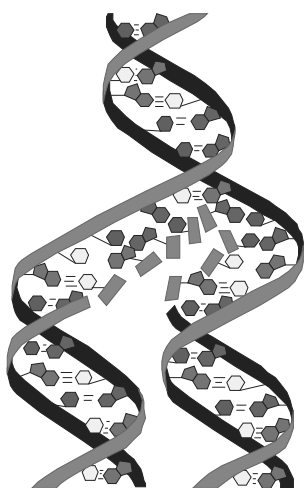


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"

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

4(57) 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 № 5 від 29 жовтня 2013 р.).

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

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

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

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

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

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Галицький В. А. (Київ) НЕРІВНОМІРНІСТЬ ЛОКАЛІЗАЦІЇ САЙТІВ CG I CNG У ТРАНСКРИПТАХ ГЕНІВ *X1ST* ТА *TS1X*

5

Ольховський О. С., Заїчко Н. В. (Вінниця) ВПЛИВ ПРОПАРГІЛГЛІЦИНУ ТА НАТРІЮ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ НА ВМІСТ H_2S І ПОКАЗНИКИ ПРО-АНТИ-ОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В МІОКАРДІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

10

Губський Ю. І., Афанасенко О. В. (Київ) ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ І СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ.
II. СТАТИЧНА ПОЛЯРИЗАЦІЯ ТА РОЗПОДІЛ ЗАРЯДІВ

16

Ястремська С. О., Палиця Л. М., Матвій Н. Я., Ястремська І. М., Корда М. М. (Тернопіль) ВПЛИВ КАРБОНОВИХ НАНОЧАСТИНОК НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ

21

Посохова К. А., Сампара С. Р., Сак І. Ю. (Тернопіль) ВПЛИВ ТІВОРТИНУ НА ПЕРЕБІГ ВАГІТНОСТІ, СТАН ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМУ

26

Раєцька Я. Б., Іщук Т. В., Савчук О. М., Остапченко Л. І. (Київ) ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ХІМІЧНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ І СТУПЕНЯ В ЩУРІВ

30

Дзєцюх Т. І., Кліщ І. М. (Тернопіль) ВПЛИВ КОМБІНОВАНИХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З КОРЕНЯ ЕХІНАЦЕЇ, АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЦИНКУ АСПАРАГІНАТУ НА ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ЩУРІВ ІЗ ГОСТРИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

35

Раєцька Я. Б., Іщук Т. В., Моргаєнко О. О., Остапченко Л. І. (Київ) АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТУ

41

Бойко Т. В., Лихацька Г. В. (Тернопіль) ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ЧИННИКІВ РИЗИКУ ОСТЕОПОРОЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГАСТРОДУОДЕНІТ У ПОЄДНАННІ З ХРОНІЧНИМ ПАНКРЕАТИТОМ

45

Видойник О. Я. (Тернопіль) ДИНАМІКА ЗМІН ПРОДУКЦІЇ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ ЗАПАЛЕННЯ В ДІТЕЙ ІЗ СТОМАТОЛОГІЧНОЮ ЗАХВОРІВАНІСТЮ НА ТЛІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

49

Ковальчук А. О. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ СИНДРОМУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ПРОВЕДЕННІ РАНЬОГО ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ГІДРОГЕЛЕВИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗАСОБІВ ТА ГУБЧАСТИХ СОРБУЮЧИХ МАТЕРІАЛІВ

53

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Halytskyi V. A. (Kyiv) IRREGULARITY OF THE CG AND CNG SITE LOCALIZATION IN X1ST AND TS1X GENE TRANSCRIPTS

5

Olhovskiy O. S., Zaichko N. V. (Vinnytsia) INFLUENCE OF PROPARGYLGLYCINE AND SODIUM HYDROGEN SULFIDE ON H_2S CONTENTS AND INDICES OF PRO-ANTIOXIDANT SYSTEM IN MYOCARDIUM OF RATS OF DIFFERENT AGES

10

Hubskiy Yu. I., Afanasenko O. V. (Kyiv) STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS ANTIOXIDANT ACTION. II. STATIC POLARIZATION AND CHARGE DISTRIBUTION

16

Yastremska S. O., Palytsia L. M., Matviyiv N. Ya., Yastremska I. M., Korda M. M. (Ternopil) EFFECT OF CARBON NANOPARTICLES ON THE FUNCTIONAL STATE OF RED BLOOD CELL MEMBRANES

21

Posokhova K. A., Sampara S. R., Sak I. Y. (Ternopil) EFFECT OF TIVORTIN ON PREGNANCY, FETUSES AND NEWBORNS IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

26

Rayetska Ya. B., Ishchuk T. V., Savchuk O. M., Ostapchenko L. I. (Kyiv) EXPERIMENTAL MODELING OF FIRST-DEGREE CHEMICALLY-INDUCED ESOPHAGEAL BURNS IN RATS

30

Dzetsiukh T. I., Klishch I. M. (Ternopil) INFLUENCE OF COMBINED PILLS FROM ECHINACEA ROOT EXTRACT, ASCORBIC ACID AND ZINK ASPARAGINATE ON INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH ACUTE PARODONTITIS ON THE BACKGROUND OF MERCAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

35

Rayetska Ya. B., Ishchuk T. V., Morgaienko O. O., Ostapchenko L. I. (Kyiv) ACTIVITY OF AMINO-TRANSFERASES IN DYNAMICS UNDER THE MALIGNANT GROWTH IN CONDITION ABOUT THE ANTIOXIDANT SUBSTANCE INTRODUCTION

41

Boiko T. V., Lykhatska H. V. (Ternopil) VARIETY OF CHANGES OF ENDOGENOUS INTOXICATION INDEXES DEPENDING ON RISK OF OSTEOPOROSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC GASTRODUODENITIS ASSOCIATED WITH CHRONIC PANCREATITIS

45

Vydoynuk O. Ya. (Ternopil) DYNAMICS OF CHANGES OF PRODUCTION OF ACUTE PHASE PROTEINS OF INFLAMMATION IN CHILDREN WITH DENTAL DISEASE ON THE BACKGROUND OF BRONCHIAL ASTHMA

49

Kovalchuk A. O. (Ternopil) FEATURES OF ENDOGENOUS INTOXICATION SYNDROME DURING EARLY SURGICAL TREATMENT WITH HYDROGEL REGENERATIVE PRODUCTS AND SPONGE SORBENT MATERIALS

53

<i>Герасимець А. Ю., Герасимець І. І., Хара М. Р.</i> (Тернопіль) БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У ГОМОГЕНАТІ РОГІВКИ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ	60	<i>Herasymets A. Yu., Herasymets I. I., Khara M. R.</i> (Ternopil) BIOCHEMICAL CHANGING IN THE RABBIT CORNEAL HOMOGENATE UNDER THE MECHANICAL IMPERMEABLE INJURY AND ITS CORRECTION BY KERATOXENOIMPLANT	60
<i>Демкович А. Є.</i> (Тернопіль) РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ОКСИДАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТЕКСТРАКЦІЙНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ	64	<i>Demkovich A. Ye.</i> (Ternopil) ROLE OF VIOLATIONS OF OXIDATIVE PROCESSES IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL POSTEXTRACTION ALVEOLITIS AND CORRECTION BY THIOTRIAZOLINE	64
<i>Галицький В. А., Гонський Я. І.</i> (Київ, Тернопіль) МІКРОРНК-ОПОСЕРЕДКОВАНЕ ОБМЕЖЕННЯ ПРОЛІФЕРАЦІЇ КЛІТИН ТА КАНЦЕРОГЕНЕЗ	68	<i>Halytskyi V. A., Honskyi Ya. I.</i> (Kyiv, Ternopil) MICRORNA-MEDIATED RESTRICTION OF CELL PROLIFERATION AND CARCINOGENESIS	68
<i>Каплаушенко А. Г.</i> (Запоріжжя) ВИВЧЕННЯ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ДІЇ НОВИХ АЦИЛГІДРАЗІДІВ 2-(5-R-4-R ₁ -1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ	71	<i>Kaplaushenko A. H.</i> (Zaporizhzhia) THE STUDY OF NEW ANTITUBERCULOSIS ACYLHYDRAZIDES 2-(5-R-4-R ₁ -1,2,4-TRIAZOLE-3-YLTIO)ACETIC ACID	71
<i>Кирилів М. В.</i> (Тернопіль) ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ІОНІВ КАДМІЮ	74	<i>Kyryliv M. V.</i> (Ternopil) OXIDATIVE STRESS IN WHITE RATS IN CASE OF CADMIUM IONS TOXIC INFLUENCE	74
<i>Геряк С. М.</i> (Тернопіль) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ОРГАНІЗАЦІЇ АРТЕРІАЛЬНОГО РУСЛА МАТКИ У КЛІМАКТЕРИЧНОМУ ВІЦІ ПРИ ОЖИРІННІ	79	<i>Heryak S. M.</i> (Ternopil) EXPERIMENTAL MODEL OF ORGANIZATION ARTERIAL BED OF THE UTERUS IN CLIMACTERIC PERIOD IN OBESITY	79
<i>Вольська А. С.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ ПРИ ЇХ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОМУ ВВЕДЕННІ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ	84	<i>Volska A. S.</i> (Ternopil) INFLUENCE THIOTRIAZOLINE AND ACETYLCYSTEINE ON THE STATE OF THE LIVER IN ACUTE POISONING WITH PARACETAMOL	84
<i>Яремчук О. З.</i> (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ НІТРИТ-АНІОНА ТА ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАНКРЕАТИТІ ТА ЗА ДІЇ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ	89	<i>Yaremchuk O. Z.</i> (Ternopil) CONCENTRATION OF NITRITE ANION AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES AT THE EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS IN CASE OF THE ADMINISTRATION OF NITRIC OXIDE MODULATORS	89
ОГЛЯДИ		REVIEWS	
<i>Садляк О. В.</i> (Львів) ЕНДОТЕЛІЙ ЯК РЕГУЛЯТОР ІМУННИХ, ЗАПАЛЬНИХ ТА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, ОПОСЕРЕДКОВАНИХ СИСТЕМОЮ L-АРГІНІН-ОКСИД АЗОТУ	96	<i>Sadlyak O. V.</i> (Lviv) ENDOTHELIUM AS REGULATOR IMMUNE, INFLAMMATORY AND FREE RADICALS PROCESSES MEDIATED L-ARGININI SYSTEM-NITRIC OXIDE	96
<i>Петренко О. М., Тихомиров А. О.</i> (Київ) РОЛЬ МЕТАЛОПРОТЕІНАЗ МАТРИКСУ В ПРОЦЕСАХ ЗАГОЄННЯ РАН	100	<i>Petrenko O. M., Tykhomyrov A. O.</i> (Kyiv) ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN WOUND HEALING PROCESSES	100
ЮВІЛЕЇ		JUBILEES	
ДО ЮВІЛЕЮ АКАДЕМІКА І. М. ТРАХТЕНБЕРГА	107		
ДО ЮВІЛЕЮ ПРОФЕСОРА М. І. КАЛИНСЬКОГО	110		

