–150.
4. Insulin resistance assessment in obese and non-obese children using HOMA / C. M. Mihai, L. Mihai, A. Balasa [et al.] // Pediatric Research. – 2011. – **70**. – P. 386–389.
5. Insulin resistance in children: consensus, perspective, and future directions / C. Levy-Marchal, S. Arslanian, W. Cutfield [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2010. – **95**, № 12. – P. 5189–5198.
6. Marcovecchio M. L. Obesity and insulin resistance in children / M. L. Marcovecchio, A. Mohn, F. Chiarelli // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. – 2010. – **51**. – P. S149–S150.
7. Mukherjee G. G. Insulin resistance – ECAB / G. G. Mukherjee. – New Delhi : Elsevier, 2010. – 126 p.
8. Raj M. Obesity and cardiovascular risk in children and adolescents / M. Raj // Indian journal of endocrinology and metabolism. – 2012. – **16**, № 1. – P. 13–19.
9. Szablewski L. Glucose homeostasis and insulin resistance / L. Szablewski. – Warsaw : Bentham Science Publishers, 2011. – 211 p.
10. Zeitler Ph. S. Insulin resistance: childhood precursors and adult disease / Ph. S. Zeitler, K. J. Nadeau. – NJ. : Springer, 2008. – 331 p.

Г. А. Павлишин, К. В. Козак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ОЖИРЕНИЕМ

Резюме

В статье приведены основные особенности углеводного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением. Установлена высокая распространенность гипергликемии (35,56 %), гиперинсулинемии (33,33 %) и инсулинорезистентности (60 %) среди детей пубертатного и подросткового возраста с избыточной массой тела и ожирением.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипергликемия, гиперинсулинемия, инсулинорезистентность, ожирение, избыточная масса тела.

H. A. Pavlyshyn, K. V. Kozak

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

EVALUATION OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN CHILDREN WITH OVERWEIGHT AND OBESITY

Summary

The article presents the main features of carbohydrate metabolism in children with overweight and obesity. The high prevalence of hyperglycemia (35.56 %), hyperinsulinemia (33.33 %) and insulin resistance (60 %) among children with overweight and obesity were established.

KEY WORDS: hyperglycemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, obesity, overweight.

Отримано 22.05.13

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

ВПЛИВ Ig G ХВОРИХ НА СИСТЕМНИЙ ЧЕРВОНИЙ ВОВЧАК НА ПОКАЗНИКИ ХРОНОМЕТРИЧНИХ ТЕСТІВ

Із сироваток крові хворих на системний червоний вовчак виділено антитіла класу Ig G. Показано, що загальний пул Ig G містить автоантитіла до протромбіну та пролонгує показники таких хронометричних тестів, як “екамуліновий час”, “протромбіновий час” та “активований частковий тромбластиновий час”.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: системний червоний вовчак, екамуліновий час, протромбіновий час, активований частковий тромбластиновий час.

ВСТУП. Одним з основних клінічних симптомів за системного червоного вовчака (СЧВ) є артеріальні та венозні тромбози, ризик розвитку яких збільшується до 60–70 % в разі виявлення у крові антифосфоліпідних антитіл [4, 5]. Механізмом розвитку СЧВ є поліклональна активація В-лімфоцитів і продукція автоантитіл, які зумовлюють ураження практично всіх тканин та органів, у результаті чого захворювання набуває полісистемного характеру [8]. Основний патологічний вплив на организм мають імуноглобуліни класу Ig G, які проявляють цитотоксичну, імунокомплексну та протромботичну дії [7]. У зв'язку з цим, дослідження впливу автоантитіл на параметри системи гемостазу може розширити розуміння симптоматики системного червоного вовчака і зробити внесок у розвиток системи діагностики та лікування даного захворювання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для виділення фракції Ig G із сироватки крові хворих на системний червоний вовчак (n=38) на колонку з протеїн А-сефарозою наносили 1 мл сироватки крові (загальний об'єм колонки – 1,5 мл). Відмивали неспецифічно зв'язані білки десятима об'ємами колонки (15 мл), 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4. Елюцію проводили гліциновим буфером (0,1 М гліцин-НСІ, рН 2,2). Фракції збирали по 1 мл та вимірювали оптичну густина отриманих антитіл. Проби, які містили білок, об'єднували та висолювали розчином сульфату амонію до кінцевої концентрації 50 % і при температурі 4 °С залишали на ніч. Центрифугували при 3000 об./хв упродовж 30 хв, супернатант відкидали, а осад розчиняли в

1 мл 0,05 М Na-фосфатного буфера, рН 7,4 [6]. Для отримання окремої фракції антитіл до протромбіну використовували синтезовану колонку – протромбін-сефарозу. Усі маніпуляції з виділення антитіл до протромбіну проводили аналогічно отриманню загальної фракції антитіл класу Ig G на колонці з протеїн А-сефарозою.

Для позбавлення від залишків амонію розчин антитіл наносили на колонку G 25, врівноважену 0,05 М Na-фосфатним буфером, рН 7,4 (загальний об'єм колонки – 8,3 мл). Фракції збирали по 1 мл і вимірювали концентрацію антитіл при 280 нм. Проби, які містили білок, об'єднували, концентрували, вимірювали оптичну густина і перераховували на концентрацію отриманих антитіл. Зберігали за температури -20 °С.

Для проведення тесту “екамуліновий час” у скляну конічну пробірку вносили 100 мкл 0,025 М CaCl₂; 10 мкл розчину екамуліну, кількість якого становила 1,3·10⁻⁵ екамулінових одиниць; 90 мкл 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,4, що містив 0,13 М NaCl; 100 мкл досліджуваної плазми. Ретельно перемішували і визначали час згортання крові, помірно струшуючи пробірку у водяній бані за температури 37 °С. За екамулінову одиницю брали кількість ферменту в 1 мл розчину, що згортає рівний об'єм плазми, яка розбавлена 1:1, за (20±2) с при 37 °С [3].

Для проведення тесту “протромбіновий час” у скляну конічну пробірку вносили 100 мкл досліджуваної плазми крові та прогрівали 1 хв за температури 37 °С на водяній бані. Після цього додавали 200 мкл тромбластину з 12,5 мМ розчином хлориду кальцію і визна-

© Т. Б. Вовк, 2013.

чали час згортання плазми крові, помірно струшуючи пробірку у водяній бані за температури 37 °С [1].

Для проведення тесту “активованій частковий тромбопластиновий час” готували суміш, яка містила 0,1 мл плазми крові, 0,1 мл АЧТЧ-реагенту, й інкубували протягом 3 хв за температури 37 °С, потім додавали 0,1 мл 25 мМ CaCl₂ та візуально визначали час згортання плазми крові [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для визначення впливу Ig G хворих на СЧВ на функціонування системи гемостазу було проведено ряд хронометричних тестів, які різносторонньо характеризують процес згортання крові. При цьому тестували як індивідуальні фракції Ig G окремих хворих, так і загальний пул Ig G, виділений із сироваток крові 38 пацієнтів. Даний підхід дозволив виявити як індивідуальні особливості перебігу процесів згортання, так і тенденції, загальні для всієї групи хворих.

Для тесту “екамуліновий час” використовували екамулін – фермент-активатор протромбіну, виділений з отрути ефі багатолускової (*Echis multisquamatus*). Даний тест дозволяє виявити функціонально неактивні форми протромбіну, які є маркером тромбофілії, та здійснити контроль ефективності лікування антикоагулянтами непрямої дії. Тест “екамуліновий час” було проведено у плазмі крові донорів з додаванням індивідуальних фракцій антитіл різних хворих на СЧВ (n=5) (рис. 1). При цьому індивідуальні фракції вносили у систему тесту в різних концентраціях з метою виявлення можливої гетерогенності впливу антитіл кожного пацієнта на активацію протромбіну. Як видно з рисунка, наявність антитіл у системі впливає на процес активації

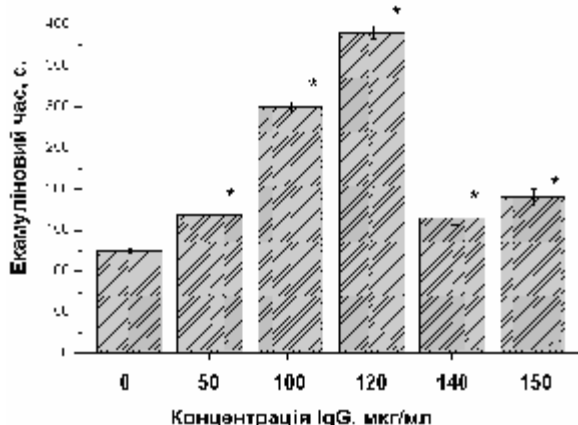


Рис. 1. Час згортання плазми крові донорів у тесті “екамуліновий час” при додаванні індивідуальних фракцій антитіл різних хворих на СЧВ (n=5) (* – відмінності достовірні відносно контролю, p<0,05).

протромбіну екамуліном і, відповідно, на швидкість утворення фібринового згустку. Проте реакція має чітко виражений індивідуальний характер. Відносно високі концентрації антитіл – 140 і 150 мкг/мл (хворі № 4 та № 5) викликали значно нижчий ефект, ніж менші концентрації фракцій Ig G, проте отримані від інших хворих. Одержаний результат дає змогу припустити, що досліджені фракції Ig G містять антитіла до протромбіну, які взаємодіють зі своєю мішенню і впливають на результат аналізу.

Наступний тест проводили, аналогічно попередньому, в плазмі крові донорів, в яку вносили різну кількість антитіл хворого № 3. На рисунку 2 наведено залежність показників тесту “екамуліновий час” від вмісту в системі тесту антитіл даного хворого. Як видно з рисунка, простежується чітко виражена концентраційна залежність активації протромбіну екзогенним активатором екамуліном від вмісту антитіл у системі тесту. Зі збільшенням концентрації антитіл зростає екамуліновий час згортання плазми крові, досягаючи 390 с, що перевищує контрольний показник у 3 рази.

Встановлені зміни активності протромбіну за присутності антитіл хворих на СЧВ можуть свідчити про наявність у загальному пулі Ig G антитіл до даного фактора згортання крові. Для перевірки даної гіпотези загальний пул Ig G хворих на СЧВ було очищено методом афінної хроматографії на протромбін-сефарозі (рис. 3). В ході хроматографічного розділення отримано фракцію антитіл до протромбіну з концентрацією 0,12 мг/мл.

Для проведення тестів “активованій частковий тромбопластиновий час” та “протромбіновий час” використовували загальний пул Ig G, виділений із сироваток крові хворих на

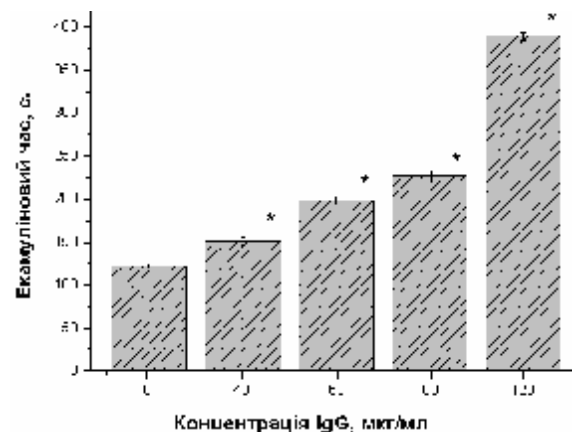


Рис. 2. Час згортання плазми крові донорів у тесті “екамуліновий час” залежно від концентрації антитіл хворого № 3 (* – відмінності достовірні відносно контролю, p<0,05).

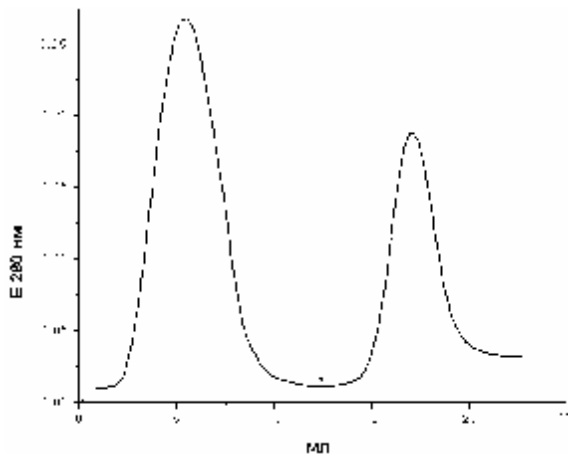


Рис. 3. Хроматограма виділення антитіл до протромбіну із загального пулу Ig G хворих на системний червоний вовчак на колонці з протромбін-сефарозою (стрілкою показано зміну 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,4, на елюючий буфер – 0,1 М гліцин-НСІ, рН 2,2).

СЧВ. Тест “активованій частковий тромбопластиновий час” імітує процес коагуляції за внутрішнім шляхом і дозволяє виявити дефіцит плазмових факторів (XII, XI, IX, VIII, X, V, II) або наявність у крові інгібіторів цих факторів та антикоагулянтів. При перерахованих патологіях спостерігали подовження часу згортання плазми крові у тесті. Було встановлено, що час згортання плазми крові донорів у тесті “активованій частковий тромбопластиновий час” зростає з підвищенням вмісту Ig G хворих у системі. Статистично достовірне збільшення часу згортання було отримано при внесенні 230 мкг/мл антитіл. Показник тесту складав $(62 \pm 7,2)$ с, що перевищувало контроль на 48 % (рис. 4).

Тест “протромбіновий час” характеризує зовнішній шлях згортання крові. Його використовують для оцінки печінкової функції (синтезу факторів коагуляції), ступеня насичення вітаміном К. Тест дозволяє оцінити активність факторів згортання I, II, V, VII та X. Було показано, що час згортання плазми крові донорів у тесті “протромбіновий час” також залежав від концентрації Ig G хворих у системі тесту. При додаванні 230 мкг/мл антитіл показник тесту збільшувався на 18 % відносно контролю (рис. 5).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – М. : Ньюдиамед, 2001. – 296 с.

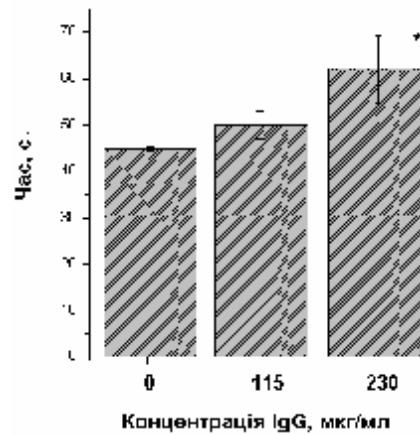


Рис. 4. Час згортання плазми крові донорів у тесті “активованій частковий тромбопластиновий час” залежно від концентрації Ig G хворих на СЧВ (* – відмінності достовірні відносно контролю, $p < 0,05$).

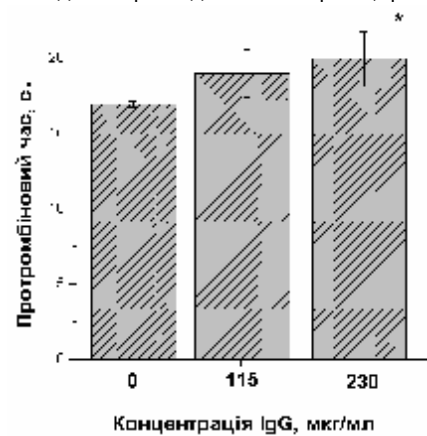


Рис. 5. Час згортання плазми крові донорів у тесті “протромбіновий час” залежно від концентрації Ig G хворих на системний червоний вовчак (* – відмінності достовірні відносно контролю, $p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. Показано, що за системного червоного вовчача у плазмі крові хворих утворюються автоантитіла до протромбіну, які подовжують час згортання плазми крові у тесті “екамуліновий час”. Активація протромбіну, а отже, і концентрація антипротромбінових антитіл мають чітко виражений індивідуальний характер. Встановлено подовження часу згортання плазми крові донорів у тестах “протромбіновий час” та “активованій частковий тромбопластиновий час” за наявності у пробі Ig G хворих на системний червоний вовчак.

2. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушенный гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свиринов. – М. – Тверь : Триада, 2005. – 227 с.