НЕРІВНОМІРНІСТЬ ЛОКАЛІЗАЦІЇ САЙТІВ CG І CNG У ТРАНСКРИПТАХ
ГЕНІВ *XIST* ТА *TSIX*

Хоча концентрація сайтів CG та CNG у *Xist* РНК у середньому становить 0,8 %, тобто навіть менше, ніж загальний рівень у геномі (1 %), локалізація цих сайтів вкрай нерівномірна. Концентрація сайтів CG та CNG досягає максимальної щільності, що перевищує середній рівень у декілька разів, на 5'-кінці *Xist*-транскрипту. Кількість сайтів CG і CNG у *Tsix* РНК навіть менша, ніж у *Xist*-транскрипті, та складає всього 0,6 %. Проте сайти CG та CNG у *Tsix* РНК концентруються поблизу ділянки, яка перекриває послідовність гена *Xist*, а також на 5'-кінці. Ці дані підтверджують гіпотезу, що послідовності 5'-кінця *Xist* РНК безпосередньо зв'язуються з комплементарною ДНК в інших ділянках X-хромосоми, викликаючи РНК-залежне метилювання ДНК та X-інактивацію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: X-хромосома, *Xist*, *Tsix*, CG, CNG, локалізація сайтів, РНК-залежне метилювання ДНК, X-інактивація.

ВСТУП. Число X-хромосом відрізняється у XX- та XY-індивідуумів, а у випадку X-анеуплоїдії може збільшуватись у декілька разів. Компенсація дози X-зчеплених генів досягається завдяки інактивації X-хромосом, що відбувається на ранніх стадіях розвитку в усіх клітинах, які містять більше однієї X-хромосоми. X-інактивація призводить до репресії більшості генів у всіх наявних у клітині X-хромосомах, окрім однієї, яка зберігає активність. Неактивний стан X-хромосом стабільно успадковується всіма подальшими поколіннями клітин (за винятком статевих клітин, що реактивують усі власні X-хромосоми).

X-інактивація залежить від двох генів, розташованих на X-хромосомі, – *Xist* та *Tsix*, що частково перекриваються. Дані гени зчитуються з утворенням довгих некодуючих РНК [6]. Варто відзначити, що *Xist*-транскрипт зазнає альтернативного сплайсингу з утворенням, за інформацією, отриманою нами з бази даних Ensembl, десяти різних варіантів зрілої РНК. *Tsix*-транскрипт зазнає сплайсингу не завжди [8]; очевидно, те розмаїття його послідовностей, яке вважали результатом сплайсингу, може виникати просто внаслідок розпаду первинного транскрипту.

Xist РНК зв'язується з тією ж X-хромосомою, з якої транскрибується, тобто діє у *cis*-положенні, й викликає гетерохроматинізацію даної

хромосоми та інактивацію її генів [6]. На противагу цьому, *Tsix* РНК зчитується з активної X-хромосоми і, будучи антисмисловою відносно послідовності гена *Xist*, протидіє активності останнього, теж у *cis*-положенні [6].

З метою пояснення молекулярного механізму репресії *Xist*-транскриптом своєї хромосоми ми запропонували гіпотезу, що 5'-кінець даного транскрипту безпосередньо гібридується з комплементарними ділянками у ДНК інших генів, витісняючи один із ланцюгів подвійної спіралі ДНК та формуючи натомість комплекси РНК–ДНК (рис. 1) [4]. Ми припускаємо, що такі комплекси приваблюють ДНК-метилтрансферази, й останні, як наслідок, метилують *de novo* залишки цитозину в сайтах метилювання CG та CNG (літерою N позначено будь-який із чотирьох нуклеотидів) у межах ДНК-мішеней, які виявились комплементарно зв'язаними з РНК [2]. Очевидно, взаємодія між *Xist*-транскриптом та комплементарною ДНК повинна починатись ще під час синтезу *Xist*-транскрипту, перед його відокремленням від РНК-полімерази, чим і пояснюється те, що X-інактивація має *cis*-характер (рис. 1) [3].

Імовірно, в X-хромосомі, що зберігає активність, транскрипт гена *Tsix* у подібний спосіб викликає інактивацію гена *Xist*, зв'язуючись із ДНК останнього, в результаті чого теж ініціюється РНК-залежне метилювання ДНК *de novo* (рис. 1) [3].

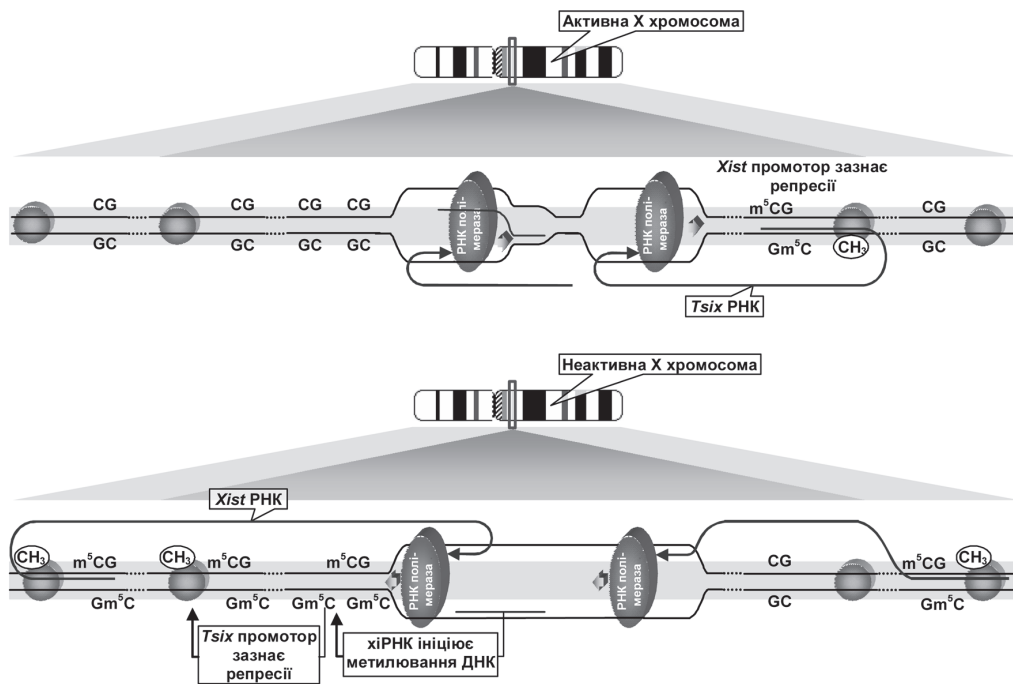


Рис. 1. Молекулярний механізм X-інактивації (m^5C – 5-метилцитозин).

Оскільки лише одна з X-хромосом у клітині залишається активною, X-інактивація потребує, щоб ген *Xist* експресувався всіма алелями, за винятком одного. Таким чином, алельне виключення повинно стосуватись не гена *Xist*, а його репресора, тобто гена *Tsix* (або ж активаторів експресії останнього).

Нещодавно було показано, що транскрипти генів *Xist* та *Tsix* можуть розщеплюватися з утворенням т. зв. хіРНК – коротких некодуючих РНК довжиною 24–42 нуклеотиди [6]. Ми припускаємо, що хіРНК якраз і опосередковують алельне виключення гена *Tsix*, гібридизуючись із послідовностями його алелів [3]. Оскільки РНК-полімераза, як передбачається, у процесі транскрипції здатна відокремлювати РНК, що з'явилися на її шляху [2], хіРНК викликають РНК-залежне метилювання ДНК того алеля гена *Tsix*, який менш активно транскрибується (рис. 1) [3].

Запропонована гіпотеза передбачає, що в послідовностях *Xist* та *Tsix* повинні міститися сайти, комплементарні сайтам метилювання, тобто динуклеотиди CG та тринуклеотиди CNG. Більше того, ці сайти повинні бути зосереджені, головним чином, на 5'-кінці транскриптів.

Метою даної роботи було перевірити дані передбачення шляхом виявлення зазначених сайтів та встановлення особливостей їх розподілу у транскриптах генів *Xist* та *Tsix*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нуклеотидні послідовності транскриптів генів довгих неко-

дуючих РНК людини *Xist* та *Tsix* було отримано з бази даних Ensembl (<http://www.ensembl.org>). Аналіз послідовностей проводили *in silico* за допомогою програмного пакета Vector NTI Advance® 11.5, виробництва Life Technologies Corp., а також Microsoft Excel.

Вміст кожного з нуклеотидів, очікувану концентрацію та насправді наявну концентрацію сайтів CG і CNG у досліджуваних послідовностях, розподіл сайтів CG та CNG у них визначали відповідно до методик, описаних нами раніше [1]. Зазначимо, що, хоча транскрипти генів *Xist* та *Tsix* зазнають процесингу і сплайсингу, вивчали їх повну первинну послідовність, оскільки передбачається, що взаємодія зазначених РНК з ДНК розпочинається ще до завершення їх синтезу і, відповідно, до вирізання інтронів. Проте отримана картина розподілу сайтів CG та CNG у *Xist*-транскрипті потім була зіставлена з його екзонами. Щодо транскрипту гена *Tsix*, то таке зіставлення не проводили з огляду на те, що послідовність цієї РНК зазнає процесингу не завжди і, за даними [7], свою активність проявляє у несплайсованій формі.

Інформацію щодо метилювання послідовностей ДНК генів *Xist* та *Tsix* у клітинах різного рівня диференціації було отримано з бази даних Epigenomics (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/epigenomics/>).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Тоді коли в геномі людини середня концентрація гуаніну,

а також цитозину складає 21 %, аденіну, а також тиміну – 29 %, послідовність первинного транскрипту гена *Xist* містить дещо нижчу кількість гуаніну (19,54 %), цитозину (20,27 %) та аденіну (27,35 %), а концентрація урацилу є вищою від середнього для геному рівня і становить 32,84 %. Відповідно, на більшості позицій нуклеотидів у даній послідовності з меншою імовірністю будуть зустрічатися гуанін, цитозин і аденін порівняно із середнім рівнем даних нуклеотидів у геномі. З огляду на ці дані, у *Xist* PHK варто очікувати середньої концентрації сайтів CNG на рівні $0,1954 \times (0,1954 + 0,2027 + 0,2735 + 0,3284) \times 0,2027 = 0,1954 \times 1 \times 0,2027 = 3,96$ %, що є нижчим значенням, ніж середній для геному рівень, який складає 4,41 %.

Відзначимо, що середня концентрація сайтів CG у геномі мала б так само дорівнювати 4,41 %, однак у ході еволюції більшість залишків цитозину в сайтах CG зазнала транзиції через заміну цитозину на тимін внаслідок дезамінування 5-метилцитозину. Тому в наш час у геномі людини динуклеотид CG зустрічається з частотою 1 % [5, 9].

Послідовність транскрипту гена *Tsix* містить нижчу кількість цитозину (19,30 %) та урацилу (28,50 %) і вищу – гуаніну (21,34 %) та аденіну (30,86 %) порівняно із середніми для геному рівнями концентрації даних нуклеотидів. Таким чином, розрахункова концентрація сайтів CNG у зазначеній послідовності повинна становити 4,12 %.

У результаті проведеного дослідження послідовностей ми, однак, виявили, що концентрація сайтів CG у послідовності первинного транскрипту гена *Xist* становить лише 0,8 %, а в послідовності *Tsix* PHK відносна кількість даних динуклеотидів ще менша і дорівнює всього 0,6 %.

Концентрація сайтів CNG у первинному транскрипті гена *Xist* складає 3,89 %, що також дещо менше, ніж рівень, середній для геному, та значення, очікуване для даної PHK. У транскрипті гена *Tsix* відносна кількість тринуклеотидів CNG становить 4,54 %, тобто перевищує як середню концентрацію в геномі, так і очікуване розрахункове значення для послідовності цієї PHK.

Проте локалізація сайтів CG і CNG у транскриптах генів *Xist* та *Tsix* характеризується винятковою нерівномірністю і наявністю декількох піків концентрації. Особливу увагу привертає ділянка, що включає перші 2000 нуклеотидів від 5'-кінця транскрипту гена *Xist* (тобто в межах його першого екзону), а також так звана А-ділянка, яка розташовується між

350-м та 770-м нуклеотидами від 5'-кінця. У даних ділянках концентрація сайту CG перевищує середній геномний рівень у декілька разів, досягаючи, відповідно, 3 та 5 %. Також концентрація тринуклеотиду CNG досягає свого максимуму в даних ділянках – 5,7 та 7,6 % відповідно (рис. 2). Оскільки ці піки концентрації сайтів CG та CNG перебувають у межах екзону, вони не втрачаються при сплайсингу *Xist* PHK.

У *Tsix* PHK найвищий пік концентрації сайтів CG та CNG (2,4 і 8,2 % відповідно) локалізується поблизу ділянки, послідовність якої перекривається з послідовністю гена *Xist* (рис. 3). Цікаво, що в первинному транскрипті гена *Xist* теж є декілька піків концентрації сайтів CG і CNG, розташованих впритул до ділянки, де послідовності генів *Xist* та *Tsix* перекриваються (рис. 2). Декілька значних піків концентрації сайтів CG та CNG було виявлено на 5'-кінці *Tsix* PHK (рис. 3).

Таким чином, сайти CG і CNG у транскриптах генів *Xist* та *Tsix* наявні (хоча й у нижчій кількості, ніж загалом у геномі). Більше того, на 5'-кінці даних транскриптів концентрація зазначених сайтів у декілька разів перевищує середній рівень. Це і передбачалось з огляду на запропоновану нами гіпотезу, що молекулярний механізм Х-інактивації включає в себе пряме зв'язування *Xist*-транскрипту з комплементарними послідовностями ДНК Х-хромосоми з наступною ініціацією репресії цих послідовностей шляхом PHK-залежного метилювання ДНК *de novo*.

За інформацією бази даних Epigenomics, у послідовності гена *Xist*, комплементарній 5'-кінцю *Xist* PHK (де, як ми встановили, локалізується найвищий пік концентрації сайтів CG та CNG), знаходяться метильовані CG-острівці, причому рівень метилювання даної ділянки зростає у диференційованих клітин порівняно з ембріональними стовбуровими. Значну концентрацію метильних міток у ДНК виявляють також з обох сторін ділянки, спільної для генів *Xist* та *Tsix*. А це свідчить про те, що дані острівці сайтів метилювання насправді функціонують.

ВИСНОВКИ. Послідовностям PHK-транскриптів генів *Xist* та *Tsix* людини властивий вкрай нерівномірний розподіл динуклеотидів CG та тринуклеотидів CNG, тобто сайтів, комплементарних сайтам метилювання у ДНК. На 5'-кінці *Xist*-транскрипту локалізуються найбільші, а на 5'-кінці *Tsix*-транскрипту – одні з найбільших піків концентрації сайтів CG та CNG для даних послідовностей. Ці дані підтверджують

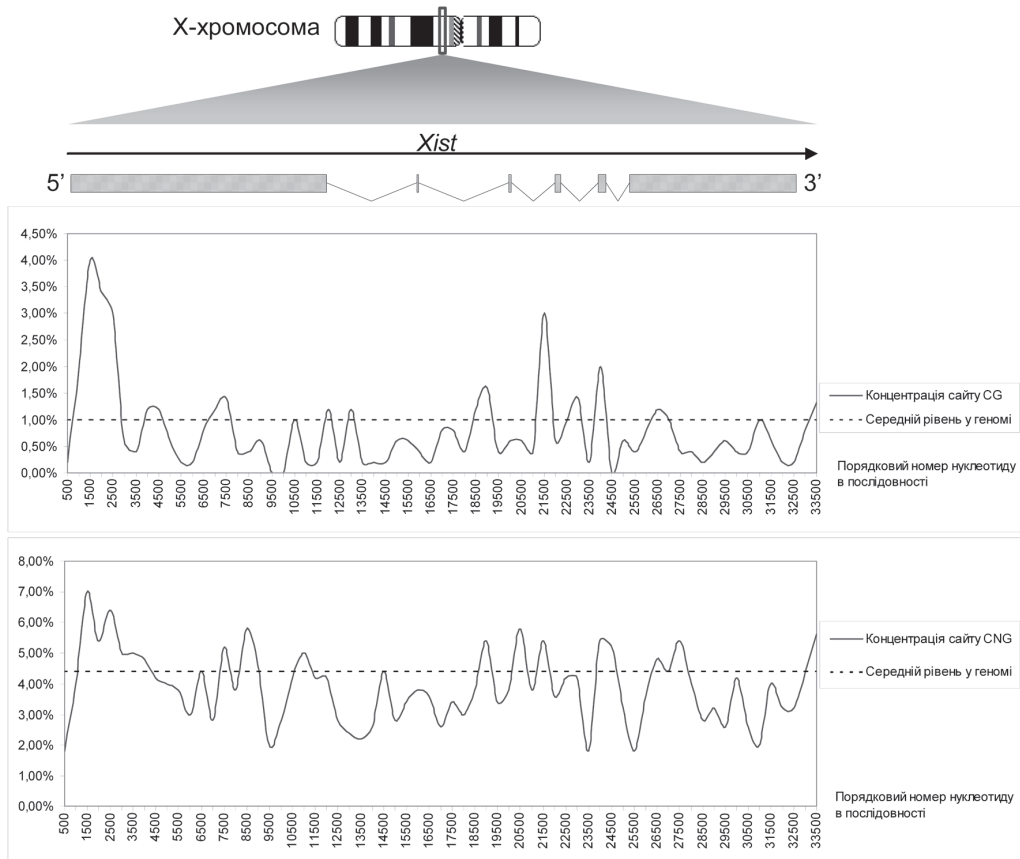


Рис. 2. Розподіл сайтів CG та CNG у транскрипті гена *Xist* (схему екзон-інтронної структури наведено у верхній частині рисунка, екзони позначено прямокутниками).