3. Оценка информативности и прогностической значимости традиционных скрининговых и дополнительных лабораторных тестов для диагностики тромбофилии / Т. Н. Платонова, Н. В. Заичко, Т. М. Чернышенко [и др.] // Лаб. діагностика. – 2010. – **4**, 54. – С. 34–44.

4. Системний червоний вовчак: патогенетичні особливості клінічної симптоматики, сучасна діагностична і терапевтична тактики ведення хворих / В. М. Коваленко, Н. М. Шуба, О. П. Борткевич, Ю. В. Білявська // Укр. ревматол. журн. – 2010. – **39**, № 1. – С. 13–23.

5. Alarcon-Segovia D. Long-term prognosis of antiphospholipid syndrome in patients with systemic

lupus erythematosus / D. Alarcon-Segovia, A. Perez-Ruiz, A. R. Vila // J. Autoimmunity. – 2000. – **15**. – P. 157–163.

6. Huse K. Purification of antibodies by affinity chromatography / K. Huse, H. J. Bohme, G. H. Scholz // J. Biochem. Biophys. Methods. – 2002. – **51**(3). – P. 217–231.

7. Rahman A. Autoantibodies, lupus and the science of sabotage / A. Rahman // Rheumatology. – 2004. – **43**, № 11. – P. 1326–1336.

8. Thrombophilia and thrombosis in systemic lupus erythematosus: a case-control study / D. Barcat, V. Guerin, A. Ryman [et al.] // Ann Rheum Dis. – 2003. – **62**. – P. 1016–1017.

Т. Б. Вовк

КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ВЛИЯНИЕ Ig G БОЛЬНЫХ СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ ХРОНОМЕТРИЧЕСКИХ ТЕСТОВ

Резюме

Из сывороток крови больных системной красной волчанкой выделены антитела класса Ig G. Показано, что общий пул Ig G содержит аутоантитела к протромбину и пролонгирует показатели таких хронометрических тестов, как “экамулиновое время”, “протромбиновое время” и “активированное частичное тромбопластиновое время”.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: системная красная волчанка, экамулиновое время, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время.

T. B. Vovk

TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

Ig G INFLUENCE OF PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS ON INFLUENCE BLOOD CLOTTING TESTS

Summary

Ig G fraction was purified from the serum samples of patients with systemic lupus erythematosus. It was shown that the total Ig G fraction comprised autoantibodies to prothrombin and prolonged blood clotting time in such chronometric tests as “ekamulin time”, “prothrombin time” and “partial thromboplastin time”.

KEY WORDS: systemic lupus erythematosus, ekamulin time, prothrombin time, partial thromboplastin time.

Отримано 16.05.13

Адреса для листування: Т. Б. Вовк, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ “Інститут Біології”, вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна, e-mail: olexiy.savchuk@yandex.ru.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОЗВИТКУ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ ЧЕРЕЗ 1 І ЧЕРЕЗ 3 МІСЯЦІ ВІД ПОЧАТКУ ІНДУКЦІЇ ІНСУЛІНЗАЛЕЖНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ВПЛИВ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАСТОЇ НА ЇЇ ПРОГРЕСУВАННЯ

При вивченні впливу густого екстракту з листя берези бородавчастої на розвиток діабетичної нефропатії при цукровому діабеті 1 типу, викликаному алоксаном, встановлено, що досліджуваний екстракт позитивно впливає на нирки на всіх етапах розвитку цукрового діабету, покращуючи функціональну активність їх через 1 місяць і зберігаючи клубочки, про що свідчить зменшення масового коефіцієнта нирок і екскреції білка через 3 місяці розвитку цукрового діабету.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: густий екстракт з листя берези бородавчастої, діабетична нефропатія, функція нирок.

ВСТУП. Цукровий діабет є фактором ризику ангіопатій, що є причиною високої інвалідизації та смертності [5]. На сьогодні діабетична нефропатія розвивається у третини хворих на цукровий діабет 1 типу і залишається головною причиною всіх випадків кінцевої стадії ниркової недостатності в індустріально розвинених країнах [4]. Традиційна терапія цукрового діабету основана на застосуванні цуркознижувальних препаратів та інсуліну. Але останнім часом зростає зацікавленість в пошуку речовин природного, а особливо рослинного, походження. Рослинні поліфеноли нормалізують вміст глюкози у тварин з експериментальним цукровим діабетом 1 типу [3], захищають їх від зневоднення, чинять ангіопротекторний ефект [2].

Метою даної роботи було вивчити вплив густого екстракту з листя берези бородавчастої (ГЕЛББ) на розвиток нефрологічної патології у щурів на тлі експериментального цукрового діабету, який тривав 1 і 3 місяці, порівняно з препаратом – драже “Канефрон® Н” виробництва фірми “Біонорика” (Німеччина) [7].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент проведено у дві серії на білих безпородних щурах-самцях, яких у кожній серії досліджень поділили на 4 групи: негативний контроль (НК);

позитивний контроль (ПК); групу щурів, яким на тлі патології вводили суспензію ГЕЛББ; групу щурів, яким на тлі патології вводили драже “Канефрон® Н”. Тварини були рандомізовані за масою тіла. Цукровий діабет 1 типу викликали шляхом підшкірного введення алоксану [1]. Хворими вважали тільки тих тварин, в яких рівень цукру в крові був не нижчим 10 ммоль/л через тиждень після введення алоксану. Діагноз лікування у двох серіях дещо відрізнявся. Так, у серії, тривалість розвитку діабету в якій складала 1 місяць, лікування починали з другого дня після ін’єкції алоксану. В серії, в якій тривалість експерименту становила 3 місяці, лікування починали через тиждень після введення алоксану. Густий екстракт з листя берези бородавчастої вводили тваринам внутрішньошлунково в дозі 7 мг/кг (дозу визначено в скринінгових дослідженнях за гіпоазотемічною дією), драже “Канефрон® Н” – у дозі 20 мг/кг (дозу для щурів перераховано з добової дози для людини за допомогою коефіцієнтів видової чутливості Ю. П. Риболовлева) [6]. В кінці кожної із серій експерименту у тварин визначали діурез за дві години в умовах водного навантаження, після чого щурів виводили з експерименту методом декапітації під легким ефірним наркозом. Визначали масу нирок для розрахунку масового коефіцієнта (МКН). У сироватці крові визначали концентрацію глюкози, сечовини, креатиніну, іонів натрію і калію,

в сечі – білка і креатиніну. Розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом креатиніну. Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики на рівні значимості 0,05 (розраховували середнє арифметичне і його стандартну похибку ($M \pm m$)). Для отримання статистичних висновків застосовували однофакторний дисперсійний аналіз, або критерій Крускала–Уоліса для даних, які не підлягають нормальному закону розподілення. При виявленні відмінностей між експериментальними групами використовували критерій Ньюмена–Кейлса для множинних порівнянь або критерій Манна–Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Розвиток цукрового діабету в обох серіях супроводжувався вірогідним підвищенням концентрації глюкози і сечовини в крові (табл.). В першій серії експерименту, який тривав 1 місяць, маса тварин вірогідно не змінилася, в другій серії наприкінці 3-го місяця токсична дія глюкози і порушення метаболізму сприяли вірогідному зменшенню маси тварин у групі ПК. Тривала висока гіперглікемія призводила до структур-

них змін у нирках, про що свідчило вірогідне зростання в групі ПК у двох серіях МКН. Невірогідне зниження в першій серії експерименту ШКФ, порівняно з групою тварин НК, призвело до вірогідного накопичення в крові концентрації креатиніну і натрію. Діурез і екскреція білка при цьому були в нормі. Через 3 місяці відбулися компенсаторне вірогідне підвищення діурезу порівняно з групою НК та невірогідне зростання ШКФ, яке приводило до нормалізації концентрації креатиніну і натрію в крові, але у зв'язку зі збільшенням навантаження на фільтраційний бар'єр зруйнувалися клубочки ниркових тілець, на що вказувало вірогідне збільшення екскреції білка порівняно з групою НК. Під впливом ГЕЛББ в обох серіях у кінці експерименту спостерігали вірогідне, порівняно з групою ПК, зниження глюкози, але рівень гіперглікемії залишався все ж дуже високим. В обох серіях експерименту відзначали нормалізацію концентрації сечовини в крові, що свідчило про покращення білкового обміну в щурів. Підвищення МКН було вірогідно нижчим, ніж у групі тварин ПК. У першій серії експерименту введення ГЕЛББ нормалізу-

Таблиця – Вплив ГЕЛББ і препарату порівняння – драже “Канефрон® Н” на масу щурів, МКН, біохімічні показники крові та функціональний стан нирок на тлі цукрового діабету, викликаного алоксаном ($m \pm M$), Me (LQ;UQ)

Показник	НК	ПК	ГЕЛББ, 7 мг/кг	
			Канефрон® Н, 20 мг/кг	
1 місяць				
n	5	8	8	8
Маса, г	287,0±13,9	257,5±10,1	286,3±10,7	263,8±15,6
МКН, %	0,32 (0,30;0,35)	0,44* (0,40;0,46)	0,38**/** (0,36;0,41)	0,42* (0,38;0,46)
Глюкоза, ммоль/л	3,00±0,07	13,63±0,99*	6,91±0,62**/**	9,36±0,62**/**
Креатинін, ммоль/л	0,065±0,003	0,097±0,005*	0,062±0,006**	0,074±0,009**
Сечовина, ммоль/л	4,54±0,28	7,33±0,74*	5,18±0,25**	5,78±0,65*
Натрій, ммоль/л	156,9±2,8	171,9±3,4*	156,6±3,8**	162,8±3,8
Калій, ммоль/л	4,61±0,13	4,35±0,10	4,08±0,21	4,29±0,14
Діурез, мл/100 г/2 год	1,93 (1,88;2,55)	2,23 (1,55;2,90)	1,58 (1,49;2,72)	1,27 (1,01;2,89)
ШКФ, мл/100 г/хв	0,15 (0,14;0,31)	0,10 (0,08;0,17)	0,15 (0,13;0,27)	0,21 (0,15;0,27)
Екскреція білка, мг/2 год/100 г	0,037 (0,027;0,041)	0,025 (0,024;0,033)	0,033 (0,029;0,040)	0,037 (0,031;0,042)
3 місяці				
n	8	8	8	7
Маса, г	368,4±16,1	206,3±15,3*	267,8±14,8**/**	263,2±23,5**/**
МКН, %	0,30 (0,30;0,32)	0,60* (0,55;0,65)	0,51**/** (0,50;0,55)	0,52**/** (0,47;0,59)
Глюкоза, ммоль/л	5,02±0,20	20,11±0,79*	16,11±1,26**/**	16,41±2,35*
Креатинін, ммоль/л	0,057±0,003	0,061±0,003	0,060±0,002	0,063±0,003
Сечовина, ммоль/л	4,02±0,35	9,88±1,75*	5,78±0,62**	7,93±0,94*
Натрій, ммоль/л	121,4±5,3	115,6±3,5	105,3±5,3	103,1±3,4*
Калій, ммоль/л	4,10±0,16	3,69±0,112	3,46±0,13	3,76±0,24
Діурез, мл/100 г/2 год	2,58 (2,28;2,67)	3,15* (2,89;3,91)	3,01 (2,24;3,43)	2,86 (2,02;3,15)
ШКФ, мл/хв/100 г	0,34 (0,27;0,47)	0,41 (0,37;0,51)	0,39 (0,29;0,51)	0,43 (0,30;0,46)
Екскреція білка, мг/2 год/100 г	0,087 (0,042;0,099)	0,149* (0,113;0,186)	0,091** (0,067;0,105)	0,114 (0,069;0,156)

Примітки:

- 1) * – відхилення показника вірогідне відносно показника групи НК, $p < 0,05$;
- 2) ** – відхилення показника вірогідне відносно показника групи ПК, $p < 0,05$.

вало концентрацію креатиніну і натрію в крові, що свідчило про мобілізацію адаптаційних резервів. У другій серії експерименту на тлі нормалізації показників крові спостерігали нормальні показники екскреції білка, що вказувало на збереження структур нирок. Позитивний ефект препарату порівняння – драже “Канефрон® Н” був менш вираженим. У першій серії експерименту відзначали вірогідне зниження глюкози і креатиніну в крові. У другій серії експерименту вірогідно зросла маса тварин і знизився МКН порівняно з групою ПК. Але концентрація сечовини в крові була віро-

гідно вищою відносно групи тварин НК, а також не була вірогідно знижена екскреція білка із сечею ($0,112 \pm 0,018$) в другій серії експерименту, що можна розцінити як недостатній вплив на збереження структур і функцій нирок.

ВИСНОВКИ. Експериментальна модель цукрового діабету в щурів дає можливість спостерігати розвиток патологічних процесів у нирках в динаміці. Густий екстракт з листя берези бородавчастої перевищує ефективність драже “Канефрон® Н” за попередженням розвитку діабетичної нефропатії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Влияние обзидана (пропранолола) и пирогенала на проявления аллоксанового диабета у крыс / И. А. Волчегорский, О. Л. Колесников, В. Э. Цейликман [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 1997. – **43**, № 2. – С. 38–41.
2. Дрель В. Р. Нефропротекторна дія виноградних вин у щурів із експериментальним цукровим діабетом / В. Р. Дрель, Н. О. Сибірна // Біологічні студії. – 2009. – **3**, № 3. – С. 59–68.
3. Исследование влияния полифенольного концентрата “Еноант” на развитие сахарного диабета / А. Л. Загайко, Л. Н. Воронина, О. А. Красильникова [и др.] // Укр. біофармац. журн. – 2009. – № 5. – С. 6–13.
4. Красний М. Р. Вплив вітаміну С на стан гемокапілярів нирок при стрептозотоциновому

діабеті у щурів / М. Р. Красний // AML XVI. – 2010. – № 2. – С. 89–93.

5. Малоштан Л. М. Вплив адіахрому на стан коагуляційного гомеостазу при цукровому діабеті II типу / Л. М. Малоштан, Б. М. Медведєв, О. А. Щербак // Клін. фармація. – 2010. – **14**, № 3. – С. 54–56.

6. Рыболовлев Ю. П. Токсикологические аспекты безопасности готовых лекарственных форм / Ю. П. Рыболовлев, Д. П. Сидяров, Н. И. Афонин. – М., 1981. – С. 9.

7. Юрьев К. Л. Канефрон Н при нефрологической патологии у пациентов с сахарным диабетом и метаболическим синдромом / Юрьев К. Л. // Укр. мед. часопис. – 2008. – **66**, № 4. – С. 65–70.

Л. В. Яковлева, Н. С. Чорна, Д. М. Бабенко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ ЧЕРЕЗ 1 И ЧЕРЕЗ 3 МЕСЯЦА С НАЧАЛА ИНДУКЦИИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И ВЛИЯНИЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА С ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ БОРОДАВЧАСТОЙ НА ЕЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЕ

Резюме

При изучении влияния густого экстракта с листьев березы бородавчатой на развитие диабетической нефропатии при сахарном диабете 1 типа, вызванном аллоксаном, установлено, что исследуемый экстракт оказывает положительное действие на почки на всех этапах развития сахарного диабета, улучшая функциональную активность их через 1 месяц и сохраняя клубочки, о чем свидетельствует уменьшение массового коэффициента почек и экскреции белка через 3 месяца развития сахарного диабета.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: густой экстракт с листьев березы бородавчатой, диабетическая нефропатия, функция почек.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY AFTER 1 AND 3 MONTH FROM THE BEGINNING OF INDUCTION OF INSULINE-DEPENDENT DIABETES AND IMPACT OF THE DENSE EXTRACT FROM LEAVES OF THE SILVER BIRCH AT ITS PROGRESSION

Summary

In studying of the effect of dense extract from leaves of the silver birch on the development of diabetic nephropathy of the I type, caused by alloxan, it was found that the investigated extract had a positive effect on kidneys state at all stages of the development of diabetes by improving their functional activity after 1 month and keeping the glomeruli, as evidenced by the reduction of the mass ratio of kidneys and urinary protein excretion after three months of diabetes.

KEY WORDS: dense extract from leaves of the silver birch, diabetic nephropathy, renal function.