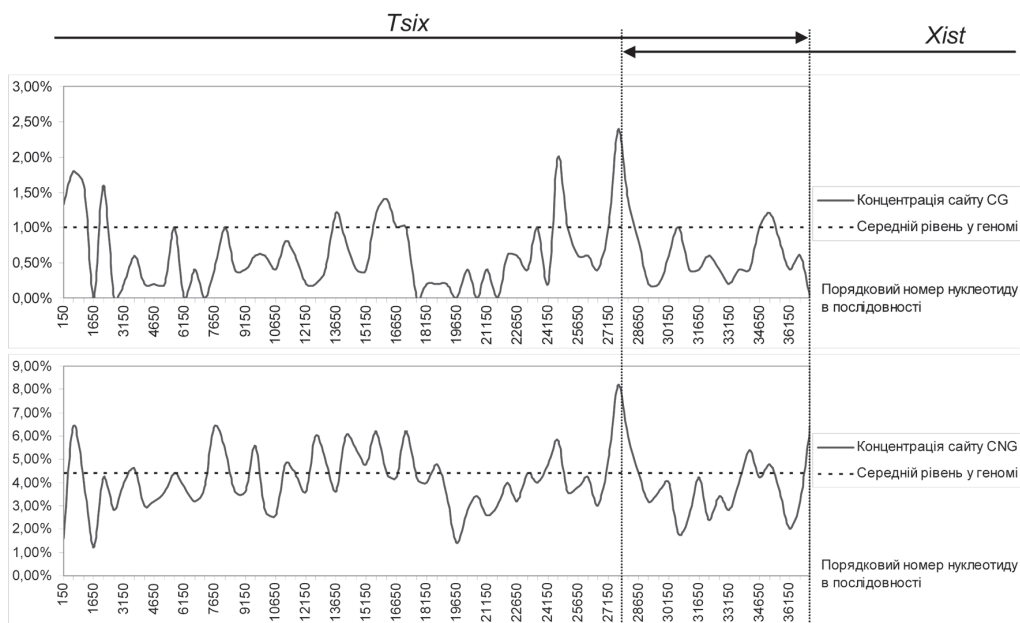


Рис. 3. Розподіл сайтів CG та CNG у транскрипті гена *Tsix* (пунктирними лініями обмежено ділянку перекриття послідовностей генів *Tsix* та *Xist*).

висунути нами гіпотезу про те, що Х-інактивація відбувається завдяки безпосередній гібридизації 5'-кінця транскрипту гена *Xist* з ДНК Х-хромосоми, що тягне за собою подальше метилювання *de novo* залишків цитозину в сай-

тах CG та CNG у тих послідовностях ДНК, які виявились комплементарно зв'язаними з *Xist*-транскриптом. Аналогічно репресія гена *Xist* може ініціюватись гібридизацією з його послідовністю 5'-кінця РНК-транскрипту гена *Tsix*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галицький В. А. Локалізація сайтів 5'-CG-3', 5'-CNG-3', 5'-GC-3' та 5'-GNC-3' у послідовностях мікроРНК / В. А. Галицький, С. В. Комісаренко // *Biopolymers and Cell*. – 2011. – **27**, № 6. – С. 499–505.
2. Halytskyi V. A. Hypothesis of initiation of DNA methylation *de novo* and allelic exclusion by small RNAs / V. A. Halytskyi // *Cell Tissue Biol*. – 2008. – **2**, № 2. – P. 97–106.
3. Halytskyi V. A. Non-coding RNAs and epigenome: *de novo* DNA methylation, allelic exclusion and X-inactivation / V. A. Halytskyi, S. V. Komisarenko // *Ukrainian Biochem. J.* – 2013. – **85**, № 6. – P. 151–165.
4. Halytskyi V. RNA-dependent DNA methylation as a molecular basis of X-inactivation / V. Halytskyi // Joint Conference of HGM 2013 and 21st International Congress of Genetics “Genetics & Genomics of Global Health and Sustainability”, April 13–18, 2013. Abstract Book. – Singapore, 2013. – P. 282–283.
5. Jabbari K. Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies / K. Jabbari, G. Bernardi // *Gene*. – 2004. – **333**. – P. 143–149.
6. Ogawa Y. Intersection of the RNA interference and X-inactivation pathways / Y. Ogawa, B. K. Sun, J. T. Lee // *Science*. – 2008. – **320**, № 5881. – P. 1336–1341.
7. Sado T. *Tsix* defective in splicing is competent to establish *Xist* silencing / T. Sado, Y. Hoki, H. Sasaki // *Development*. – 2006. – **133**, № 24. – P. 4925–4931.
8. Shibata S. Characterization and quantitation of differential *Tsix* transcripts: implications for *Tsix* function / S. Shibata, J. T. Lee // *Hum. Mol. Genet.* – 2003. – **12**, № 2. – P. 125–136.
9. The heterogeneity of thymine methyl group origin in DNA pyrimidine isostichs of developing sea urchin embryos / E. Scarano, M. Iaccarino, P. Grippo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1967. – **57**, № 5. – P. 1394–1400.

В. А. Галицький

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

НЕРАВНОМЕРНОСТЬ ЛОКАЛИЗАЦИИ САЙТОВ CG И CNG В ТРАНСКРИПТАХ ГЕНОВ *XIST* И *TSIX*

Резюме

Хотя концентрация сайтов CG и CNG в *Xist* РНК в среднем составляет 0,8 %, то есть даже меньше, чем общий уровень в геноме (1 %), локализация этих сайтов крайне неравномерна. Концентрация сайтов CG и CNG достигает максимальной плотности, превышающей средний уровень в несколько раз, на 5'-конце *Xist*-транскрипта. Количество сайтов CG и CNG в *Tsix* РНК даже меньше, чем в *Xist*-транскрипте, и составляет всего 0,6 %. Тем не менее сайты CG и CNG в *Tsix* РНК концентрируются вблизи участка, перекрывающего последовательность гена *Xist*, а также на 5'-конце. Эти данные подтверждают гипотезу, что последовательности 5'-конца *Xist* РНК непосредственно связываются с комплементарной ДНК в других участках X-хромосомы, вызывая РНК-зависимое метилирование ДНК и X-инактивацию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: X-хромосома, *Xist*, *Tsix*, CG, CNG, локализация сайтов, РНК-зависимое метилирование ДНК, X-инактивация.

V. A. Halytskyi

O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE, KYIV

IRREGULARITY OF THE CG AND CNG SITE LOCALIZATION IN *XIST* AND *TSIX* GENE TRANSCRIPTS

Summary

Although the concentration of CG and CNG sites in *Xist* RNA averages 0.8 %, that is even less than the general genome level (1 %), the localization of these sites reveals extreme irregularity. CG and CNG concentration reaches maximum density, exceeding the average level in several times, at the 5' end of the *Xist* transcript. Frequency of CG and CNG sites in *Tsix* RNA is even less than in *Xist* transcript and amounts to 0.6 %. Nevertheless, CG and CNG in the *Tsix* RNA are abundant near the region, overlapping *Xist* sequence, as well as at the 5' end. These data support the hypothesis that the 5' end sequences of the *Xist* RNA directly bind with complementary DNA in remote regions of the X chromosome, triggering the RNA-dependent DNA methylation and X inactivation.

KEY WORDS: X chromosome, *Xist*, *Tsix*, CG, CNG, site localization, RNA-dependent DNA methylation, X inactivation.

Отримано 24.10.13

Адреса для листування: В. А. Галицький, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна, e-mail: volha@biochem.kiev.ua.

ВПЛИВ ПРОПАРГІЛГЛІЦИНУ ТА НАТРІЮ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ НА ВМІСТ H_2S І ПОКАЗНИКИ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В МІОКАРДІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Досліджено вплив інгібітора H_2S -синтезувального ензиму цистатіонін- γ -ліази пропаргилгліцину та донора H_2S – натрію гідрогенсульфіду (NaHS) на вміст H_2S і стан про-антиоксидантної системи в міокарді щурів трьох вікових груп: 1–2 міс., 6–8 міс., 24–26 міс. 14-добове введення пропаргилгліцину (50 мг/кг і.п.) викликало достовірне зменшення (на 30–40 %) вмісту H_2S , підвищення активності NADPH-оксидази, зниження активності тіоредоксинредуктази та супероксиддисмутази в міокарді старих щурів. Введення NaHS (3 мг/кг) спричинило зростання вмісту H_2S та активності антиоксидантних ензимів, зниження активності NADPH-оксидази і вмісту продуктів пероксидації ліпідів та протеїнів у міокарді старих тварин. Зміни вмісту H_2S та показників про-антиоксидантної системи, індуковані введенням модуляторів обміну H_2S , були менш суттєвими в дорослих щурів і практично не реєструвались у тварин віком 1–2 міс. Таким чином, у процесі старіння зростає роль H_2S як модулятора про-антиоксидантного балансу в міокарді щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гідрогенсульфід, вік, міокард, пропаргилгліцин, NaHS.

ВСТУП. Як відомо, при старінні посилюється продукування вільних радикалів та знижується антиоксидантний захист різних органів і тканин, перш за все міокарда та судин. Було з'ясовано, що в регуляції стану серцево-судинної системи бере участь гідрогенсульфід (H_2S) – біологічно активний метаболіт, який утворюється в процесі метаболізму цистеїну [16]. H_2S має вазодилатуючу, антиоксидантну, антиагрегатну дію, залучений до регуляції апоптозу та запалення [16]. Роль H_2S у розвитку атеросклерозу, кардіосклерозу, артеріальної гіпертензії, серцевої недостатності та іншої серцево-судинної патології активно досліджують в останні роки [17, 24]. Водночас вікові особливості обміну H_2S та їх зв'язок з віксоасійованими біохімічними змінами в серцево-судинній системі, зокрема зі станом про-антиоксидантної системи, залишаються невизначеними. Раніше ми показали, що з віком у щурів знижується рівень H_2S у плазмі крові та пригнічується його продукування в серці й судинах [6].

Метою даної роботи було вивчити вікові особливості впливу пропаргилгліцину та натрію гідрогенсульфіду (NaHS) на вміст H_2S і показники стану про-антиоксидантної системи в міокарді щурів.

© О. С. Ольховський, Н. В. Заїчко, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 90 білих нелінійних щурах-самцях (*Rattus norvegicus*) трьох вікових груп: статевонезрілих (1–2 міс., маса тіла 60–80 г), дорослих (6–8 міс., маса тіла 220–280 г), старих (24–26 міс., маса тіла 330–380 г). Тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день/ніч, воду і збалансований гранульований корм отримували *ad libitum*. Дослідження виконано відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі України з біоетики (Київ, 2001), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі.

Щурів кожної вікової групи поділили на три підгрупи (n=10): 1-ша – контроль; 2-га – введення пропаргилгліцину; 3-тя – введення NaHS. Тваринам 2-х підгруп вводили необоротний інгібітор цистатіонін- γ -ліази D,L-пропаргилгліцин у дозі 50 мг/кг маси, щурам 3-х підгруп – донор H_2S NaHS у дозі 3 мг/кг маси щоденно 1 раз на добу інтраперитонеально протягом 14 діб. Щурам 1-х підгруп (контроль) інтраперитонеально вводили 0,15 М розчин NaCl. Через 24 год після останнього введення речо-

вин тварин знеживлювали методом цервікальної дислокації.

Вміст H_2S у міокарді визначали за методикою, описаною в [8]. Міокард промивали холодним 1,15 % розчином KCl , подрібнювали ножицями, гомогенізували в середовищі 0,01 M $NaOH$ у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об./хв (тефлон-скло). До 1 мл гомогенату додавали 250 мкл 50 % TXO , центрифугували при 1200 g 15 хв, у супернатанті визначали вміст H_2S спектрофотометричним методом за реакцією з N,N -диметил-парафенілєндіаміном за присутності $FeCl_3$. Усі маніпуляції проводили у стерильних герметизованих пластикових пробірках типу Eppendorf (для попередження втрат H_2S). Вміст сульфід-аніона в пробі розраховували за калібрувальним графіком. Стандартом слугували водні розчини $Na_2S \times 9H_2O$ ("Sigma", США) з концентрацією 31,2–3120 мкМ.

Для інших досліджень міокард гомогенізували в середовищі 0,25 M сахарози, 0,01 M Трис (рН 7,4) у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об./хв (тефлон-скло), центрифугували 30 хв при 600 g при температурі 4–6 °С, відбирали аліквоти пост'ядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °С. Активність $NADPH$ -оксидази (КФ 1.6.3.1) визначали за поглинанням $NADPH$ при 340 нм [18], тіоредоксиндисульфідредуктази (тіоредоксинредуктази, КФ 1.8.1.9) – за швидкістю $NADPH$ -залежного відновлення 5,5'-дитіобіс(2-нітробензоату) [9], супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) – за здатністю гальмувати окиснення кверцетину [4]. Вміст протеїну визна-

чали мікробіуретовим методом [5], малонового діальдегіду (МДА) – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [1], карбонільних груп білків – за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [3]. Вміст відновленого (GSH) глутатіону визначали у непротейновому фільтраті міокарда за реакцією з 5,5'-дитіобіс(2-нітробензоатом) і розраховували індекс $GSH/GSSG$ [10].

Статистичний аналіз проводили з використанням t -критерію Стьюдента, для визначення зв'язків між показниками здійснювали кореляційний аналіз за Пірсоном. Вірогідними вважали дані при $p < 0,05$. Результати наведено як $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При вивченні вмісту H_2S у міокарді щурів було виявлено достовірне зниження показника з віком: рівень метаболіту в особин віком 1–2 міс. становив $(8,41 \pm 0,23)$ мкг/г (95 % CI: 7,25–9,19), 6–8 міс. – $(7,38 \pm 0,28)$ мкг/г (95 % CI: 6,79–8,35), 24–26 міс. – $(6,45 \pm 0,19)$ мкг/г тканини (95 % CI: 6,01–7,83) (рис.).

Введення пропаргілгліцину викликало достовірне зниження вмісту H_2S в міокарді щурів усіх вікових груп, однак вираження ефекту було найбільшим у старих тварин. Так, у підгрупах "пропаргілгліцин" рівень H_2S у статевонезрілих щурів становив $(7,23 \pm 0,25)$ мкг/г (-14,0 % відносно контролю), у дорослих – $(5,73 \pm 0,19)$ мкг/г (-22,3 %) та у старих – $(4,31 \pm 0,24)$ мкг/г (-33,2 %) відповідно.

Двотижневе введення $NaHS$ достовірно підвищувало вміст H_2S в міокарді щурів усіх вікових груп, при цьому найбільший ефект реєстрували у старих тварин. У підгрупах

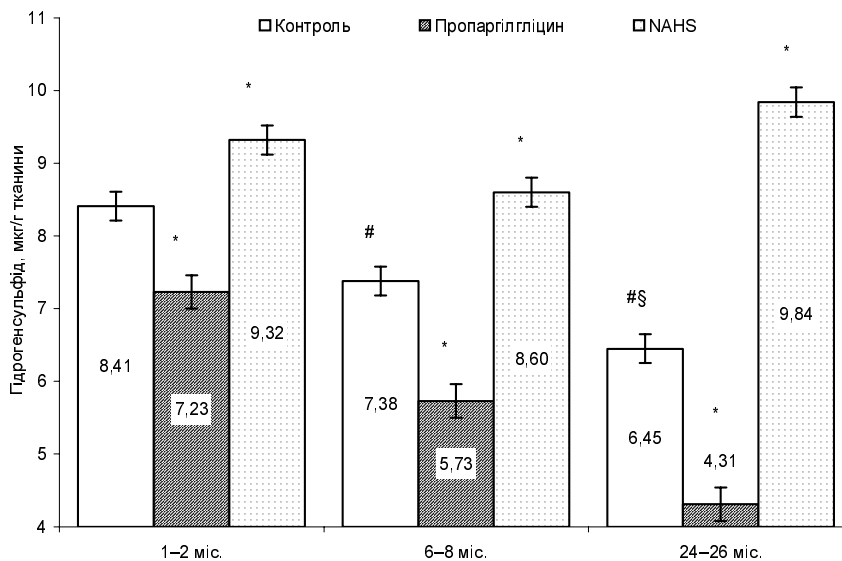


Рис. Вплив пропаргілгліцину та $NaHS$ на вміст H_2S у міокарді щурів різного віку ($M \pm m$, $n=10$): * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі; # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих тварин; § – $p < 0,05$ відносно дорослих тварин.

“NaHS” вміст H_2S становив: у щурів віком 1–2 міс. – $(9,32 \pm 0,33)$ мкг/г (+10,8 % відносно контролю), 6–8 міс. – $(8,60 \pm 0,30)$ мкг/г (+16,5 %), 24–26 міс. – $(9,84 \pm 0,23)$ мкг/г (+52,6 %) відповідно.

При оцінюванні показників про-антиоксидантної системи в щурів різного віку було встановлено підвищення активності ключового продуцента супероксид-аніона – NADPH-оксидази, зниження активності СОД, зростання рівня продуктів окиснювальної деструкції протеїнів та ліпідів у міокарді щурів у процесі старіння (табл. 1). Введення пропаргілгліцину порушувало про-антиоксидантну рівновагу в міокарді статевонезрілих щурів та індукувало розвиток оксидативного стресу в дорослих і, особливо, старих тварин. У підгрупах “пропаргілгліцин” активність NADPH-оксидази в щурів віком 1–2 міс., 6–8 міс. та 24–26 міс. була вищою на 14,7; 27,6; 35,4 %, а активність СОД – нижчою на 15,9; 33,1; 39,7 % відносно відповідного контролю. В міокарді старих і дорослих щурів вміст МДА та карбонільних груп протеїнів підвищувався більш суттєво, ніж у статевонезрілих тварин.

При введенні NaHS спостерігали протилежний ефект – підвищувалась активність

антиоксидантної ланки та зменшувались ознаки оксидативного стресу: достовірно знижувалась активність NADPH-оксидази (на 43,6 та 24,3 %), зростала активність СОД (на 31,0 і 15,6 %), зменшувався вміст МДА та карбонільних груп протеїнів (на 30–40 %) в міокарді старих і дорослих тварин. У статевонезрілих щурів, які отримували NaHS, активність про-антиоксидантних ензимів і вміст продуктів пероксидації протеїнів та ліпідів практично не змінювалися.