Отримано 15.05.13

Адреса для листування: Н. С. Чорна, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна, e-mail: cndlnfau@mail.ru

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОЗАХИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З БРУНЬОК ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ НА МОДЕЛІ ТЕТРАЦИКЛІНОВОГО ГЕПАТИТУ

В експерименті на тваринах з модельованим медикаментозним гепатитом встановлено гепатозахисні властивості густого екстракту з бруньок обліпики крушиноподібної, що підтверджується зниженням в ураженому організмі вмісту ТБК-активних продуктів, активності аланінамінотрансферази та лужної фосфатази, покращенням жовчовидільної та детоксикуючої функцій печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бруньки обліпики, густий екстракт, тетрацикліновий гепатит, гепатозахисні властивості.

ВСТУП. З кожним роком у світі фармацевтичні компанії виробляють нові лікарські засоби, які активно з'являються в аптечних мережах та неконтрольовано використовуються пацієнтами. Значна частина серед таких засобів належить антибіотикам, які токсично діють на організм у цілому та на печінку зокрема, в результаті чого порушуються структура та функція гепатоцитів [7, 8]. Зустрічаються літературні дані, які свідчать, що частота побічних реакцій при застосуванні тетрациклінів становить 7–30 % [11].

Для лікування медикаментозних і токсичних уражень печінки використовують різні гепатопротектори та антиоксиданти як синтетичного, так і рослинного походження [4].

Пошук нової лікарської рослинної сировини, БАР якої проявляли б позитивний вплив на організм за умов токсичного гепатиту, є актуальним питанням медицини та фармації. Однією з перспективних рослин у цьому напрямку є обліпики крушиноподібна, зокрема чоловічі бруньки *Hippophae rhamnoides* L. та густий екстракт на їх основі.

Метою даної роботи було дослідити гепатозахисні властивості густого екстракту з чоловічих бруньок обліпики на моделі гострого тетрациклінового гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Медикаментозний гепатит викликали шляхом введення тетрацикліну в дозі 0,5 г/кг протягом 5 днів та досліджували біохімічні показники через три доби після останнього введення тетрацикліну [5].

© В. П. Пида, 2013.

Досліджували гомогенат печінки та сироватку крові.

Усі експерименти на тваринах проводили згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках [6].

Тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури; 2-га – тварини, отруєні тетрацикліном (контрольна група); 3-тя – уражені тварини, яким щоденно протягом 4-х днів вводили густий екстракт з чоловічих бруньок обліпики крушиноподібної в дозі 100 мг/кг; 4-та – уражені тварини, яким щоденно протягом 4-х днів після моделювання тетрациклінового гепатиту для корекції порушень вводили препарат порівняння “Силібор” у дозі 50 мг/кг маси тварин. Для оцінки гепатопротекторних властивостей досліджуваної лікарської форми у піддослідних тварин вивчали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [10], активність лужної фосфатази [1] та аланінамінотрансферази (АлАТ) [13].

На моделі медикаментозного тетрациклінового гепатиту вивчали жовчовидільну функцію печінки після застосування густого екстракту з бруньок обліпики. Через 24 год після останнього введення тетрацикліну і досліджуваних препаратів тварин наркотизували 1 % розчином тіопенталу [2], проводили операцію та канюлювали жовчну протоку. Секретовану жовч збирали протягом 3-х год [9].

Стан монооксигеназної системи печінки визначали за тривалістю гексеналового сну, гексенал вводили тваринам у дозі 60 мг/кг маси тіла [3, 12].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці 1, введення тетрацикліну в організм щурів призвело до зростання вмісту ТБК-АП як у сироватці крові, так і в печінці ($p < 0,05$) – у 2,1 та 2,6 раза відповідно.

Після введення густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів знизився на 90 %, а в печінці уражених тварин – на 29 %. Достовірні зміни відмічено у всі терміни дослідження даного показника ($p_1 < 0,05$). Після введення силібору відмічали достовірне зниження ТБК-АП протягом усього періоду дослідження як у сироватці крові, так і в печінці уражених тварин. Більш ефективним було застосування екстракту з бруньок обліпихи.

Ураження тварин високими дозами тетрацикліну призводило до зростання активності АлАТ у сироватці крові та печінці в 2,8 й 1,4 раза відповідно (табл. 1).

Відмічене зростання активності даного ферменту в сироватці крові значно перевищувало його активність у печінці. Можливо, це пов'язано з токсичним впливом тетрацикліну саме на печінку.

Після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної активність АлАТ у сироватці крові уражених тварин знизилася на 90 %, а в печінці – на 28 % на 4-ту добу експерименту. Достовірні зміни відмічено в обидвох біологічних субстратах ($p_1 < 0,05$). Введення силібору призвело до зниження активності АлАТ як у сироватці, так і в печінці, але екстракт з бруньок обліпихи проявив більш ефективний вплив на даний показник.

Було вивчено активність лужної фосфатази у сироватці крові тварин, уражених тетрацикліном і лікованих густим екстрактом з бруньок обліпихи крушиноподібної та силібором. Від-

мічено, що введення тетрацикліну призвело до зростання активності лужної фосфатази в 1,4 раза порівняно зі здоровими щурами. Застосування густого екстракту та референс-препарату викликало зниження даного показника на 23 і 16 % відповідно (табл. 1).

Ураження організму тварин ксенобіотиками призводить до структурно-функціональних розладів печінки. Наступним нашим завданням було вивчити ефективність застосування екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної при дослідженні жовчовидільної функції печінки. Як препарат порівняння використовували алохол (рослинний препарат, який проявляє жовчогінну активність). Результати дослідження об'єму та швидкості секреції жовчі наведено в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, введення тетрацикліну призвело до зменшення об'єму та швидкості секреції жовчі в уражених щурів відносно здорових в 1,5 раза відповідно. Застосування густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної сприяло нормалізації функціональних показників печінки в піддослідних тварин, а саме на 43 % збільшився об'єм та на 38 % зросла швидкість секреції жовчі у піддослідних тварин відносно уражених. Алохол проявив дещо ефективніший вплив на процеси жовчовиділення в щурів.

Для вивчення знешкоджувальної функції печінки моделювали гексеналовий сон шляхом внутрішньочеревного введення 60 мг/кг гексеналу тваринам, ураженим тетрацикліном, та після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи та силібору.

Зміни активності монооксигеназної системи реєстрували за тривалістю гексеналового сну в піддослідних тварин. Результати досліджень наведено в таблиці 3.

Таблиця 1 – Біохімічні показники у сироватці крові та печінці тварин за умов тетрациклінового гепатиту після використання екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Показник				
	АлАТ		Лужна фосфатаза	ТБК-АП	
	4-та доба		4-та доба	4-та доба	
	сироватка крові, мкмоль/л·год	печінка, мкмоль/кг·год	сироватка крові, ммоль/л·год	сироватка крові, мкмоль/л	печінка, мкмоль/кг
Інтактні	0,26±0,01	0,68±0,02	25,70±1,70	2,85±0,07	0,90±0,03
Уражені	0,72±0,03*	0,91±0,01*	36,45±1,66*	5,95±0,15*	2,35±0,08*
Ліковані екстрактом з обліпихи, 100 мг/кг	0,38±0,01**	0,71±0,01**	29,55±1,22	3,25±0,09**	1,35±0,04**
Ліковані силібором, 50 мг/кг	0,39±0,01**	0,72±0,01**	31,35±1,25	3,57±0,11**	1,45±0,05**

Примітки. У цій і наступній таблицях:

- 1) * (p) – достовірні зміни між інтактними та ураженими тваринами;
- 2) ** (p_1) – достовірні зміни між ураженими та лікованими тваринами.

Таблиця 2 – Дослідження впливу екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної на процеси жовчоутворення на моделі ураження печінки тетрацикліном ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Інтактні	Уражені	Ліковані екстрактом	Ліковані алохолом
Об'єм жовчі, мл/100 г	0,80±0,07	0,52±0,04*	0,74±0,05**	0,82±0,07**
Швидкість секреції жовчі, мг/хв·100 ⁻¹	4,12±0,52	2,72±0,20*	3,75±0,31**	4,15±0,35**

Таблиця 3 – Тривалість гексеналового сну у тварин, уражених тетрацикліном, та після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Інтактні тварини	Уражені тетрацикліном	Уражені+ліковані екстрактом, 100 мг/кг	Уражені+ліковані силібором, 50 мг/кг
Тривалість гексеналового сну, хв	32,0±2,3	47,5±2,7*	38,2±2,1**	39,4±1,9

Примітки:

- 1) * (p) – достовірні зміни між інтактними та ураженими тетрацикліном тваринами;
- 2) ** (p₁) – достовірні зміни між ураженими та лікованими екстрактом з обліпихи.

Результати проведених досліджень показали, що введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи сприяє відновленню активності монооксигеназ мікосомального ланцюга і підвищенню функціональної спроможності печінки у знешкодженні токсичних сполук, про що свідчить скорочення тривалості гексеналового сну у тварин, лікованих екстрактом з бруньок обліпихи, на 9 хв порівняно з ураженими щурами.

ВИСНОВКИ. На моделі гострого тетрациклінового гепатиту встановлено гепатопротек-

торні властивості густого екстракту з бруньок обліпихи крушиноподібної, що проявляється пригніченням процесів ліпопероксидації, стабілізацією проникності плазматичних мембран гепатоцитів, відновленням процесів жовчовиділення та підвищенням функціональної спроможності печінки у знешкодженні токсичних сполук. Це дозволяє використати досліджуваний екстракт для подальшого дослідження з метою створення на його основі нових гепатопротекторних засобів для лікування токсичних гепатитів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічна хімія : лабораторний практикум / [Я. І. Гонський, Н. П. Саяк, Л. М. Рубіна та ін.] ; за ред. Я. І. Гонського. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 288 с.
2. Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии / В. В. Гацура, Л. Н. Сернов. – М. : Медицина, 2000. – 325 с.
3. Гижларян М. С. Исследование функций печени методом “гексеналового сна” / М. С. Гижларян // Фармакология и токсикология. – 1976. – № 3. – С. 13–14.
4. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – К. : Здоров'я, 1989. – 168 с.
5. Доклинические испытания лекарственных средств : методические рекомендации / под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
6. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
7. Ивашкин В. Т. Алкогольно-вирусные заболевания печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская. – М. : Литтерра, 2007. – 160 с.
8. Калинин А. В. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / под ред. А. В. Калинина, А. И. Хазанова. – М. : Миклош, 2007. – 602 с.
9. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / [В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – С. 111,122, 179, 180.
10. Методы биохимических исследований / под ред. М. И. Прохоровой. – Л. : Издательство Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.
11. Посохова К. А. Антибіотики (властивості, застосування, взаємодія) : навч. посіб. / К. А. Посохова, О. П. Вікторов. – Тернопіль : ТДМУ, 2005. – 296 с.
12. Розанова В. Д. Детоксикация гексенала и индукция этого процесса у крыс, развивающихся при стрессовых воздействиях / В. Д. Розанова // Фармакол. и токсикол. – 1982. – № 4. – С. 126–127.
13. Reitman S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitman, S. Frankel // Am. J. Clin. Pathol. – 1957. – 28, №1. – P 28, 56–63.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ПОЧЕК ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ НА МОДЕЛИ ТЕТРАЦИКЛИНОВОГО ГЕПАТИТА

Резюме

В эксперименте на животных с моделируемым медикаментозным гепатитом установлены гепатозащитные свойства густого экстракта из почек облепихи крушиновидной, что подтверждается снижением в пораженном организме содержания ТБК-активных продуктов, активности аланин-аминотрансферазы и щелочной фосфатазы, улучшением желчевыделительной и обезвреживающей функций печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: почки облепихи, густой экстракт, тетрациклиновый гепатит, гепатозащитные свойства.

V. P. Pyda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH OF LIVERPROTECTIVE PROPERTIES OF THE THICK EXTRACT FROM BUDS OF SEA-BUCKTHORN ON A MODEL OF TETRACYCLINE HEPATITIS

Summary

In experiments on animals with simulated medication hepatitis there were established the liverprotective properties of thick extract of sea buckthorn, as evidenced by a decrease in the affected body content of TBA-active products, the activity of ALAT and alkaline phosphatase, improvement biliary and detoxifying the liver.

KEY WORDS: sea buckthorn buds, thick extract, tetracycline hepatitis, liverprotective properties.

Отримано 20.05.13

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

ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТОМАТОЛОГІЧНОЇ НАСТОЯНКИ “КАСДЕНТ” НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ В ЩУРІВ

Розглянено зміни біохімічних показників запалення під час застосування настоянки “Касдент” у різних розведеннях.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запальні захворювання, порожнина рота, гінгівіт, пародонтит.

ВСТУП. Наша ротова порожнина – джунглі, будинок для бактерій, вірусів, грибів і найпростіших [4, 12, 13]. Більша частина інфекційних станів – це результат дисгармонії екосистеми ротової порожнини. Будь-які пошкодження слизової оболонки, які виникають у результаті гінгівітів і пародонтитів, являють собою руйнування фізіологічного бар’єру, який існує між внутрішнім середовищем організму і зовнішньою екосистемою. Внаслідок цього збільшується імовірність проникнення патогенних культур мікроорганізмів у кровотік людського організму з подальшим інфікуванням і осіменінням віддалених систем людського організму. Доведено, що дана бактеріємія може бути причиною таких процесів, як віддалений абсцес, пошкодження нирок та ін. [6, 8].

Актуальність профілактики та лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота зумовлена значною поширеністю цієї патології. Запальні та деструктивні зміни тканин, які оточують та підтримують зуби (пародонт), зазвичай починаються з гінгівіту [1, 2, 5, 8, 11]. Дана патологія, як відомо, уражає майже 80 % дорослого населення та є однією з головних причин розвитку пародонтиту і втрати зубів [7, 9]. У людини запалення пародонта відбувається з участю мікробів на тлі дисбактеріозу (дисбіозу) ротової порожнини [3].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Принцип даної модельної патології полягає в ураженні ясен і пародонта шляхом відтворення дисбіозу

ротової порожнини (виникає після введення щурам лінкоміцину в дозі 60 мг/кг протягом 5 днів) з наступним локальним ураженням ясен, яке викликають, наносячи суспензію бджолиної отрути (аплікації) з концентрацією 1 мг/мл у дозі 2 мл протягом 3 діб. Запально-дистрофічне захворювання ясен і пародонта розвивається через 2–3 доби після останньої аплікації [10]. Зважаючи на це, дану модельну патологію було використано для скринінгу ефективних доз тест-зразка [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів досліджень, наведених у таблиці, показав, що в групі позитивного контролю маркери запалення (кисла фосфатаза та білок за Лоурі) суттєво перевищували відповідні показники в інтактних тварин. Значуще зростання рівня ТБК-активних продуктів в яснах нелікованих тварин, порівняно з показниками групи інтактного контролю, свідчило про порушення трофіки пародонта і розвиток гіпоксії пародонта, яка, у свою чергу, є причиною наступного етапу захворювання – деструкції клітинних мембран і загибелі клітин пародонта (пародонтит) [4, 12].

З наведених даних видно, що застосування 40 % спиртової настоянки “Касдент” у розведенні 1:3 (розчинник–вода очищена) було найбільш ефективним для відновлення рівноваги в системі ПОЛ/АОС (зниження рівня ТБК-реактантів до рівня групи інтактного контролю) і зменшення запально-деструктивних процесів в яснах і пародонті (зниження КФ до нор-

© Л. В. Яковлева, І. В. Стефанів, 2013.

Таблиця – Вплив різних розведень стоматологічної настоянки “Касдент” на біохімічні показники за умов гінгівіту в щурів (M±m)

Показник	Експериментальна група					р (Крускал-Уоліс)
	інтактний контроль	позитивний контроль	касдент, 1:1,5	касдент, 1:2	касдент, 1:3	
ТБК-реактанти, мкмоль/л	50,48±3,95	85,09±10,37 p ₁ =0,0157	55,61±8,60 p ₂ =0,0457	121,79±56,06 p ₁ =0,0274	50,95±4,75 p ₂ =0,0156	0,0170
ВГ	2,64±0,09	2,52±0,11	2,49±0,18	2,35±0,08	2,34±0,10	0,1967
КФ	0,47±0,09	1,04±0,18 p ₁ =0,0046	0,58±0,11	0,65±0,14 p ₂ =0,0457	0,49±0,15 p ₂ =0,0311	0,0566
Білок за Лоурі	92,60±3,03	116,3±3,29 p ₁ =0,0011	120,22±12,23 p ₁ =0,0115	113,59±4,69 p ₁ =0,0063	119,97±7,61 p ₁ =0,0115	0,0094

Примітки:

- 1) n=8 у кожній експериментальній групі;
- 2) p₁ – рівень значущості щодо даних групи інтактного контролю (критерій Манна-Уїтні);
- 3) p₂ – рівень значущості щодо даних групи позитивного контролю (критерій Манна-Уїтні).