Процес старіння асоціюється з порушеннями тиол-дисульфідного обміну та редокс-регуляції. Вікасоційовані зміни в системах тіоредоксин/тіоредоксинредуктаза та GSH/GSSG розглядають як один із механізмів зниження стійкості міокарда до дії стресорних чинників [7, 23]. Результати наших досліджень підтвердили, що з віком у міокарді достовірно зменшується активність тіоредоксинредуктази, знижується вміст відновленого глутатіону, виникає тенденція до зростання вмісту глутатіон-дисульфиду та зменшується відношення GSH/GSSG (табл. 2).

Введення модуляторів обміну H_2S – пропаргілгліцину та NaHS викликало протилежні зміни активності тіоредоксинредуктази, вмісту

Таблиця 1 – Вплив пропаргілгліцину (ПГ) та NaHS на показники про-антиоксидантної системи в міокарді щурів різного віку ($M \pm m$, $n=10$)

Група щурів	Умова досліджу	NADPH-оксидаза, нмоль/хв·мг протеїну	СОД, ум. од./хв·мг протеїну	МДА, мкмоль/г тканини	Карбонільні групи, нмоль/мг протеїну
Статевонезрілі, 1–2 міс.	Контроль	$0,95 \pm 0,05$	$2,70 \pm 0,13$	$7,54 \pm 0,39$	$0,64 \pm 0,03$
	ПГ	$1,09 \pm 0,04^*$	$2,27 \pm 0,12^*$	$8,85 \pm 0,39^*$	$0,75 \pm 0,04^*$
	NaHS	$0,88 \pm 0,05$	$3,04 \pm 0,15$	$6,95 \pm 0,34$	$0,61 \pm 0,02$
Дорослі, 6–8 міс.	Контроль	$1,23 \pm 0,04^\#$	$3,66 \pm 0,14^\#$	$9,98 \pm 0,35^\#$	$0,95 \pm 0,04^\#$
	ПГ	$1,57 \pm 0,12^*$	$2,45 \pm 0,14^*$	$12,1 \pm 0,06^*$	$1,19 \pm 0,06^*$
	NaHS	$0,93 \pm 0,07^*$	$4,23 \pm 0,16^*$	$7,15 \pm 0,34^*$	$0,73 \pm 0,05^*$
Старі, 24–26 міс.	Контроль	$1,72 \pm 0,07^\#§$	$2,87 \pm 0,17^\#§$	$12,0 \pm 0,55^\#§$	$1,23 \pm 0,04^\#§$
	ПГ	$2,33 \pm 0,13^*$	$1,73 \pm 0,16^*$	$18,3 \pm 0,76^*$	$1,75 \pm 0,06^*$
	NaHS	$0,97 \pm 0,06^*$	$3,76 \pm 0,08^*$	$7,55 \pm 0,32^*$	$0,81 \pm 0,05^{**}$

Примітки. Тут і в наступній таблиці:

- * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі.
- # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів.
- § – $p < 0,05$ відносно дорослих тварин.

Таблиця 2 – Вплив пропаргілгліцину (ПГ) та NaHS на активність тіоредоксинредуктази і вміст глутатіону в міокарді щурів різного віку ($M \pm m$, $n=10$)

Група щурів	Умова досліджу	Тіоредоксинредуктаза, нмоль DTNB/хв·мг протеїну	Глутатіон, мкмоль/мг протеїну		
			GSH	GSSG	GSH/GSSG
Статевонезрілі, 1–2 міс.	Контроль	$5,26 \pm 0,36$	$3,32 \pm 0,11$	$0,092 \pm 0,002$	$36,0 \pm 0,97$
	ПГ	$3,93 \pm 0,21^*$	$2,82 \pm 0,10^*$	$0,092 \pm 0,003$	$30,8 \pm 1,15^*$
	NaHS	$5,57 \pm 0,19$	$3,75 \pm 0,12^*$	$0,087 \pm 0,002$	$43,4 \pm 1,23^*$
Дорослі, 6–8 міс.	Контроль	$4,30 \pm 0,25^\#$	$2,97 \pm 0,09^\#$	$0,095 \pm 0,003$	$31,4 \pm 1,35^\#$
	ПГ	$2,97 \pm 0,19^*$	$2,23 \pm 0,11^*$	$0,093 \pm 0,002$	$24,0 \pm 0,91^*$
	NaHS	$5,39 \pm 0,27^*$	$3,66 \pm 0,13^*$	$0,087 \pm 0,003$	$42,9 \pm 2,74^*$
Старі, 24–26 міс.	Контроль	$3,57 \pm 0,18^\#§$	$2,80 \pm 0,12^\#$	$0,100 \pm 0,006$	$28,9 \pm 2,30^\#$
	ПГ	$1,97 \pm 0,16^*$	$1,78 \pm 0,07^*$	$0,105 \pm 0,004$	$16,9 \pm 0,32^*$
	NaHS	$4,64 \pm 0,27^*$	$3,79 \pm 0,09^*$	$0,086 \pm 0,002$	$44,2 \pm 1,57^*$

відновленого глутатіону та відношення GSH/GSSG в щурів усіх вікових груп, однак найбільш вираженими вони були у старих щурів. У підгрупах “пропаргілгліцин” активність тіоредоксинредуктази у тварин віком 1–2 міс., 6–8 міс. та 24–26 міс. була нижчою на 25,2; 30,9; 44,8 %, а вміст відновленого глутатіону – на 15,1; 24,5; 36,4 % меншим, ніж у щурів контрольних підгруп.

Введення NaHS викликало достовірне зростання активності тіоредоксинредуктази (на 30,0 і 25,3 %) у старих та дорослих щурів і не спричинило суттєвих змін у статевонезрілих тварин. У підгрупах “NaHS” вміст відновленого глутатіону і відношення GSH/GSSG були вищими у щурів віком 1–2 міс. – на 13,0 та 20,6 %, 6–8 міс. – на 23,2 та 36,6 %, 24–26 міс. – на 35,4 та 52,9 % порівняно з відповідним контролем.

Кореляційний аналіз показав існування достовірних зв'язків між вмістом H_2S та показниками про-антиоксидантної системи в міокарді. Вміст H_2S прямо корелював з активністю СОД ($r=0,53$, $p<0,05$), тіоредоксинредуктази ($r=0,61$, $p<0,05$) та вмістом GSH ($r=0,43$, $p<0,05$) і обернено – з активністю NADPH-оксидази ($r=-0,56$, $p<0,05$), вмістом МДА та карбонільних груп протеїнів ($r=-0,58$, $-0,63$, $r<0,05$). При введенні модуляторів обміну H_2S (пропаргілгліцину і NaHS) збільшувалась сила зв'язку між вмістом H_2S та активністю тіоредоксинредуктази, рівнем GSH ($r>0,65$, $p<0,05$) в міокарді дорослих і старих тварин.

Таким чином, зниження вмісту H_2S у міокарді є одним із вікасоційованих чинників, які детермінують посилення процесів вільнорадикального окиснення, зниження антиоксидантного захисту та порушення тіол-дисульфідного обміну в процесі кардіоваскулярного старіння. Молекулярні механізми антиоксидантної дії H_2S не обмежуються його безпосередньою взаємодією з активними формами кисню, хлору, азоту, сульфгідрильними групами мембранних та цитозольних протеїнів, електрофільними метаболітами, нітро- і кетопохідними ненасичених жирних кислот [12,16, 19, 22], генерація яких у міокарді зростає при старінні, а реалізуються на рівні регуляції активності та експресії певних ферментів [11]. Ця думка підтверджується здатністю модуляторів обміну H_2S (пропаргілгліцину та NaHS) викликати протилежні зміни активності антиоксидантних (тіоредоксинредуктази, СОД)/прооксидантних ферментів (NADPH-оксидази) і наявністю достовірних кореляційних зв'язків між показниками про-антиоксидантної системи та вмістом H_2S у міокарді. Існують дані, що

донори H_2S посилюють експресію тіоредоксин-1 в міокарді мишей із серцевою недостатністю [24], стимулюють експресію СОД, тіоредоксинредуктази та зменшують вміст МДА в культурі нейрональних клітин [13].

Система глутатіону визначає стійкість міокарда до дії численних стресорних чинників, і її роль у клітинному гомеостазі істотно зростає при старінні [7, 14, 20]. Результати нашої роботи показали, що між вмістом H_2S та відновленого глутатіону в міокарді існує кореляційний зв'язок, який посилюється в процесі старіння. Здатність NaHS підвищувати, а пропаргілгліцину – зменшувати вміст відновленого глутатіону в міокарді підтверджує участь H_2S у регуляції глутатіонового гомеостазу. Єдиної думки щодо механізмів впливу H_2S на систему глутатіону сьогодні не існує. Встановлено, що NaHS та Na_2S можуть відновлювати глутатіон-дисульфід та вивільняти глутатіон із змішаних дисульфідів, стимулювати транспорт цистеїну в клітини [15], підвищувати активність глутатіон-S-трансферази [21] та глутатіонсинтетази в культурі нейрональних клітин [13].