мального рівня). Використання інших розведень настоянки “Касдент” (1:1,5 та 1:2) сприяло відновленню лише одного з біохімічних показників: ТБК і КФ відповідно.

ВИСНОВОК. Обрано умовно-терапевтичну дозу стоматологічної настоянки “Касдент” у розведенні 1:3, яку використовували в подальших дослідженнях.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Безрукова И. В. Микробиологические и иммунологические аспекты этиопатогенеза быстро прогрессирующего пародонтита (обзор литературы) / И. В. Безрукова // Пародонтология. – № 3.
2. Борисенко А. В. Комплексное лечение генерализованного пародонтита / А. В. Борисенко // Журн. практ. врача. – 1996. – № 2. – С. 21–22.
3. Воложин А. И. Содержание лизоцима в биологических субстратах животных при воспроизведении пародонтита / А. И. Воложин, С. И. Виноградова, И. А. Денисова, И. П. Журавлева // Вопр. мед. химии. – 1993. – **39**, № 3. – С. 53–57.
4. Грудянов А. И. Биохимические исследования различных физиологических сред и тканей при воспалительных заболеваниях пародонта (литературный обзор) / А. И. Грудянов, К. Е. Москалев // Пародонтология. – 1997. – № 4 (6). – С. 3–13.
5. Грудянов А. И. Лекарственные средства, применяемые при заболеваниях пародонта / А. И. Грудянов, Н. А. Стариков // Пародонтология. – 1998. – № 8. – С. 6–17.
6. Дегтярев В. П. Физиология челюстно-лицевой области / В. П. Дегтярев, С. М. Бутылина // Терапевтическая стоматология : учеб. пособ. – М. : МЕДпресс-информ, 2003. – С. 9–144.
7. Застосування фітоадаптогенів у стоматології (огляд літератури) / Н. Б. Мірчук, М. С. Драгомирецька, О. В. Деньга, А. П. Левицький // Вісник стоматології. – 2007. – № 2. – С. 62–66.
8. Кунин А. А. Основы патогенетической терапии заболеваний пародонта / А. А. Кунин, С. В. Ерина, А. А. Маменовская // Вопр. клин. стоматологии. – 1997. – Вып. 7. – С. 73–76.
9. Мороз К. А. Порівняльна оцінка антибактерійної дії фітозасобів Фемодент, Стоматофіт і Ротокан / К. А. Мороз, Й. М. Федечко, Р. М. Федін // Новини стоматології. – 2008. – № 3. – С. 6–8.
10. Пат. 31011 Україна. Спосіб моделювання гінгівіту / Левицький А. П., Селищанська І. О., Макаренко О. А., Розсаханова Л. М., Ходаков І. В. – Опубл. 25.03.08, Бюл. № 6.
11. Романов А. Е. Антибактериальная терапия в комплексном лечении пародонта / А. Е. Романов, В. Н. Царев // Стоматология. – 1996. – № 1. – С. 23–25.
12. Улитовский С. Б. Профилактика и лечение начальных форм заболеваний пародонта растительными лекарственными средствами / С. Б. Улитовский, Л. И. Шаламай // Пародонтология. – 2002. – № 3 (24). – С. 33–37.
13. Чумакова Ю. Г. Состояние местного иммунитета полости рта и системного иммунитета у лиц молодого возраста с хроническим катаральным гингивитом / Ю. Г. Чумакова, Н. Н. Запорожец, О. В. Мороз // Вісник стоматології. – 2002. – № 1. – С. 22–24.

Л. В. Яковлева¹, И. В. Стефанів²
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ¹, ХАРЬКОВ
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ НАСТОЙКИ “КАСДЕНТ” НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИНГИВИТА У КРЫС

Резюме

Рассмотрены изменения биохимических показателей воспаления при применении настойки “Касдент” в различных разведениях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **воспалительные заболевания, полость рта, гингивит, пародонтит.**

L. V. Yakovleva¹, I. V. Stefaniv²
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY¹, KHARKIV
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

THE STUDY OF SPECIFIC PHARMACOLOGICAL EFFECT OF TINCTURE “KASDENT” ON THE MODEL OF EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN RATS

Summary

Consider changes in biochemical markers of inflammation in the application of tincture “Kasdent” in different dilution.

KEY WORDS: **inflammatory disease, oral cavity, gingivitis, periodontitis.**

Отримано 19.04.13

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

ІМУНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ У ДІТЕЙ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ НА ФОНІ ТОКСОКАРОЗУ

*Вивчали імунологічні особливості перебігу хронічної патології травної системи на фоні токсокарозу. Дітей із супутнім токсокарозом рідше госпіталізують з приводу уродженої патології травної системи. Перебіг захворювань гастродуоденальної і гепатобіліарної зон у пацієнтів із супутньою інвазією *Toxocara canis* супроводжувався достовірним збільшенням вмісту еозинофілів у периферичній крові, підвищенням рівня Ig E, інтерлейкіну-4 та фактора некрозу пухлин- α .*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: токсокароз, діти, інтерлейкін-4, фактор некрозу пухлин- α , Ig E, травна система.

ВСТУП. Незважаючи на велику кількість даних щодо етіології, патогенезу, клінічних проявів гельмінтозів, увага до цих інвазій залишається досить високою. Покращуються методи їх діагностики. Так, завдяки появі серологічних методів визначення Ig G до різноманітних гельмінтозів, зросла частота діагностики тканинних гельмінтозів, у тому числі токсокарозу [6].

Імунна відповідь, яка індукується гельмінтозами, в основному Th2-направлена і проявляється синтезом таких протизапальних цитокінів, як ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-9, ІЛ-10, ІЛ-13. З них одним із найважливіших є інтерлейкін-4 (ІЛ-4), який, у свою чергу, стимулює проліферацію еозинофілів, базофілів, мастоцитів, призводить до підвищення рівня Ig E і забезпечення Ig E-залежної медіаторної реакції. Еозинофіли, у свою чергу, мають здатність продукувати різноманітні цитокіни, в тому числі фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), і тим самим сприяти хронізації алергічного запалення. ФНП- α синтезується також макрофагами, лімфоцитами, мастоцитами і натуральними кілерами [7–9]. Проводили різноманітні дослідження щодо значення ІЛ-4 і ФНП- α при алергічних процесах, їх поєднанні з гастроєзофагально-рефлюксною хворобою, інвазії вугрицею кишковою, обструктивному синдромі на фоні інвазії токсокарозом. Але недостатньо даних щодо їх ролі в патогенезі хронічних захворювань травної системи на фоні токсокарозу [3, 4, 7–9].

© К. Т. Глушко, 2013.

Метою даної роботи було вивчити особливості імунної відповіді, а також роль ІЛ-4 і ФНП- α при хронічних захворюваннях травної системи на фоні токсокарозу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 47 дітей із захворюваннями травної системи, які перебували на лікуванні в спеціалізованому відділенні. Серед патологій травної системи найчастіше діагностували захворювання гепатобіліарної зони, а саме функціональні розлади біліарного тракту (ФРБТ) – 95,7 % (45) випадків. На другому місці перебували запальні й виразкові ураження гастродуоденальної ділянки. Хронічний гастродуоденіт (ХГД), не асоційований з *H. pylori*, діагностували у 23,4 % (11), ХГД, асоційований з *H. pylori*, – у 12,8 % (6), виразкову хворобу (ВХ) дванадцятипалої кишки – у 12,3 % (1) випадків. Далі за частотою знаходилися спадкові захворювання: уроджену гіполактазію діагностували у 8,5 % (4) дітей, доліхоколон – у 6,4 % (3), синдром Жильбера – у 5,0 % (1) обстежених.

Усіх дітей поділили на 2 групи. До 1-ї групи ввійшли 27 (57,5 %) пацієнтів з діагностованим токсокарозом, 2-гу (контрольну) групу склали 20 (42,6 %) дітей без супутніх гельмінтозів. За статтю і віком групи були зрівняними.

До складу 1-ї групи ввійшли 12 (44,4 %) хлопчиків і 15 (55,6 %) дівчаток ($p_{II} > 0,05$). В основному це були діти шкільного віку, середній вік яких становив $(9,6 \pm 4,7)$ року ($p_{II} > 0,05$).

Достовірно частіше проживали в сільській місцевості – 39 (70,9 %) обстежених ($p_1 < 0,05$).

Вік дітей 2-ї групи становив $(11,6 \pm 3,5)$ року, з них було 10 (50,0 %) хлопців і 10 (50,0 %) дівчат. За місцем проживання виявилось, що це переважно жителі міста – 13 (65 %) пацієнтів, а села – 7 (35 %).

Усіх дітей було обстежено згідно з діючими протоколами № 59 від 29.01.13 р. Методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначали вміст Ig G до токсокар за допомогою реактивів "Vitrotest". Результат вважали позитивним при індексі позитивності $\geq 1,1$. Концентрації загального Ig E, ІЛ-4 і ФНП- α в сироватці крові вимірювали за допомогою ІФА ("Вектор-Бест"). Рівень ІЛ-4 вважали нормальним при показниках 0–4 пг/мл, ФНП- α – при показниках 0–6 пг/мл, а Ig E – при значенні ≤ 100 МО/мл.

Статистичну обробку даних проводили методом варіаційної статистики, достовірність результатів визначали за допомогою t-критерію Стюдента чи Манна-Уїтні. Результати вважали статистично достовірними при $p < 0,05$. Зв'язок між даними визначали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Діти із супутнім токсокарозом достовірно рідше перебували на стаціонарному лікуванні з приводу уродженої чи спадкової патології травної системи – 4,3 % (2,0 випадків ($p < 0,05$)) (табл. 1).

Відмічали тенденцію до зростання частоти гастроудоденальної патології запального ха-

рактеру без супутнього гелікобактеріозу і, навпаки, її зменшення у поєднанні з *H. pylori* у пацієнтів 1-ї групи.

Кількість еозинофілів периферичної крові у пацієнтів 1-ї групи була достовірно вищою ($p < 0,05$) і коливалася від 2 до 34 %, що відповідає даним літератури щодо еозинофілії (аж до еозинофільно-лейкемоїдних реакцій) як одного із симптомів токсокарозу (табл. 2). Кількість еозинофілів, залежно від характеру ураження травної системи (ФРБТ, ХГД та ін.), у хворих обох груп не відрізнялася ($p > 0,05$). Проте найвищі рівні еозинофілії спостерігали в пацієнтів з ХГД, не асоційованим з *H. pylori*. Можна думати про роль *t. canis* у розвитку даної патології.

Вміст Ig E у дітей 1-ї групи був достовірно більшим від групи контролю ($p < 0,01$) і коливався від 90 до 690 МО/мл (табл. 2). Ig E в цих пацієнтів підвищувався в результаті його ролі у протипаразитарному захисті, внаслідок стимуляції Тх2-імунної відповіді. Виявлено прямий зв'язок між рівнем еозинофілії і концентрацією Ig E у пацієнтів 1-ї групи ($R = 0,4$, $p < 0,05$).

Рівень ІЛ-4 у дітей 1-ї групи був достовірно вищим від групи контролю ($p < 0,01$) і коливався від 6 до 94 пг/мл. Найбільший вміст ІЛ-4 (94 пг/мл) визначали в одній дитині з кальцинатами в печінці й селезінці. Концентрація ІЛ-4 у пацієнтів обох груп не відрізнялася залежно від характеру ураження травної системи. Проте у дітей 1-ї групи показники ІЛ-4 при ХГД і ВХ дванадцятипалої кишки були вищими, ніж при ФРБТ і уродженій патології. Виявлено

Таблиця 1 – Структура захворювань органів травлення у дітей обох груп

Захворювання	1-ша група		2-га група	
	n	%	n	%
ФРБТ	27,0	100,0	18,0	90,0
ХГД, не асоційований з <i>H. pylori</i>	7,0	25,9	4,0	20,0
ХГД, асоційований з <i>H. pylori</i>	2,0	7,4	4,0	20,0
ВХ дванадцятипалої кишки	1,0	3,7	0,0	0,0
Уроджена гіполактазія	2,0	7,4	2,0	10,0
Доліхоколон	0,0	0,0	3*	15,0
Синдром Жильбера	0,0	0,0	1,0	5,0

Примітки:

- 1) n – абсолютна кількість;
- 2) * – $p < 0,05$ – достовірність порівняно з 2-ю групою.

Таблиця 2 – Імунологічні показники в обстежених дітей ($M \pm m$)

Показник	1-ша група	2-га група
Еозинофіли, %	$10,6 \pm 8,5^*$	$5,7 \pm 3,2$
Ig E, МО/мл	$316,8 \pm 158,4^\#$	$164,0 \pm 138,0$
ІЛ-4, пг/мл	$10,6 \pm 8,5^\#$	$5,3 \pm 3,2$
ФНП- α , пг/мл	$5,7 \pm 5,5$	$4,4 \pm 4,4$

Примітки:

- 1) * – $p < 0,05$ – достовірність порівняно з 2-ю групою;
- 2) $^\#$ – $p < 0,01$ – достовірність порівняно з 2-ю групою.

пряму залежність між вмістом ІЛ-4 і Іg Е (R=0,4, p<0,05), а також ураженням травної системи запального характеру (R=0,5, p<0,01) у пацієнтів 1-ї групи. Підвищення вмісту ІЛ-4 пояснюється стимуляцією Тх2-імунної відповіді у відповідь на інвазію *t. canis* [1–4].

Концентрація сироваткового ФНП-α не відрізнялася в обох групах (p>0,05). При порівнянні вмісту ФНП-α в пацієнтів обох груп було виявлено, що його рівень підвищився у дітей при ХГД чи ВХ дванадцятипалої кишки – (8,8±6,5) пг/мл (p<0,01) на відміну від його вмісту при ФРБТ чи уродженій патології –

(3,1±2,9) пг/мл (у 1-й групі). В 2-й групі ці показники становили (7,8±5,0) (p<0,01) і (2,1±1,6) пг/мл відповідно.

ВИСНОВКИ. Інфікування *toxocara canis* супроводжується високою еозинофілією периферичної крові, іноді аж до розвитку еозинофільно-лейкемоїдних реакцій, збільшенням вмісту Іg Е, ІЛ-4. Діти з хронічною патологією травної системи, в яких виявляють вищевказані імунологічні порушення, повинні бути комплексно обстежені, в тому числі й на токсокароз.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. – К. : ООО “Полиграф Плюс”, 2006. – 318 с.
2. Ешану В. С. Цитокины и их биологические эффекты при некоторых болезнях печени / В. С. Ешану // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2004. – № 5. – С. 11–16.
3. Миропольская Н. Ю. Цитокиновый баланс крови у детей с бронхообструктивным синдромом на фоне токсокароза / Н. Ю. Миропольская, Г. Г. Обухова // Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей : материалы VI Российского конгресса детских инфекционистов, 2006 г. : тез. докл. – М., 2007. – С. 109.
4. Новицкий В. В. Молекулярные механизмы нарушения взаимодействия эффекторных клеток крови при патологии инфекционной и неинфекционной природы / В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Л. С. Литвинова // Бюллетень РО РАМН. – 2008. – № 4 (132). – С. 36–48.
5. Allergy and Parasites [Електронний ресурс] / F. Bruschi, M. I. Araujo, W. Harnett, E. Pinelli // Journal of Parasitology Research. – 2013. – Режим доступу до журн. : <http://dx.doi.org/10.1155/2013/502562>.
6. Aranzamendi C. Helminth: immunoregulation and inflammatory diseases – wich side are Trichinella spp. and Toxocara spp. on? [Електронний ресурс] / C. Aranzamendi, L. Sofronic-Milosavljevic, E. Pinelli // Journal of Parasitology Research. – 2013. – Режим

доступу до журн. : <http://dx.doi.org/10.1155/2013/329438>.