Значення H_2S у регуляції про-антиоксидантної системи в міокарді істотно зростає з віком. Екзогенний H_2S проявляє кардіопротекторний ефект у старих щурів і не викликає суттєвих змін досліджуваних систем у міокарді статевонезрілих тварин. Слід відзначити, що у донорів нітроген монооксиду, який вважають біологічним синергістом H_2S , описані аналогічні вікові особливості впливу на стан антиоксидантної системи міокарда щурів [2]. Встановлення ролі H_2S -залежних механізмів у регуляції кардіоваскулярного гомеостазу при старінні відкриває нові можливості для геропротекції та є перспективним напрямком подальших досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. У процесі старіння достовірно знижується вміст H_2S , підвищується продукування супероксид-аніона з участю NADPH-оксидази, зменшується активність ферментів антиоксидантного захисту (СОД, тіоредоксинредуктази) та відновленого глутатіону в міокарді щурів.

2. Введення модуляторів обміну H_2S – пропаргілгліцину та NaHS викликає протилежні зміни вмісту H_2S і показників про-антиоксидантної системи в міокарді щурів. Зниження вмісту H_2S у міокарді, індуковане введенням пропаргілгліцину, обернено корелює зі збільшенням активності NADPH-оксидази та посиленням процесів пероксидації ліпідів і протеїнів. Підвищення вмісту H_2S у міокарді при введенні NaHS супроводжується активацією

системи антиоксидантного захисту (збільшення активності СОД, тіоредоксинредуктази, відновленого глутатіону).

3. Зміни вмісту H_2S та показників про-антиоксидантної рівноваги в міокарді, індуко-

вані пропаргілгліцином і NaHS, істотно залежать від віку та є найбільш вираженими у старих щурів і найменш вираженими – у статевонезрілих.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю. В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. В. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
2. Вплив L-аргініну на вікові зміни процесів перекисного окислення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту у тканинах щурів / К. Мурашук, О. Іккерт, М. Гальків, С. Гордій // Укр. біохім. журн. – 2007. – **79**, № 3. – С. 38–43.
3. Заїчко Н. В. Окислювальна модифікація білків сироватки крові як маркер активності ревматоїдного артриту та її зміни під впливом фармакотерапії аміноном, індометацином, німесулідом / Н. В. Заїчко // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2003. – **7**, № 2/2. – С. 664–666.
4. Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии. – 1990. – **36**, № 2. – С. 88–91.
5. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высшая школа, 1980. – 272 с.
6. Ольховський О. С. Вікові відмінності продукції гідроген сульфід у серці та аорті щурів / О. С. Ольховський, А. В. Мельник, Н. В. Заїчко // Актуал. пробл. сучасної медицини. – 2011. – **11**, № 4. – С. 133–137.
7. Швець В. Н. Возрастные особенности изменений в системе глутатиона в сердце крыс при имобилизационном стрессе / В. Н. Швець, В. В. Давыдов // Укр. біохім. журн. – 2008. – **80**, № 6. – С. 74–78.
8. Atorvastatin affects the hydrogen sulphide tissue concentration in mouse kidneys and other organs / B. Wilinski, J. Wilinski, E. Somogyi [et al.] // Pharmacol Rep. – 2011. – **63**. – P. 184–188.
9. Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines / H. I. Jung, H. W. Lim, B. C. Kim [et al.] // Yonsei Medical Journal. – 2004. – **45**, № 2. – P. 263–272.
10. Glutathione disulfide as an index of oxidative stress during postischemic reperfusion in isolated rat hearts / R. J. Verbunt, W. G. van Dockum, E. M. Bastiaanse, [et al.] // Mol Cell Biochem. – 1995. – **144**, № 1. – P. 85–93.
11. H_2S signals through protein S-sulfhydration / A. K. Mustafa, M. M. Gadalla, N. Sen. [et al.] // Sci Signal. – 2009. – **2**, № 96. – P. 72.
12. Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration / M. Nishida, T. Sawa, N. Kitajima [et al.] // Nat Chem Biol. – 2012. – **8**, № 8. – P. 714–724.
13. Hydrogen sulfide protects SH-SY5Y neuronal cells against d-galactose induced cell injury by suppression of advanced glycation end products formation and oxidative stress / Y. Y. Liu, B. V. Nagpure, P. T. Wong, J. S. Bian // Neurochem Int. 2013. – **62**, № 5. – P. 603–609.
14. Kakarla P. Exercise training with ageing protects against ethanol induced myocardial glutathione homeostasis / P. Kakarla, S. Kesireddy, L. Christiaan // Free Radic Res. – 2008. – **42**, № 5. – P. 428–434.
15. Kimura Y. Hydrogen sulphide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria / Y. Kimura, Y. I. Goto, H. Kimura // Antioxidants and Redox Signaling. – 2010. – **12**, № 1. – P. 1–13.
16. Lowicka E. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists / E. Lowicka, J. Beltowski // Pharmacol. Rep. – 2007. – **59**. – P. 4–24.
17. Lynn E. G. Hydrogen sulfide in the pathogenesis of atherosclerosis and its therapeutic potential / E. G. Lynn, R. C. Austin // Expert Rev. Clin. Pharmacol. – 2011. – **4**, № 1. – P. 97–108.
18. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats / T. Fukui, N. Ishizaka, S. Rajagopalan [et al.] // Circ. Res. – 1997. – **80**, № 1. – P. 45–51.
19. Paul B. D. H_2S signalling through protein sulfhydration and beyond / B.D. Paul, S.H. Snyder // Nat Rev Mol Cell Biol. – 2012. – **13**, № 8. – P. 499–507.
20. Pushpalatha K. Myocardial antioxidant status and oxidative stress after combined action of exercise training and ethanol in two different age groups of male albino rats / K. Pushpalatha, K. Nishanth, K. Sathyavelu Reddy // Acta Biol Hung. – 2007. – **58**, № 2. – P. 173–185.
21. Slow regulated release of H_2S inhibits oxidative stress induced cell death by influencing certain key signaling molecules / A. S. Majid, A. M. Majid, Z. Q. Yin, D. Ji // Neurochem Res. – 2013. – **38**, № 7. – P. 1375–1393.
22. S-sulfhydration/desulfhydration and S-nitrosylation/denitrosylation: A common paradigm for gasotransmitter signaling by H_2S and NO / C. Lu, A.

Kavaliar, E. Lukyanov, S. S. Gross // Methods. – 2013. – 62, № 2. – P. 177–181.

23. The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease / D. F. Mahmood, A. Abderrazak, K. El Hadri [et al.] // Antioxid Redox Signal. – 2013. – 19, № 11. – P. 1266–1303.

24. Thioredoxin 1 is essential for sodium sulfide-mediated cardioprotection in the setting of heart failure / C. K. Nicholson, J. P. Lambert, J. D. Molkenin [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2013. – 33, № 4. – P. 744–751.

А. С. Ольховский, Н. В. Заичко

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА

ВЛИЯНИЕ ПРОПАРГИЛГЛИЦИНА И НАТРИЯ ГИДРОГЕНСУЛЬФИДА НА СОДЕРЖАНИЕ H₂S И ПОКАЗАТЕЛИ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В МИОКАРДЕ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Резюме

Исследовано влияние ингибитора H₂S-синтезирующего фермента цистатионин-γ-лиазы пропаргилглицина и донора H₂S – натрия гидрогенсульфида (NaHS) на содержание H₂S и состояние про-антиоксидантной системы в миокарде крыс трех возрастных групп: 1–2 мес., 6–8 мес., 24–26 мес. 14-суточное введение пропаргилглицина (50 мг/кг и.п.) вызвало достоверное уменьшение (на 30–40 %) содержания H₂S, повышение активности NADPH-оксидазы, снижение активности тиоредоксинредуктазы и супероксид-дисмутазы в миокарде старых крыс. Введение NaHS (3 мг/кг) стало причиной возрастания содержания H₂S и активности антиоксидантных ферментов, снижения активности NADPH-оксидазы и содержания продуктов пероксидного окисления липидов и протеинов в миокарде старых животных. Изменения содержания H₂S и показателей про-антиоксидантной системы, индуцированные введением модуляторов обмена H₂S, были менее существенными у взрослых крыс и практически не регистрировались у животных возрастом 1–2 мес. Таким образом, в процессе старения усиливается роль H₂S как модулятора про-антиоксидантного баланса в миокарде крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гидрогенсульфид, возраст, миокард, пропаргилглицин, NaHS.

O. S. Olhovskiy, N. V. Zaichko

M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF PROPARGYLGLYCINE AND SODIUM HYDROGEN SULFIDE ON H₂S CONTENTS AND INDICES OF PRO-ANTIOXIDANT SYSTEM IN MYOCARDIUM OF RATS OF DIFFERENT AGES

Summary

The influence of cystathionine-γ-lyase inhibitor – propargylglycine and H₂S-donor - sodium hydrosulfide (NaHS) on hydrogen sulfide (H₂S) contents, and pro-antioxidant system condition in myocardium of rats of three age groups: 1–2 months, 6–8 months, 24–26 months were investigated. A two-week insertion of propargylglycine (50 mg/kg i.p.) caused a significant reduction (by 30–40 %) of H₂S contents, increase of NADPH-oxidase activity, decrease of the activity of superoxide dismutase and thioredoxin reductase in myocardium of old rats. Insertion of NaHS (3 mg/kg) caused an increase of H₂S contents and activity of antioxidant enzymes, reduction of NADPH-oxidase activity and the contents of lipid and proteins peroxidation products in the myocardium of old rats. Changes in the H₂S contents and indices of pro-antioxidant system induced by insertion of modulators of H₂S metabolism were less significant in adult rats and they were almost not registered in rats of 1-2 months old. Thus, the role of H₂S as a modulator of pro-antioxidant balance in the myocardium of rats is raised in aging.