7. Inflammation, chronic diseases and cancer - cell and molecular biology, immunology and clinical bases [електронний ресурс] / [J. M. Barcante, T. A. Barcante, A. P. Peconick at al.] ; edited by M. Khatami. – InTech, 2012. – 430 p. – DOI: 10.5772/25710. Available from: <http://www.intechopen.com/books/inflammation-chronic-diseases-and-cancer-cell-and-molecular-biology-immunology-and-clinical-bases/parasitic-infections-and-inflammatory-diseases>

8. Semeniuk J. Serum interleukin – 4 and tumor necrosis factor alpha concentration in children with primary acid gastroesophageal reflux and acid gastroesophageal reflux secondary to cow's milk allergy / J. Semeniuk, J. Wasilewska, M. Kaczmarek // Advances in Medical Sciences. – 2012. – **57** (2). – P. 273–281.

9. Siegel M. O. Is Human Immunodeficiency virus infection a risk factor for Strongyloides stercoralis hyperinfection and dissemination? [Електронний ресурс] / M. O. Siegel, G. L. Simon // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2012. – **6**, № 7. – Режим доступу до журн. : <http://www.plosntds.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pntd.0001581>.

10. Zhang W. Mechanisms of immunity in hydatid disease: implications for vaccine development [Електронний ресурс] / W. Zhang, A. G. Ros, D. P. McManus // Journal of Immunology. – 2008. – № 181. – P. 6679–6685. – Режим доступу до журн. : <http://www.jimmunol.org/content/181/10/6679.full#ref-list-1>

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА ФОНЕ ТОКСОКАРОЗА

Резюме

*Изучали иммунологические особенности течения хронической патологии пищеварительной системы на фоне токсокароза. Детей с сопутствующим токсокарозом реже госпитализируют по поводу врожденной патологии пищеварительной системы. Течение заболеваний гастродуоденальной и гепатобилиарной зон у пациентов с сопутствующей инвазией *Toxocara canis* сопровождалось достоверным увеличением содержания эозинофилов в периферической крови, повышением уровня Ig E, интерлейкина-4 и фактора некроза опухолей- α .*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: токсокароз, дети, интерлейкин-4, фактор некроза опухолей- α , Ig E, пищеварительная система.

K. T. Glushko

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF CHRONIC DIGESTIVE PATHOLOGY AMONG CHILDREN WITH TOXOCARIASIS

Summary

*The immunological feature of chronic digestive diseases against a background of toxocarosis was investigated. The child with concomitant toxocarosis was less hospitalized because of congenital anomalies of digestive system. The course of gastroduodenal diseases and hepatobiliary zones in patients with concomitant invasion of *Toxocara canis* accompanied by significantly higher content of eosinophils in the peripheral blood, levels of Ig E, interleukin-4 and tumor necrosis factor- α .*

KEY WORDS: toxocarosis, children, interleukin-4, tumor necrosis factor- α , Ig E, digestive system.

Отримано 14.05.13

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

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУБСТАНЦІЇ АРОНІЇ ГІДРОФІЛЬНОЇ НА МОДЕЛІ АДРЕНАЛІНОВОГО МІОКАРДИТУ В ЩУРИВ

В ході проведених експериментальних досліджень показано, що при патології міокарда, викликаній внутрішньом'язовим введенням адреналіну гідрохлориду, досліджувана субстанція аронії проявила кардіопротекторні властивості, що підтвердилось нормалізацією показників вільнорадикального окиснення, цитолізу, метаболічних та електрофізіологічних процесів у міокарді.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аронія чорноплідна, кардіопротекторні властивості, модель адреналінового міокардиту.

ВСТУП. Одним із фундаментальних досягнень сучасної кардіології є розробка концепції про роль пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембранних структур клітини у формуванні ішемічної альтерації міокарда. Відомо, що процеси ПОЛ, беручи участь у синтезі простагландинів і стероїдів, активуючи мембранозв'язувальні ферменти, змінюючи проникність клітинних мембран, є важливою ланкою нормального метаболізму. Водночас активація ПОЛ при захворюваннях міокарда може призвести до пошкодження мембран кардіоміоцитів та інших клітинних структур міокарда [1, 2, 8, 11, 19]. Таку активацію можуть викликати тривала дія прооксидантів, гіпоксія, неадекватне фізичне навантаження або інші види стресу.

ПОЛ є одним із ключових регуляторних механізмів функціонування мембран міокарда, що забезпечують збалансоване їх підвищення на початковому етапі пошкодження, збільшення проникності сарколемних структур, яке розглядають як компенсаторну адаптивну реакцію сарколеми ішемізованого кардіоміоцита. Підвищення проникності сарколеми полегшує дифузний транспорт напівоокиснених продуктів метаболізму з ішемізованих кардіоміоцитів та пролонгує фазу зворотних пошкоджень внутрішньоклітинних структур. При виснаженні рівня ендогенних антиоксидантів та розвитку внутрішньоклітинного ацидозу ПОЛ набуває неконтрольованого характеру та викликає незворотне пошкодження ліпідних структур мембран, що призводить до деструкції кардіоміоцита [1, 3, 15, 22].

© Д. В. Семенів, 2013.

При активації ПОЛ утворюються токсичні продукти, які беруть участь у багатьох реакціях, що призводять до деполімеризації мукополісахаридів, окиснення сульфгідрильних груп, пошкодження нуклеїнових кислот та інактивації або модифікації ензимів [6, 9, 18, 22].

Вказані молекулярні механізми є основою розвитку захворювань серцево-судинної системи, таких, як ішемічна хвороба серця, атеросклероз, кардіоміопатія, гіпертонічна хвороба [11, 12, 19]. Досить важливу роль у патогенезі даних захворювань відіграє гіперкатехолаемія, яка може бути як ендогенного генезу (стресогенна), так і екзогенного походження (зумовлена надлишковим застосуванням адренергічних засобів: адреналіну гідрохлориду, ізопреналіну та ін.), що ініціює каскад біохімічних, імунологічних, реологічних та функціональних змін у міокарді [1, 20, 21]. Враховуючи це, а також дані літератури, перспективним є дослідження кардіопротекторних властивостей такої рослини, як аронія чорноплідна, досвід застосування якої в медичній практиці відомий при лікуванні атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, завдяки багатому комплексу біологічно активних речовин, що включає велику кількість каротиноїдів, ретиноїдів, фенолових сполук (антоціанідинів, флавоноїдів, дубильних речовин та ін.), вітамінів, органічних і жирних кислот, мікро- та макроелементів, фосфоліпідів тощо. Доведено зв'язок антиоксидантного ефекту екстракту плодів аронії з фактором кардіоваскулярного ризику.

Фітохімічний склад аронії чорноплідної може потенційно забезпечити нормалізацію

порушень при ураженнях міокарда, знижуючи запальну реакцію, поліпшуючи мікроциркуляцію в ураженій ділянці, проявляючи виражені протизапальну, антиоксидантну, анаболічну, мембраностабілізуючу дію [12]. У зв'язку з цим, було доцільним вивчити кардіопротекторну активність гідрофільної субстанції аронії чорноплідної (САГ) на катехоламінозумовленій моделі ураження міокарда – адреналінового міокардиту серцевого м'яза [4, 5, 14].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У досліді було використано 32 безпородних щурів-самців лінії Вістар масою (200±10) г. Усіх тварин поділили на 4 групи по 8 у кожній: 1-ша група – інтактний контроль; 2-га – контрольна патологія; 3-тя – тварини з адреналіновим міокардитом (АМ), ліковані САГ у дозі 2 мл/кг (доза,

встановлена в попередніх дослідях за антирадикальними та мембранопротекторними властивостями); 4-та – тварини з АМ, ліковані кверцетином у дозі 5 мг/кг (умовно-терапевтична доза за кардіопротекторними властивостями) [10, 13, 16, 17]. Кверцетин і САГ вводили внутрішньошлунково в профілактичному режимі протягом 5 днів.

Адреналіновий міокардит викликали шляхом внутрішньом'язового введення 0,8 мг (по 0,2–0,25 мг через кожні 30 хв) розчину адреналіну гідрохлориду виробництва ФФ “Дарниця” [5]. На даній моделі ураження міокарда препаратом порівняння було обрано кверцетин виробництва ЗАТ НВЦ “Борщагівського хімікофармацевтичного заводу” [17].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження наведено у таблицях 1, 2.

Таблиця 1 – Вплив САГ та кверцетину на показники електрокардіограми при адреналіновому міокардиті

Показник	Умова експерименту			
	інтактний контроль (n=8)	контрольна патологія (n=5)	САГ, 2 мл/кг (n=6)	Кверцетин, 5 мг/кг (n=5)
ЧСС, уд./хв	396,53±16,79	539,48±12,20*	434,88±20,16**	439,29±24,27**
PQ, с	0,04±0,002	0,03±0,002*	0,04±0,002**	0,04±0,002**
QRS, с	0,020±0,001	0,020±0,001	0,016±0,001	0,017±0,002
QT, с	0,09±0,001	0,05±0,005*	0,09±0,010**	0,08±0,009**
R, мВ	0,54±0,06	0,38±0,04*	0,53±0,08**	0,52±0,07**
P, мВ	0,10±0,013	0,04±0,007*	0,08±0,017**	0,05±0,017
T, мВ	0,14±0,02	0,07±0,01*	0,15±0,02**	0,15±0,02**
СП, %	48,78±10,6	34,50±2,9	58,38±5,6	57,67±5,3
ST, мм	1,4±0,16	-0,4±0,31*	1,0±0,11	1,0±0,11

Примітки:

- 1) * – відхилення достовірне відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$);
- 2) ** – відхилення достовірне відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$);
- 3) ST – відхилення ST від ізолінії;
- 4) n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2 – Вплив САГ та кверцетину на біохімічні показники при адреналіновому міокардиті

Показник	Умова експерименту			
	інтактний контроль (n=8)	контрольна патологія (n=5)	САГ, 2 мл/кг (n=7)	Кверцетин, 5 мг/кг (n=6)
МКС – масовий коефіцієнт серця	0,32±0,01	0,39±0,01*	0,35±0,01**	0,35±0,01**
Гомогенат міокарда				
ТБК-реактанти, мкмоль/г	27,24±1,91	75,38±5,65*	50,49±2,15**	55,98±4,30**
G-SH, мкмоль/г	2,15±0,09	1,27±0,13*	2,03±0,14**	1,66±0,10**
Глікоген, г/л	3,82±0,04	3,12±0,02*	3,61±0,04**	3,37±0,03
Сироватка крові				
АсАТ, ммоль/г·л	0,73±0,02	1,45±0,03*	1,20±0,03**	1,25±0,03**
ТБК-реактанти, мкмоль/л	0,54±0,02	1,54±0,08*	0,60±0,04**	1,28±0,11
G-SH, мкмоль/л	4,06±0,17	2,35±0,14*	3,04±0,17**	2,80±0,12**

Примітки:

- 1) * – відхилення достовірне відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$);
- 2) ** – відхилення достовірне відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$);
- 3) n – кількість тварин у групі.

Відомо, що при введенні токсичних доз адреналіну розвиваються гіпоксія серцевого м'язу, кардіоцитоліз. У результаті периферичного спазму кровообіг у тканинах знижується, об'єм активно циркулюючої крові зменшується, відбувається централізація кровообігу, живлення тканин порушується, що підтверджується патологічними змінами показників ЕКГ [4, 7]. У групі тварин з контрольною патологією спостерігали зміни, характерні для гострих ішемічно-некротичних процесів у міокарді. Так, адреналінове ураження міокарда проявилось перш за все достовірним підвищенням ЧСС (на 35 %) (табл. 1).

На тлі застосування адреналіну гідрохлориду відзначали зниження систолічного показника та скорочувальної функції міокарда (зубець R) на 30 %, що необхідно розглядати як нестачу скорочувальної активності передсердь внаслідок виснаження міокарда. У результаті невідповідності між використанням кисню та потребою в ньому під час кардіотоксичного впливу адреналіну відмічали зміщення сегмента ST від ізолінії в групі щурів з контрольною патологією на 25 % (табл. 1).

Одноразове внутрішньом'язове введення розчину адреналіну гідрохлориду призводило до істотних змін у міокарді та сироватці крові, що підтверджувалось змінами біохімічних показників.

Адреналінове пошкодження міокарда супроводжувалося також істотною активацією процесів ПОЛ (табл. 2): рівень продуктів реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) у гомогенаті міокарда та сироватці крові збільшився в 2,9 раза. Пошкодження у міокарді призводили до виснаження глутатіонзберігаючої активності: рівень відновленого глутатіону знизився в гомогенаті міокарда та сироватці крові в 1,7 раза. Введення адреналіну гідрохлориду призводило до підсилення кардіоцитолізу, про що свідчило підвищення активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові в 2 рази (табл. 2).

Патологія міокарда, спричинена введенням розчину адреналіну гідрохлориду, характеризувалася розвитком проліферативних та ексудативних процесів, які сприяли збільшенню значення масового коефіцієнта серця в 1,2 раза в групі тварин з контрольною патологією порівняно з інтактним контролем (табл. 2).

Застосування субстанції аронії гідрофільної і кверцетину призвело до зниження кардіотоксичних ефектів великих доз адреналіну. При аналізі показників ЕКГ перш за все звер-

тає увагу нормалізація ЧСС на 20 % у групі тварин, яким вводили САГ і кверцетин. Цей показник наближався до значень інтактної групи.

Про покращення електрофізіологічних процесів у серці при застосуванні досліджуваних засобів свідчили підвищення систолічного показника на 65 %, зменшення явищ ішемії (зникнення зміщення сегмента ST від ізолінії), покращення на 39 % скорочувальної здатності міокарда (зубець R).

Крім того, на тлі внутрішньошлункового введення САГ відбувалося зменшення інтенсивності процесів ПОЛ: рівень ТБК-реактантів у гомогенаті міокарда достовірно знижувався на 43 %, у сироватці крові – на 61 % порівняно з контрольною патологією (табл. 2).

При застосуванні САГ відмічали відновлення глутатіонзберігаючої активності: достовірно підвищення рівня відновленого глутатіону в сироватці крові на 29 %, у гомогенаті міокарда – на 60 %. При введенні кверцетину спостерігали лише тенденцію (на 5 %) до нормалізації даного показника в сироватці крові й на 30 % – у гомогенаті міокарда.

Під дією кверцетину відбувалося достовірно зниження рівня ТБК-реактантів у гомогенаті міокарда – на 26 %, у сироватці крові відзначали лише тенденцію до зниження цього показника на 17 %.

При адреналіновому міокардиті досліджувані засоби проявили антицитолітичну активність, що підтверджувалося зниженням активності ферменту АсАТ у сироватці крові на 17 % ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

Під впливом САГ спостерігали відновлення процесів утворення енергії та стабілізацію стану вуглеводного обміну в серці, про що свідчило підвищення глікогену на 16 %. Препарат порівняння кверцетин поступався САГ за впливом на метаболічні процеси в міокарді: вміст глікогену збільшився тільки на 8 %.

ВИСНОВКИ. При патології міокарда, викликаній внутрішньом'язовим введенням адреналіну гідрохлориду, досліджувана субстанція аронії гідрофільної проявила кардіопротекторні властивості, що підтвердилось нормалізацією показників ПОЛ, цитолізу, метаболічних та електрофізіологічних процесів у міокарді.

Одержані результати експериментально обґрунтовують доцільність подальшого дослідження субстанції аронії гідрофільної з метою використання її в лікуванні захворювань міокарда.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамченко В. В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве (Оксидативный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами) / В. В. Абрамченко. – СПб. : Изд-во ДЕАН, 2001. – 400 с.
2. Арутюнян А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина. – СПб. : ИКФ "Фолиант", 2000. – 104 с.
3. Беленічев І. Ф. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // Ліки. – 2002. – № 1–2. – С. 43–45.
4. Брусов О. С. Влияние природных ингибиторов радикальных материй на аутоокисление адреналина / О. С. Брусов, А. М. Герасимов, Л. Ф. Панченко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1976. – № 1. – С. 33.
5. Вишневецкая О. П. Ареактивность миокарда белых крыс к повторным инъекциям больших доз адреналина / О. П. Вишневецкая // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1954. – № 10. – С. 29–32.
6. Горчакова Н. О. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н. О. Горчакова, С. А. Олійник, К. Г. Гаркава // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7–13.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
8. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – Мн. : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – Мн. : Беларусь, 2000. – Т. 2. – 463 с.
10. Ковалёв В. Б. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) / В. Б. Ковалёв, В. В. Ковган, Е. Ю. Колчина // Укр. мед. альманах. – 1999. – 2, № 4. – С. 176–184.
11. Ланкин В. З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Ю. Н. Беленков // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 49–59.
12. Семенів Д. В. Обґрунтування створення та використання препаратів з противиразковою та репаративною дією на основі аронії чорноплідної: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук / Д. В. Семенів. – Харків, 2011. – 36 с.
13. Чекман И. С. Кардиопротекторы: аспекты фармакодинамики / И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б. Французова // Междунар. мед. журн. – 2002. – № 1–2. – С. 199–205.
14. Antioxidative polyphenols from berries of *Pimenta dioica* / Y. Miyajima, H. Kikuzaki, M. Hisamoto, N. Nakatani // Biofactors. – 2004. – 22, № 1–4. – P. 301–303.
15. Beninger C. W. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes / C. W. Beninger, G. L. Hosfield // J. Agric. Food Chem. – 2003. – 51, № 27. – P. 7879–7883.
16. Kitsoni T. M. Spectrophotometric and kinetic studies on the binding of the bioflavonoid quercetin to bovine serum albumin / T. M. Kitsoni // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2004. – 68, № 10. – P. 2165–2170.
17. Kozhukhov S. Cardioprotective effect of lipoxygenase inhibitor Quercetin in acute myocardial infarction with left ventricular heart failure / S. Kozhukhov, A. Parkhomenko, A. Moibenko // Europ. Heart J. – 2003. – 24, № 1. – (Suppl.). – P. 620.
18. Liposomes enhance bioremediation of oil-contaminated soil / A. Barenholz, F. Fishel, E. Yakir [et al.] // J. Liposome Res. – 2003. – 13, № 2. – P. 173–186.
19. Mechanism of the endothelium-dependent vasodilation and the antihypertensive effect of Brazilian red wine / R. S. de Moura, D. Z. Miranda, A. C. Pinto [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – 44, № 3. – P. 302–309.
20. Permeability characteristics and membrane affinity of flavonoids and alkyl gallates in Caco-2 cells and in phospholipid vesicles / P. Tammela, L. Laitinen, A. Galkin [et al.] // Arch. Biochem. and Biophys. – 2004. – 425, № 2. – P. 193–199.
21. Relationship between the action of reactive oxygen and nitrogen species on bilayer membranes and antioxidants / V. R. de Lima, M. P. Morfim, A. Teixeira, T. B. Creczynski-Pasa // Chem. Phys. Lipids. – 2004. – 132, № 2. – P. 197–208.
22. Sengupta B. Investigations on the binding and antioxidant properties of the plant flavonoid fisetin in model biomembranes / B. Sengupta, A. Banerjee, P. Sengupta // FEBS Lett. – 2004. – 570, № 1–3. – P. 77–81.

Д. В. Семенів

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ СУБСТАНЦИИ АРОНИИ ГИДРОФИЛЬНОЙ НА МОДЕЛИ АДРЕНАЛИНОВОГО МИОКАРДИТА У КРЫС

Резюме

В ходе проведенных экспериментальных исследований было показано, что при патологии миокарда, вызванной внутримышечным введением адреналина гидрохлорида, исследуемая субстанция аронии

проявила кардиопротекторные свойства, что подтвердилось в нормализации показателей свободнорадикального окисления, цитолиза, метаболических и электрофизиологических процессов в миокарде.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: арония черноплодная, кардиопротекторные свойства, модель адреналинового миокардита.

D. V. Semeniv
IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INVESTIGATIONS OF CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF CHOKEBERRY'S HYDROPHILIC SUBSTANCE TO THE MODELS OF RATS' ADRENALINE MYOCARDITIS

Summary

During experimental researches it was not investigated that with myocardial pathology caused by internal injections of adrenaline hydrochloride, the investigated chokeberry's substance showed cardioprotective properties that influenced the normalization of indicators of free-radical oxidation, cytolysis, metabolic and electrophysiological processes in myocardium.

KEY WORDS: chokebbery, cardioprotective properties, models of adrenaline myocarditis.

Отримано 19.04.13

Адреса для листування: Д. В. Семенів, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.

ДОСВІД ВИКОРИСТАННЯ НЕТРАДИЦІЙНИХ ФОРМ ПРОВЕДЕННЯ ЛЕКЦІЙ
ДЛЯ ІНОЗЕМНИХ СТУДЕНТІВ

У статті розглянуто актуальні проблеми, що виникають при підготовці та проведенні лекцій з дисципліни "Біологічна та біоорганічна хімія" для студентів факультету підготовки іноземних громадян. Запропоновано шляхи та методи вдосконалення подання лекційного матеріалу для покращення розуміння термінів та понять і успішного засвоєння дисципліни. Обґрунтовано доцільність застосування мультимедійних технологій для проведення лекцій. Запропоновано використовувати лекційні заняття у формі лекції-бесіди, що є найбільш ефективним для засвоєння навчального матеріалу іноземними студентами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: навчальний процес, кредитно-модульна система, біологічна та біоорганічна хімія, мультимедійні технології, лекція-бесіда.

Сучасне життя починає диктувати нові вимоги до навчального процесу, вимагає використання більш широкого діапазону методів та форм навчання. З цією метою застосовують певні прийоми і способи активізації класичних занять, зокрема лекцій. Студенти ХХ століття вважали лекцію цікавою та найкращою для запам'ятовування в основному через емоційність її викладу і зрозумілість викладеного матеріалу. Студенти ХХІ століття прагнуть взяти з лекції щось цікаве та неординарне, щоб почута ними інформація стала мотивуючою для вивчення даного предмета.

Лекцію прийнято вважати основною формою проведення навчальних занять, призначених для засвоєння теоретичного матеріалу [5]. Це одна з найбільш традиційних форм навчального процесу, основа для передачі знань від викладача до студента. На жаль, сьогоднішній день знівелював важливість лекцій, їх кількість різко зменшилась у навчальних планах.

Тому метою статті є пошук шляхів удосконалення методики і засобів проведення лекцій з дисципліни "Біологічна та біоорганічна хімія" для студентів першого курсу факультету підготовки іноземних громадян.

Викладання дисципліни "Біологічна та біоорганічна хімія" розпочинається в 2-му семестрі першого курсу і триває протягом 3-го та 4-го семестрів навчання. Згідно з типовою

© І. Д. Сиротинська, 2013.

навчальною програмою, для лекцій на медичному та стоматологічному факультетах виділено 10 год. Звичайно, цих годин недостатньо для подання навчального матеріалу в повному обсязі, але звернути увагу студентів на основне і зорієнтувати їх на самостійну роботу в цьому напрямку є можливим. На кафедрі біологічної та медичної хімії лекції для іноземних студентів першого курсу проводять українською, російською та англійською мовами.

Специфіка викладання цієї дисципліни для студентів-медиків полягає в тому, що увага акцентується на процесах, які відбуваються в живих організмах і мають важливе значення для медицини. Викладання повинно бути наповнене прикладами застосування тих чи інших явищ у медичній практиці, адже біологічна хімія є однією з важливих базових дисциплін у підготовці майбутніх лікарів. Вона, у свою чергу, закладає основи для вивчення студентами таких фундаментальних дисциплін, як фізіологія, патфізіологія, загальна та молекулярна фармакологія тощо. Тому викликати інтерес до вивчення предмета є першочерговим завданням лектора.

Однією з особливостей дисципліни "Біологічна та біоорганічна хімія" є величезний об'єм теоретичного матеріалу, винесений на лекційні заняття. Тому кожна лекція вимагає ретельної підготовки викладача, вона повинна відповідати таким вимогам, як науковість, доступність, єдність форми і змісту, емоційність

викладу [1]. І звичайно, чи не найважливішою вимогою є застосування мультимедійних технологій, які дають максимальну інформативність та видовищність представленої матеріалу [3], що значно підвищує інтерес до вивчення предмета загалом.

Відповідно, найпершою з проблем, що постають перед студентами-першокурсниками факультету підготовки іноземних громадян, є недостатнє знання мови. Ця проблема є спільною для студентів з українською, російською чи англійською мовами навчання [6]. Іноземцям важко достатньою мірою зрозуміти, а тим більше запам'ятати навчальний матеріал, представлений лектором. Натомість наявність у лекційному матеріалі схем та ілюстрацій значно інтенсифікує процес засвоєння дисципліни. Крім того, викладач повинен володіти психологічними прийомами та певними елементами ораторського мистецтва, оскільки є постійна потреба активізувати увагу студентів голосом або інтонацією, наголошувати на основних найважливіших положеннях лекції, слідкувати за тим, чи всі встигають конспектувати. Адже більша частина студентів не в змозі одночасно записувати представлений матеріал та слухати пояснення лектора. Слід зауважити, що для даного контингенту іноземних студентів лекція є незамінною при актуальному дефіциті навчальної літератури.

Мультимедійна презентація дозволяє лектору паралельно пояснювати матеріал та слідкувати за аудиторією, коригувати темп зміни слайдів залежно від потреби. Тому час від часу викладач може зупиняти мультимедійну презентацію та пояснювати матеріал більш детально, користуючись дошкою у лекційній аудиторії чи просто повернувшись до початку презентації. Для діагностики розуміння певних термінів чи понять проводять діалог зі студентами. Таким чином, використовують елементи так званої лекції-бесіди (*"діалог з аудиторією"*) [4]. Це найбільш поширена та порівняно проста форма активного залучення студентів до навчального процесу. Вона передбачає безпосередній контакт педагога з аудиторією, що дає змогу зосередити увагу іноземців на найважливіших проблемах теми, яку вивчають, визначити зміст і темп викладу навчального матеріалу з урахуванням рівня підготовленості аудиторії. Якщо рівень підготовленості слухачів досить високий, можна ставити проблемні запитання, які, вказуючи на сутність навчальної проблеми, спонукають до обмірковування проблемної ситуації. Студенти, замислюючись над змістом ситуації, виявляють інтерес до теми лекції, позитивно ставляться до проблем, які

підлягають вивченню, намагаються самостійно або разом з педагогом розв'язати проблемну ситуацію. Таким чином, відбувається всебічний і глибокий аналіз проблеми. Більш реалістична така методика в україно- та російськомовних лекційних потоках завдяки малій кількості студентів у них.

Також хорошим способом для мотивації навчання є демонстрація відеоматеріалів з цікавою проблематикою – наприклад, дія лікарського препарату в організмі людини або симптоми перебігу рідкісної хвороби та методи її виявлення. Але запропоноване відео може бути показаним не до кінця або без використання звуку. Такий метод стимулює цікавість до проблеми – щоб знайти відповіді на запитання, студенту потрібно самостійно відшукати такі відеоматеріали в Інтернеті за поданими посиланнями.

Противники лекцій вважають, що вони привчають до некритичного сприйняття чужих думок, вбивають у студентів бажання вчитися самостійно, привчають механічно записувати матеріал, не формують міцних знань тощо [2]. Справді, розвиток інформаційних технологій дає можливість студенту користуватися найновішими науковими даними та відкриттями. Але така самоосвіта займає надто багато часу, якого студентській молоді катастрофічно бракує. Така проблема особливо є актуальною для студентів медичних навчальних закладів, де істотна частина вільного часу повинна бути витрачена на самостійну роботу для вивчення різних предметів. І звичайно ж, найбільше потерпають у цій ситуації студенти-іноземці, для яких сам процес навчання займає ледь не вдвічі більшу частину часу. Навіть при достатній освітній підготовці такої людини на батьківщині мовна підготовка завжди вносить суттєві корективи в якість засвоєння навчального матеріалу. Таким чином, вивчення біологічної хімії вимагає доброї базової підготовки, а для іноземних студентів – ще й доброго знання мови.

Отже, при проведенні лекцій для студентів факультету підготовки іноземних громадян потрібно враховувати рівень базової підготовки та мовний рівень студентів. Застосування мультимедійних технологій для даної категорії студентів є необхідною умовою вивчення предмета. Мова лектора має бути повільною, але емоційною, він при цьому повинен наголошувати на найважливішій інформації. Виклад лекційного матеріалу має бути максимально чітким та легким для розуміння. Текст лекції потрібно наповнити ілюстраціями та добре підібраними відеоматеріалами. Бажаними є посилання на електронні джерела, що доз-

вольт кращим студентам самостійно і більшою мірою освоїти навчальний матеріал, а іншим знайти подібні електронні матеріали рідною

мовою. Як показує практика, ефективнішим для засвоєння навчального матеріалу є проведення лекції-дискусії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балагурова В. А. Какой должна быть современная лекция / В. А. Балагурова // Фармация. – 2007. – № 3. – С. 47–48.
2. Дианкина М. С. Професионализм преподавателя высшей медицинской школы (психолого-педагогический аспект) / М. С. Дианкина. – К., 2008. – 256 с.
3. Досвід використання мультимедійних технологій у навчальному процесі на клінічних кафедрах Івано-Франківського національного медичного університету / І. О. Костіцька, О. І. Бабенко, О. М. Дідушко [та ін.] // Мед. освіта. – 2010. – № 1. – С. 58–60.
4. Кузьмінський А. І. Педагогіка вищої школи : навч. посіб. / А. І. Кузьмінський. – К. : Знання, 2005. – 486 с.
5. Модернізація вищої медичної освіти в контексті Болонської конвенції – ідея, мета, реальність / В. М. Мороз, Ю. Й. Гумінський, Л. В. Фоміна [та ін.] // Мед. освіта. – 2012. – № 2. – С. 42–45.
6. Романюк А. Л. Особливості викладання медичної хімії студентам-іноземцям з англійською мовою навчання / А. Л. Романюк, І. Д. Сиротинська, Н. С. Леочко // Галицький лікарський вісник. – 2009. – 16, № 4. – С. 99–100.

И. Д. Сыротинська

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕТРАДИЦИОННЫХ ФОРМ ПРОВЕДЕНИЯ ЛЕКЦИЙ ДЛЯ ИНОСТРАННЫХ СТУДЕНТОВ

Резюме

В статье рассмотрены актуальные проблемы, возникающие при подготовке и проведении лекций по дисциплине “Биологическая и биорганическая химия” для студентов факультета подготовки иностранных граждан. Предложены пути и методы совершенствования представления лекционного материала для улучшения понимания терминов, понятий и успешного усвоения дисциплины. Обоснована целесообразность применения мультимедийных технологий для проведения лекций. Предложено использовать лекционные занятия в форме лекции-беседы, что является наиболее эффективным для усвоения учебного материала иностранными студентами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: учебный процесс, кредитно-модульная система, биологическая и биорганическая химия, мультимедийные технологии, лекция-беседа.

I. D. Syrotynska

IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

THE EXPERIENCE OF APPLYING OF ALTERNATIVE FORMS OF THE LECTURES FOR FOREIGN STUDENTS

Summary

The article deals with real issues that arise when preparation and conducting lectures on the discipline of “Biological and bioorganic chemistry” for students of foreign citizens training department. The ways and methods found of improving for the presentation of lectures for better understanding of terms and concepts and successful assimilation of discipline. openly issue of indispensability of using multimedia technologies for lectures. Proposed use of lectures in the form of lectures and discussions simultaneously that are most effective for learning foreign students.

KEY WORDS: learning process, credit-module system, biological and bioorganic chemistry, multimedia technology, lecture-discussion.

Отримано 23.05.13

Адреса для листування: І. Д. Сиротинська, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна.

Л. М. Палиця, С. О. Ястремська, М. М. Корда
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ТОКСИЧНІСТЬ ФУЛЕРЕНІВ: ОЦІНКА РИЗИКУ ЇХ ВПЛИВУ НА ЗДОРОВ'Я ЛЮДЕЙ

У статті аналітично опрацьовано нові літературні дані про вплив фулеренів на здоров'я людини. Акцентовано увагу на тому, що вивчення фулеренів стає все більш актуальним у зв'язку з їх антиоксидними і антирадикальними властивостями. На сьогодні фулерени застосовують для цільової доставки лікарських засобів, при виготовленні косметичних засобів, в енергетичній галузі. Виробництво фулеренів та їх використання, як очікується, зростатимуть у геометричній прогресії протягом наступного десятиліття. Вказується на те, що в літературі недостатньо даних про токсичність фулеренів при різних шляхах їх введення в організм, що може мати вирішальне значення при тривалому контакті з ними.

Зроблено висновок, що роботи щодо токсичності фулеренів повинні чітко характеризувати тестовані матеріали, зважаючи на те, що сучасні тести на токсичність не розробляли спеціально для наночастинок. Тому необхідно запропонувати нові парадигми тестування для оцінки й аналізу токсичності наночастинок. Наголошується на тому, що методологія оцінки ризику, яку на даний час використовують для аналізу хімічної речовини, потребує адаптації з урахуванням специфічних властивостей наночастинок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: наночастинки, фулерени, токсичність, вплив на здоров'я.

На сьогодні серед сучасних напрямків науково-практичної діяльності людини особливе місце займають нанотехнології. Термін "нанотехнологія" (з грец. *nanos* – карлик, *techno* – майстерність, *logos* – наука) стосується матеріалів розміром 10^9 м (від 1 до 100 нм). Наночастинкам притаманні специфічні фізико-хімічні властивості, такі, як малий розмір, форма, хімічний склад, структура, велика площа поверхні, що робить їх перспективним матеріалом для застосування в медицині, різних галузях народного господарства і побуті [1, 3]. Значне місце серед можливих ефективних біомедичних агентів посідають вуглецеві наноструктури, зокрема фулерени [6], нанотрубки [19] та графен [12].

Упродовж останніх років особливу увагу дослідників привертають нанорозмірні вуглецеві сполуки – фулерени, які проявляють специфічну біологічну активність. Найбільший інтерес для експериментальних біологічних досліджень становить саме молекула C_{60} , поверхня якої складається з 12 п'ятикутників і 20 шестикутників, у вузлах яких міститься 60 атомів карбону, поєднаних між собою одинарними і подвійними хімічними зв'язками (рис.), що легко утворюються під час синтезу, харак-

© Л. М. Палиця, С. О. Ястремська, М. М. Корда, 2013.

теризуються високою хімічною стабільністю та унікальними фотофізичними властивостями [24, 33].

Завдяки всім цим незвичайним властивостям застосування фулеренів вельми широке і різноманітне. Фулерени використовують для цільової доставки ліків до тканин і органів, у виробництві лубрикантів, енергетичній галузі (виробництві батарейок, сонячних батарей), як каталізатори та модифікатори полімер. Фулерени також застосовують з метою створення воднорезистентних поверхней, косметичних засобів і спортивних товарів. Очікується, що

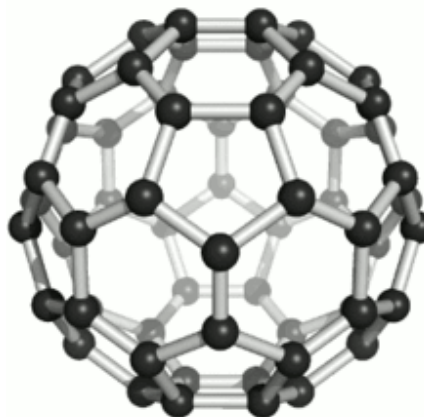


Рис. Структура фулерену C_{60} .

виробництво та використання зростуть у геометричній прогресії протягом наступного десятиліття [24, 25]. Фулерени стрімко впроваджують у всі сфери життя, але залишається невідомим, наскільки вони безпечні для здоров'я працівників різних професій.

Токсикокінетика досліджує важливі, з огляду на ідентифікацію, можливі органи-мішені для токсичності фулеренів при їх інгаляційній, оральній або термальній експозиції. В організмі існують численні бар'єри, які запобігають абсорбції наночастинок з точки експозицій та їх поширенню до вторинних мішеней. Якщо фулерени проникають через ці бар'єри, вони стають системно доступними і проявляють токсичний ефект на рівні всього організму.

Було показано, що радіоактивні фулерени ^{14}C похідні фулеренів (триметиленметан) не всмоктуються ефективно при їх введенні щурам або мишам *per os* протягом 160 год після введення, натомість більшість з них (97 %) екскретується через кишечник у межах 48 год. Проте невелику кількість фулеренів усе ж таки виявляли в сечі, це дозволяє зробити висновок, що фулерени здатні частково проходити через стінку кишечника [23].

Здатність фулеренів абсорбуватися в кишечнику показали також Folkmann та ін. [29], оскільки автори спостерігали дозозалежне пошкодження печінки та легень після введення фулеренів через зонд. Проте ці результати не можна вважати достовірними, оскільки розчин кукурудзяної олії справив такий самий ефект і присутність фулеренів у даних органах не було достовірно продемонстровано.

Інгаляційне дослідження, проведене Baker та ін. [22], не виявило фулеренів у крові після їх введення щурам інгаляційним методом, це дозволяє передбачити, що вони не переходять через бар'єри дихальних шляхів. При дослідженні депонування фулеренів у легенях було встановлено, що наночастинок C_{60} (55 нм) нагромаджуються в альвеолах на 50 % більше, ніж мікрочастинок (0,93 мкм).

Було показано, що фулерени транслюкуються через зоровий нерв у мозок [27]. В риб фулерени індукують окиснювальний стрес у мозку, що підтверджує їх здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Проте незрозуміло, чи ці результати можна екстраполювати на людей, оскільки на сьогодні ще не було продемонстровано здатність фулеренів до транслокації в мозок ссавців.

Shinozaki та ін. показали, що наночастинок C_{60} не можуть транспортуватися в інші органи з легень після інтратрахеальної інсталяції та інгаляційної експозиції в щурів [35]. Водночас

Naota та ін. продемонстрували, що фулерени здатні активно проходити через мембрани альвеол у кров шляхом як дифузії, так і піноцитозу, що призводить до їх негайної появи у системній циркуляції і поширення їх в інші органи та тканини організму [41]. Проте залишається незрозумілим, чи така транслокація наночастинок не була хоча б частково наслідком їх потрапляння в організм (інстиляція), оскільки суспензія індукувала набряк у легенях, що могло вплинути на фізіологічну систему транспорту з легень у кров'яне русло.

Xia та ін. показали *in vivo* та *in vitro*, що чисті фулеренові наночастинок можуть проникати глибоко в дермальний шар шкіри і глибина такого проникнення модулюється розчинником, в якому вони дисперговані [42]. Тобто 50 мкл розчину, що містив 200 мкг/мл C_{60} у різних розчинниках, наносили на шкіру на 4 дні. Встановлено, що C_{60} легко проникали в дермальний шар, якщо вони були розчинені в толуені, циклогексані або хлороформі, а натомість дуже слабо при їх розчиненні в мінеральній олії. Автори дійшли висновку, що розчин є критичним фактором при проникненні фулеренів через шкіру і повинен розглядатися при оцінці ризику C_{60} в органічних розчинниках на виробництві.

Kato та ін. заперечували проникність C_{60} , розчинених у сквалені, автори не виявили наночастинок в епідермісі й дермісі при їх низькій концентрації [5]. Проте при високих концентраціях (223 ppm) C_{60} були здатні проникати в епідерміс. Тому автори зробили висновок про те, що при низьких концентраціях фулеренові розчини у сквалені не варто розглядати як фактор токсичності для системної циркуляції крові.

Rouse та ін. показали, що фулеренозаміщені пептиди можуть проходити через епідермальний шар шляхом пасивної дифузії [11]. Механічні стресори, такі, як повторювальні згинальні рухи (наприклад при ходьбі), підвищують швидкість проникнення даних наночастинок у дермальний шар шкіри.

На сьогодні існує небагато інформації про поширення фулеренів в організмі після інгаляційної, термальної та оральної експозиції, можливо, у зв'язку з їх обмеженою абсорбцією. У деяких дослідженнях було показано транслокацію фулеренів до вторинних органів із респіраторного тракту після їх проникнення в легеневі лімфатичні й кров'яні судини за умов великого навантаження наночастинками і супутнього запального стану [28].

Нещодавно проведені дослідження показали, що тільки незначна кількість фулеренів

потрапляє в мозок та інші органи після інтра-трахеальної інсталяції (3,3 мг/кг) або інгаляції (0,12 мг/м³) шурів [35]. Gao та ін. [8] продемонстрували, що наночастинки C₆₀ (агломеровані до розмірів 1 мікрона) не транспортуються з легень в інші тканини при їх інтра-трахельній інсталяції у дозі від 1 до 5 мг/кг. Після інгаляції 1 мг/м³ фулеренів (20 нм) протягом 6 год не спостерігали їх появи у печінці або селезінці, проте невелику кількість було виявлено в нирках.

Було продемонстровано, що фулерени в легенях фагоцитуються альвеолярними макрофагами [7, 15]. Таким чином, макрофаги, з одного боку, захищають організм, проте з іншого – після захоплення фулеренів активуються окиснювальні й запальні процеси. Проте електронно-мікроскопічні дослідження показали, що фулерени утворюють гранули в альвеолярних макрофагах, але при цьому не транспортуються до органел або ядра [21].

Після інтраперитонеальної інгаляції шурам водорозчинних поліалкілсульфанованих фулеренів вони транспортувалися кров'ю до печінки, нирок, селезінки, проявляючи токсичність і депонуючись у печінці й селезінці, що призводило до токсичності в місцях акумулювання [4]. Насамперед при внутрішньовенній ін'єкції фулерени швидко виділялися з крові й нагромаджувалися в основному в печінці [40], а триметиленметанові похідні фулеренів (200–500 мг/кг) після внутрішньовенної ін'єкції транспортувалися в печінку, нирки, селезінку та мозок [23]. Nikolic та ін. показали, що після внутрішньовенного введення радіоактивно мічених фулеренів вони в основному накопичувалися у печінці й селезінці та, значно меншою мірою, в щито-подібній залозі, стінці шлунка, кишечника і легень [32].

При внутрішньочеревному введенні Gharbi та ін. спостерігали нагромадження фулеренів (2,5–5 г/кг C₆₀) купферівськими клітинами печінки, які проявляли сильну макрофагальну активність [14].

In vitro було продемонстровано, що різні типи клітин, наприклад кератиноцити [13], епітеліальні клітини [15] і клітини кришталика ока [30], здатні захоплювати фулерени, що часто супроводжувалось окиснювальним стресом і летальним наслідком.

Елімінацію фулеренів з організму через кишечник було продемонстровано як для триметиленметанових похідних [23], так і для сумішей фулеренів C₆₀ та C₇₀ [31] після внутрішньовенного й орального введення шурам. Внутрішньовенне призначення похідних фу-

леренів призвело до дуже повільної екскреції: через 160 год тільки 5,4 % виводилося з організму. Дуже малу кількість також було виявлено в сечі, очевидно, внаслідок високої ліпофільності молекул фулеренів [23]. Після ін'єкції водорозчинних поліалкілсульфанованих фулеренів вони швидко виводились із сечею [4].

Таким чином, можна дійти висновку, що абсорбція фулеренів через можливі фізіологічні шляхи їх надходження в організм обмежена. Фулерени мають тенденцію депонуватися в місцях їх введення, зокрема в легенях і кишечнику, звідки вони можуть бути еліміновані або альвеолярними макрофагами і мукоциліарним епітелієм, або через кишечник чи нирки. Абсорбція фулеренів залежить насамперед від типу фулеренів, їх функціоналізації, використання розчинника і властивостей шкіри.

Необхідно пам'ятати, що токсикокінетика фулеренів залежить від модифікації їх поверхні, зокрема специфічна модифікація поверхні фулеренів може бути здійснена під час їх виробництва або може бути вторинною (природною) внаслідок їх взаємодії з біологічним середовищем в організмі (білками, ліпідами), що значно впливає на біокінетику цих наночастинок. Інформація про токсикокінетику фулеренів є важливою з огляду на інтерпретацію їх ефектів, особливо при внутрішньочеревному чи внутрішньовенному введенні даних наночастинок.

На сьогодні існує небагато даних про гостру чи токсичну властивість фулеренів. При прийманні цих наночастинок у дозі 2000 мг/кг протягом 14 днів не було відмічено летальності або ознак гострої токсичності [31]. Chen та ін. [4] також продемонстрували, що водорозчинні поліалкілсульфановані фулерени у дозі 2500 мг/кг при їх оральному призначенні не проявили гострої токсичності. Проте тільки одну дозу було протестовано, тому що прояви гострої токсичності фулеренів можуть мати місце при вищих дозах. Зроблено висновок, що фулерени мають дуже низьку токсичність при їх оральному прийманні й можливі їх негативні ефекти при тривалому застосуванні відсутні.

Інгаляційний шлях потрапляння наночастинок в організм розглядають як найбільш можливий шлях, оскільки наночастинки часто можуть бути розсіяні в повітрі. Місце осідання наночастинок у респіраторному тракті залежить від їх діаметра, було показано, що наночастинки з меншим діаметром здатні більшою мірою індукувати запалення і мають значно вищий туморогенний ефект, ніж більші нано-

частинки. Також було показано, що деякі наночастинки можуть транспортуватися від легень до інших органів [28], при цьому ряд досліджень продемонстрував, що різні за природою наночастинки здатні індукувати прозапальний процес у легенях [9].

Baker та ін. також спостерігали прозапальний процес у легенях щурів, експонованих до назальної інгаляції фулеренів у концентрації 2,22 мг/м³ протягом 10 днів [22]. Водночас було відмічено збільшення концентрації протеїнів у рідині бронхоальвеолярного лаважу щурів, яким вводили інгаляційні фулерени, також виявлено мінімальні зміни у сироватці крові. Показано, що C₆₀ захоплюються альвеолярними макрофагами. Автори дійшли висновку, що токсикологічні ефекти фулеренів можуть проявитися при більш тривалому їх введенні.

Позитивний зв'язок між негативними кардіоваскулярними ефектами й експозиціями до наночастинок (особливо полютантів повітря) було описано в ряді епідеміологічних, експериментальних робіт [36].

Дослідження *in vitro* показали, що ендотеліальні клітини здатні захоплювати C₆₀(OH)₂₄ [43]. Після тривалої експозиції (10 днів) фулерени різко пригнічували ріст клітин. Автори дійшли висновку, що фулерени є потенціальним фактором ризику розвитку кардіоваскулярних захворювань.

Негативні кардіоваскулярні ефекти можуть бути також індуковані запальними медіаторами, що вивільняються в легені при інгаляційному шляху потрапляння наночастинок в організм [36].

Li та ін. встановили, що водорозчинні C₆₀(OH)₂₀ проявляють специфічні імуномодуючі ефекти на клітини імунної системи, Т-клітини та макрофаги як *in vitro*, так і *in vivo* [20]. Водорозчинні C₆₀, не маючи негативного ефекту на життєздатність імунних клітин, стимулювали збільшення цитокінів, особливо TNF- α , який відіграє ключову роль у клітинних імунних процесах.

In vivo C₆₀(OH)₂₀ пригнічували ріст легеневої карциноми Льюїса, що, очевидно, пов'язано з підвищенням співвідношення CD₄/CD₈ лімфоцитів.

Sai та ін. [39] показали, що похідні фулеренів C₆₀(OH)₂₄ зменшували смертність мишей від іонізуючої радіації. Автори припустили, що такий ефект фулеренів пов'язаний з їх здатністю підсилювати функцію імунітету, пригнічувати окиснювальний стрес і покращувати мітохондріальну функцію.

Після інгаляції 0,12 мг/м³ C₆₀ протягом 28 днів деякі гени, асоційовані з імунною системою, включаючи гени основної гістосумісності, були помірно гіперекспресовані [15]. Отже, дані результати про вплив фулеренів на імунну систему суперечливі й свідчать про негативний ефект карбонових наночастинок на імунну систему. Водночас існують і роботи про корисні властивості фулеренів, що стосуються їх впливу на алергічні чи запальні реакції.

В експериментах на тваринах було показано, що фулерени здатні викликати подразнення шкіри тільки при їх тривалій аплікації (8–15 днів) у високій дозі (20 мг у 0,2 мл) [33]. Водночас в експериментах на добровольцях Nuczko та ін. не виявили негативних наслідків впливу фулеренів на шкіру (іритації чи алергії) при тривалості експозиції 96 год [18].

Деякі тести на генотоксичність було проведено в основному *in vitro*, для того, щоб дослідити здатність фулеренів пошкоджувати ДНК. Більшість цих тестів дала негативні результати, хоча є роботи Sera та ін., які вказують на можливі мутагенні ефекти фулеренів [34].

Totsuka та ін. показали дозозалежне збільшення кількості мікроядер *in vitro*, пошкодження ДНК і виникнення мутацій у клітині легень після інтратрахеальної інсталяції C₆₀ [17]. Автори зробили висновок, що оксидативне пошкодження ДНК може бути причиною мутагенності наночастинок. Дози наночастинок, які використовували в цій роботі, були дуже високими (0,2 мг на мишу) порівняно з можливими дозами, з якими людина може контактувати на робочому місці.

Jacobsen та ін. не виявили негативного генотоксичного ефекту фулеренів при дослідженні за допомогою кометаналізу і тесту на хромосомній аберації *in vitro* [16]. Водночас було показано, що водні розчини колоїдних C₆₀ мають генотоксичний ефект [38], тоді як суміш фулеренів C₆₀ та C₇₀ не спричиняли хромосомних аберацій [31].

Фулереноли (C₆₀(OH)₂₄), яким притаманний антиокиснювальний ефект, можуть навіть захищати клітини від генотоксичних впливів. Дослідження *in vitro* показали, що вони здатні знижувати частоту мікронуклеарних і хромосомних аберацій при пошкодженні клітин мітоміцином С [10]. Захисний ефект був виражений при низьких дозах наночастинок, що дозволяє кореляцію з антиоксидантними властивостями низьких доз фулеренів. Вищенаведені дослідження не дають змоги зробити чіткий висновок про наявність чи відсутність кореляції різних типів фулеренів. Також супе-

речливими є результати тестів, що вказують на пошкодження ДНК у деяких випадках і дають змогу стверджувати, що генотоксичні ефекти залежать від дози, типу фулеренів і способу їх виготовлення, часу експозиції і клітинної моделі. Було показано, що фулерени здатні як перехоплювати, так і регенерувати вільні радикали з наступним пошкодженням ДНК, що є результатом окиснювального стресу.

Фотоактивні властивості фулеренів є важливим фактором, що ініціює генотоксичну відповідь. Найімовірніше, фулерени не мають пошкоджувальної дії на ДНК, і саме формування вільних радикалів відіграє основну опосередковану роль щодо генотоксичності даних наночастинок.

Доступну інформацію з відкритих літературних джерел було оцінено для того, щоб охарактеризувати людей, які можуть піддатися ризику впливу фулеренів на робочому місці або з навколишнього середовища. Як свідчить доступна інформація, ризик впливу фулеренів на живі організми не можна виключати, особливо при тривалій їх інгаляції. На сьогодні не існує відповідних кількісних даних, які б дозволили зробити чіткий висновок при їх термальній експозиції. Потенційний ризик існує при використанні кремів для шкіри у зв'язку з їх значною поширеністю і безпосереднім контактом зі шкірою. Доступна інформація дозволяє стверджувати, що протестовані типи фулеренів дуже слабо реабсорбуються через шкіру, не подразнюють і майже не викликають сенсibilізації шкіри та характеризуються низькою токсичністю. Проте немає досвіду щодо хронічного застосування фулеренів, а також неможливо поширити такий висновок на всі типи фулеренів.

На сьогодні вплив фулеренів, які перебувають у навколишньому середовищі, не розглядають як важливий фактор ризику, проте такий вплив буде ставати все більш важливим, оскільки кількість фулеренів, що виробляються, зростає з кожним роком.

На сьогодні можна зробити висновки про ризик впливу фулеренів на живі організми. Не існує відповідних даних щодо токсичності фулеренів при їх хронічному впливі на живі організми і стосовно ефектів, таких, як генотоксичність, канцерогенність і репродуктивна токсичність.

Було виконано дослідження *in vitro* та *in vivo* з метою визначення первинного і вторинного генотоксичних ефектів. Залежно від результатів дослідження генотоксичності й підгострих та підхронічних дослідів необхідно планувати стратегію вивчення канцерогенності/хронічної токсичності. З огляду на результати дослідження абсорбції фулеренів (системної доступності) й показників впливу на репродуктивні органи/гормони, потрібно досліджувати репродуктивну токсичність.

У будь-якому випадку роботи щодо токсичності фулеренів повинні чітко характеризувати тестовані матеріали. Фулерени існують у різних формах і відрізняються за кількістю атомів вуглецю поверхневої модифікації та ін. Тому проблематично зробити узагальнення про їх токсичність і ризик для організму, а також важко знайти стратегію тестування, яка б підходила до всіх типів фулеренів, крім того, сучасні тести на токсичність не розробляли спеціально для наночастинок. Тому нові парадигми тестування необхідно запропонувати для оцінки й аналізу токсичності наночастинок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин [и др.]. // Вестн. РАМН. – 2008. – № 4. – С. 50–55.
2. Нанотоксикология: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв // Довкілля та здоров'я. – 2009. – № 1. – С. 3–7.
3. Чекман І. С. Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха, А. М. Дорошенко // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 1. – С. 30–35.
4. Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C60 in rats / H. H. Chen, C. Yu, T. H. Ueng [et al.] // Toxicol. Pathol. – 1998. – 26, № 1. – P. 143–151.
5. Biological safety of Lipo-Fullerene composed of squalane and fullerene-C60 upon mutagenesis, phototoxicity, and permeability into the human skin tissue / S. Kato, H. Aoshima, Y. Saitoh, N. Miwa // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2009. – № 104. – P. 483–487.
6. C60: Buckminsterfullerene / H. W. Kroto, S. Heath, S. C. O'Brien [et al.] // Nature. – 1985. – № 318. – P. 162–163.

7. Comparison of the abilities of ambient manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm / T. Xia, M. Kovochich, J. Brant [et al.] // *Nano Lett.* – 2006. – **6**, № 8. – P. 1794–1807.
8. Disposition of C60 Fullerene after Inhalation (nanoC60), Intratracheal Instillation, or Intravenous Injection in Male F344 Rats. Poster presented at the Society of Toxicology annual meeting, Baltimore, MD / Z. Gao, B. M. Hedtke, J. A. Marsters [et al.]. – <<http://dSPACE.Irri.org:8080/xmlui/handle/123456789/625?show=full>>, (last accessed 21.05.10). 2009.
9. Donaldson K. Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles / K. Donaldson, V. Stone // *Ann. Ist. Super. Sanita.* – 2003. – **39**, № 3. – P. 405–410.
10. Effects of fullerene C60(OH)24 on the frequency of micronuclei and chromosome aberrations in CHO-K1 cells / J. Mrdanovic, S. Solajic, V. Bogdanovic [et al.] // *Mutat. Res.* – 2009. – **680**, № 1–2. – P. 25–30.
11. Effects of mechanical flexion on the penetration of fullerene amino acid derivatized peptide nanoparticles through skin / J. G. Rouse, J. Yang, J. P. Ryman-Rasmussen [et al.] // *Nano Lett.* – 2007. – **7**, № 1. – P. 155–160.
12. Electric field effect in atomically thin carbon films / K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov [et al.] // *Science.* – 2004. – № 306. – P. 666–669.
13. Fullerene-based amino acid nanoparticle interactions with human epidermal keratinocytes / J. G. Rouse, J. Yang, A. R. Barron, N. A. Monteiro-Riviere // *Toxicol. In Vitro.* – 2006. – **20**, № 8. – P. 1313–1320.
14. [60]Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity / N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel [et al.] // *Nano Lett.* – 2005. – **5**, № 12. – P. 2578–2585.
15. Gene expression profiles in rat lung after inhalation exposure to C(60) fullerene particles / K. Fujita, Y. Morimoto, A. Ogami [et al.] // *Toxicology.* – 2009. – **258**, № 1. – P. 47–55.
16. Genotoxicity, cytotoxicity, and reactive oxygen species induced by single-walled carbon nanotubes and C(60) fullerenes in the FE1-Mutatrade mark Mouse lung epithelial cells / N. R. Jacobsen, G. Pojana, P. White [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2008. – **49**, № 6. – P. 476–487.
17. Genotoxicity of nano/microparticles in in vitro micronuclei, in vivo comet and mutation assay systems / Y. Totsuka, T. Higuchi, T. Imai [et al.] // *Toxicol.* – 2009. – № 6. – 23 p.
18. Huczko A. Fullerenes: experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy / A. Huczko, H. Lange, E. Calko // *Fullerene Sci. Technol.* – 1999. – **7**, № 5. – P. 935–939.
19. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon / S. Iijima // *Nature.* – 1991. – № 354. – P. 56–58.
20. Immunostimulatory properties and enhanced TNF- α mediated cellular immunity for tumor therapy by C60(OH)20 nanoparticles / Y. Liu, F. Jiao, Y. Qiu [et al.] // *Nanotechnol.* – 2009. – № 20. – 41 p.
21. Inflammogenic effect of well-characterized fullerenes in inhalation and intratracheal instillation studies / Y. Morimoto, M. Hirohashi, A. Ogami [et al.] // *Part. Fibre Toxicol.* – 2010. – **14**, № 7. – P. 4.
22. Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C₆₀ fullerene nanoparticles and microparticles / G. L. Baker, A. Gupta, M. L. Clark [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2008. – **101**, № 1. – P. 122–131.
23. In vivo biological behaviour of a water-miscible fullerene: 14C labelling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity / S. Yamago, H. Tokuyama, E. Nakamura // *Chem. Biol.* – 1995. – **2**, № 6. – P. 385–389.
24. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends / R. J. Aitken, M. Q. Chaudhry, A. B. A. Boxall, M. Hull // *Occup. Med.* – 2006. – № 56. – P. 300–306.
25. Measurement of the physical properties of aerosols in a fullerene factory for inhalation exposure assessment / Y. Fujitani, T. Kobayashi, K. Arashidani [et al.] // *J. Occup. Environ. Hyg.* – 2008. – **5**, № 6. – P. 380–389.
26. Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice / L. A. Mitchell, F. T. Lauer, S. W. Burchiel, J. D. McDonald // *Nat. Nanotechnol.* – 2009. – № 4. – P. 451–456.
27. Oberdorster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass / E. Oberdorster // *Environ. Health Perspect.* – 2004. – **112**, № 10. – P. 1058–1062.
28. Oberdorster G. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles / G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster // *Environ. Health Perspect.* – 2005. – **113**, № 7. – P. 823–839.
29. Oxidatively damaged DNA in rats exposed by oral gavage to C60 fullerenes and single-walled carbon nanotubes / J. K. Folkmann, L. Risom, N. R. Jacobsen [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* – 2009. – **117**, № 5. – P. 703–708.
30. Phototoxicity and cytotoxicity of fullerol in human lens epithelial cells / J. E. Roberts, A. R. Wielgus, W. K. Boyes [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – **228**, № 1. – P. 49–58.
31. Preclinical studies on safety of fullerene upon acute oral administration and evaluation for no mutagenesis / T. Mori, H. Takada, S. Ito [et al.] // *Toxicology.* – 2006. – **225**, № 1. – P. 48–54.
32. Preparation and biodistribution of radiolabeled fullerene C60 nanocrystals / N. Nikolic, S. Vranjes-Ethuric, D. Jankovic [et al.] // *Nanotechnol.* – 2009. – № 20. – P. 38.
33. Safety evaluation of highly purified fullerenes (HPFs): based on screening of eye and skin damage. / H. Aoshima, Y. Saitoh, S. Ito [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* – 2009. – **34**, № 5. – P. 555–562.
34. Sera N. Mutagenicity of the fullerene C60-generated singlet oxygen dependent formation of lipid peroxides / N. Sera, H. Tokiwa, N. Miyata // *Carcinogenesis.* – 1996. – **17**, № 10. – P. 2163–2169.
35. Shinohara N. Risk assessment of manufactured nanomaterials – fullerene (C60) – NEDO project “Research and Development of Nanoparticle Characterizations Methods” Interim Report issued October 16, 2009; available at / N. Shinohara, M. Gamo, J. Nakanishi

<http://www.aist-riss.jp/projects/nedo-nanorisk/rd/gamo_e.html>, (last accessed 21.06.10). 2009a.

36. Simeonova P. Nanoparticle exposure and systemic/cardiovascular effects –experimental data / P. Simeonova // Proceedings of the NATO advanced research workshop on nanotechnology – toxicology issues and environmental safety, Springer, 2007. – P. 53–64.

37. Singh N. Nanogenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials / N. Singh, B. Manshian, G. J. Jenkins // Biomaterials. – 2009. – **30**, № 23–24. – P. 3891–3914.

38. Stable colloidal dispersions of C60 fullerenes in water: evidence for genotoxicity / A. Dhawan, J. S. Taurozzi, A. K. Pandey [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2006. – **40**, № 23. – P. 7394–7401.

39. The polyhydroxylated fullerene derivative C60(OH)24 protects mice from ionizing-radiation-induced immune and mitochondrial dysfunction / X. Cai, J. Hao,

X. Zhang [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2010. – **243**, № 1. – P. 27–34.

40. Tissue sites of uptake of ¹⁴C labelled C60 / R. Bullard-Dillard, K. E. Creek, W. A. Scrivens, J. M. Tour // Bioorg. Chem. – 1996. – **24**, № 4. – P. 376–385.

41. Translocation pathway of the intratracheally instilled C60 fullerene from the lung into the blood circulation in the mouse: possible association of diffusion and caveola-mediated pinocytosis / M. Naota, A. Shimada, T. Morita [et al.] // Toxicol. Pathol. – 2009. – **37**, № 4. – P. 456–462.

42. Xia X. R. Skin penetration and kinetics of pristine fullerenes (C60) topically exposed in industrial organic solvents / X. R. Xia, N. A. Monteiro-Riviere, J. E. Riviere // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2010. – **242**, № 1. – P. 29–37.

43. Yamawaki H. Cytotoxicity of water-soluble fullerene in vascular endothelial cells / H. Yamawaki, N. Iwai // Cell Physiol. – 2006. – **290**, № 6. – P. 1495–1502.

Л. М. Палица, С. А. Ястремская, М. М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ТОКСИЧНОСТЬ ФУЛЛЕРЕНОВ: ОЦЕНКА РИСКА ИХ ВЛИЯНИЯ НА ЗДОРОВЬЕ ЛЮДЕЙ

Резюме

В статье аналитически обработаны новые литературные данные о влиянии фуллеренов на здоровье человека. Акцентируется внимание на том, что изучение фуллеренов становится все более актуальным в связи с их антиоксидными и антирадикальными свойствами. На сегодняшний день фуллерены применяются для целевой доставки лекарственных средств, при изготовлении косметических средств, в энергетической отрасли. Производство фуллеренов и их использование, как ожидается, будут расти в геометрической прогрессии в течение следующего десятилетия. Указывается на то, что в литературе недостаточно данных о токсичности фуллеренов при различных путях их введения в организм, что может иметь решающее значение при длительном контакте с ними.

Сделан вывод, что работы по токсичности фуллеренов должны четко характеризовать тестируемые материалы, смотря на то, что современные тесты на токсичность не разрабатывали специально для наночастиц. Поэтому должны быть предложены новые парадигмы тестирования для оценки и анализа токсичности наночастиц. Отмечается, что методология оценки риска, которую в настоящее время используют для анализа химического вещества, требует адаптации с учетом специфических свойств наночастиц.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы, фуллерены, токсичность, влияние на здоровье.

L. M. Palytsa, S. O. Yastremska, M. M. Korda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

TOXICITY FULLERENES: RISK ASSESSMENT THEIR IMPACT ON HUMAN HEALTH

Summary

In this paper new published data about the effect of fullerenes on human health are analytically processed. It is accented that the study of fullerenes is becoming more important due to their antioxidant and antiradical

properties. Today fullerenes are used for targeted drug delivery, in the manufacture of cosmetic products, in the energy sector. Production of fullerenes and their usage, as expected, will grow exponentially over the next decade. There is insufficient published data about the toxicity of fullerenes in case of different ways of their introduction into the body, which may be crucial for prolonged contact with them.

It was concluded that papers about the toxicity of fullerenes should clearly describe the test materials, despite the fact that current tests for toxicity are not worked out specifically for nanoparticles. Therefore should be offered new testing paradigms for assessing and analyzing of the nanoparticles toxicity. It is noted that the risk assessment methodology, that is currently used for analysis the chemical, requires adaptation to the specific properties of nanoparticles.

KEY WORDS: nanoparticles, fullerenes, toxicity, health effects.

Отримано 26.04.13

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