KEY WORDS: hydrogen sulfide, age, myocardium, propargylglycine, NaHS.

Отримано 18.10.13

Адреса для листування: О. С. Ольховський, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна, e-mail: alexander.olhovskiy@mail.ru.

ВИВЧЕННЯ СУБМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ПРИРОДНИХ І СИНТЕТИЧНИХ ФЕНОЛІВ.

II. СТАТИЧНА ПОЛЯРИЗАЦІЯ ТА РОЗПОДІЛ ЗАРЯДІВ

У статті проаналізовано залежність між антиоксидантними й антирадикальними властивостями природних і синтетичних фенолів та величинами статичної поляризації, значенням зарядів на атомах молекулярних і вільнорадикальних форм.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: феноли, статична поляризація, дипольний момент, заряди на атомах, антиоксидантні властивості.

ВСТУП. В останні роки усе більше уваги приділяють вивченню ролі вільнорадикального окиснення (ВРО) в біологічних системах. Сучасні умови життя, негативний вплив факторів зовнішнього середовища, психоемоціональне напруження тощо є передумовою для порушення окисно-відновної рівноваги в організмі. Порушення окисно-відновного балансу, в свою чергу, призводить до розвитку патологічних процесів, пов'язаних зі змінами функцій центральної нервової, ендокринної, серцево-судинної систем тощо.

Зрозуміло, що провідну роль у патогенезі різних захворювань відіграють вільні радикали, зокрема токсична дія активних форм кисню (АФК), які ініціюють згубні процеси окиснення та деструкції для біомолекул. Головним проявом негативної дії АФК є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), кінцевий результат якого – руйнування ліпідного бішару біологічної мембрани з утворенням токсичних продуктів. Дані процеси ініціюють такі вільні радикали, як пероксильний радикал ($RO_2\cdot$), гідроперекисний радикал ($HO_2\cdot$), гідроксильний радикал ($HO\cdot$) та супероксид-аніон O_2^- [2, 3].

Для корекції цих патологічних процесів застосовують антиоксиданти (АО) – поліфункціональні сполуки різної природи, що перешкоджають або гальмують вільнорадикальне окиснення органічних сполук молекулярним киснем чи здатні інактивувати вільні радикали шляхом зв'язування та утворення неактивних форм.

© Ю. І. Губський, О. В. Афанасенко, 2013.

Добре відомо, що фенольні сполуки є найпотужнішими антиоксидантами. В останні роки вивченню антиоксидантної активності (АОА) сполук фенольної природи присвячено багато наукових робіт [1, 5, 6]. Проте мало уваги приділено дослідженню квантово-хімічних параметрів АО, які відіграють важливу роль для прогнозування заданої фармакологічної активності фенольних сполук та розробки нового лікарського препарату. На сьогодні існує багато комп'ютерних програм та алгоритмів, які мають істотні переваги порівняно з дорогими експериментальними методами дослідження на етапі розробки оригінального лікарського засобу.

Саме тому актуальними є пошук і створення високоефективних та безпечних сполук з АО-властивостями за допомогою сучасних методів комп'ютерного моделювання. Раніше автори вже досліджували кореляційні відношення між антиоксидантною активністю одно- і дво-ядерних фенолів природного та синтетичного походження з енергією граничних молекулярних орбіталей і потенціалом іонізації молекул [4]. Дослідження залежності між антиоксидантними й антирадикальними властивостями природних і синтетичних фенолів та величинами статичної поляризації, значенням зарядів на атомах молекулярних і вільнорадикальних форм і стало метою даної роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі як модельні сполуки, що стали об'єктами досліджен-

ня, було використано та досліджено 12 природних і синтетичних сполук, похідних фенолу:

1) одноядерні феноли – м-нітрофенол; фенол; 2,6-дитретбутил-фенол (2,6-ДиТБФ); 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенол (іонол);

2) двоядерні феноли – гідроксинафталіни: α -нафтол, β -нафтол, 1,5-дигідроксинафталін (1,5-ДГН);

3) похідні о-поліфенолів – пірокатехін, пірогалол, протокатехову кислоту, галову кислоту, кофейну кислоту.

Антиоксидантну активність досліджуваних сполук визначали, користуючись кількісним визначенням одного з продуктів пероксидного окиснення поліненасичених жирних кислот мембранних фосфоліпідів – малонового діальдегіду, що може накопичуватися за умов ініціювання ВРО у значних концентраціях [4].

Значення квантово-механічних та інших фізичних і фізико-хімічних параметрів молекулярних та радикальних структур ФАС розраховували за допомогою комп'ютерних програм MOPAC 2000, Version 1.11., Hyperchem Release 8.0. із використанням гамільтоніанів PM3 і AM1 та, в деяких випадках, розширеного методу Хюккеля.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено АОА досліджуваних фенолів

Відомо, що визначальними факторами АОА є енергетичні та структурні властивості антиоксидантів. З цією метою було проведено детальніше дослідження взаємозв'язків між значеннями дипольних моментів і зарядами на окремих функціональних групах в одно- та двоядерних фенолах та їх властивостями як антиоксидантів.

Таблиця 1 – Величини АОА одно- та двоядерних заміщених фенолів

Сполука	м-Нітрофенол	Фенол	2,6-ДиТБФ	Іонол	β -Нафтол	α -Нафтол
АОА	$0,017 \cdot 10^4$	$0,30 \cdot 10^4$	$0,95 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^4$	$4,4 \cdot 10^5$
K_1 , л/моль·с						
$Ig K_1$	2,230	3,478	3,978	4,398	4,954	5,643

Примітка. АОА фенолів оцінювали хемілюмінесцентним методом за ступенем гальмування швидкості окиснення етилбензолу.

Таблиця 2 – Статична поляризація молекул (дипольний момент молекул, дебай) в об'єднаній групі одно- та двоядерних заміщених фенолів (гамільтоніан PM3)

ФАС	Дипольний момент, D		
	мол. форма	ВР-форма	ΔD
м-Нітрофенол	4,189	4,101	-0,088
Фенол	1,142	3,460	+2,318
2,6-ДиТБФ	1,396	2,561	+1,165
Іонол	1,373	3,039	+1,666
β -Нафтол	1,369	4,310	+2,941
α -Нафтол	0,920	3,582	+2,662
1,5-ДГН	0,233	3,379	+3,146

Дипольний момент – векторна величина, що характеризує асиметрію розподілу позитивного і негативного зарядів в електрично-нейтральній системі. Оскільки дипольний момент молекули, іона або радикала кількісно відображає статичну поляризацію часточки, його величина визначає, суттєвою мірою, тип та активність її хімічної взаємодії. Тому дуже важливим було кількісне визначення дипольних моментів, розподілу зарядів та електронної щільності на функціональних групах, що відповідають за здатність досліджуваних фенольних сполук проявляти антирадикальні, та, відповідно, антиоксидантні властивості. Отримані результати наведено в таблиці 2.

Як свідчать дані таблиці, за мірою зростання АОА в ряду м-нітрофенол \rightarrow 1,5-ДГН спостерігали відповідне зменшення значень дипольного моменту, тобто величини статичної поляризації фенолів. Разом із тим, при утворенні вільнорадикальних форм фенолів, які досліджували, відзначали значне збільшення дипольних моментів відповідних часточок. При цьому найвищий ступінь зростання статичної поляризації (ΔD) мав 1,5-дигідроксинафталін.

Згідно із сучасними уявленнями, значення та величина електричного заряду і, відповідно, щільності розподілу електронів або, в квантово-механічних уявленнях, електронної хмари на окремих атомах функціональних груп є визначальними факторами, що впливають на можливість та напрямок передавання електронів між окремими молекулами, іонами або радикалами. У цій роботі було проведено розрахунки зарядів та атомної щільності для молекулярних і вільнорадикальних форм досліджуваних фенолів. Дані розрахунки вико-

нували за допомогою комп'ютерних програм HyperChem, в яких заряди окремих атомів виражають за Мелікеном (Mulliken atomic charges), тобто в одиницях, які використовуються в теорії молекулярних орбіталей і відображають електронегативність (ЕН) атомів. Отримані результати наведено в таблицях 3 і 4 та на рисунках 1 і 2.

Окрім зарядів на атомах вуглецю, було розраховано значення електричного заряду та електронної щільності на атомах кисню і водню гідроксильної групи одноядерних фенолів. Результати розрахунків наведено в таблицях 5 та 6 відповідно.

Наведені дані свідчать про те, що в класі одноядерних фенолів, які відрізнялися бічними замісниками, найбільшу (за модулем) величину електричного заряду спостерігали на атомі кисню гідроксильної групи фенолу, що відповідало найвищій електронегативності кисню в молекулі фенолу (за шкалою Mulliken: $E_{H_1}=7,17$; $E_{H_C}=5,61$; $E_{H_O}=9,99$) та негативному індуктивному ефекту (-I) цього атома без урахування спряження з π -електронною системою ароматичного кільця. Разом із тим, сама ОН-група як замісник I роду призводить до переважного збільшення електронної щільності в о- та р-положеннях ароматичного кільця, тобто

Таблиця 3 – Розподіл електричних зарядів (за Mulliken) на атомах вуглецю фенольного кільця одноядерних фенолів (розрахунок за гамільтоніаном РМ3)

Фенольна сполука	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
м-Нітрофенол	0,0841	-0,1124	-0,3640	-0,0483	-0,0863	-0,0833
Фенол	0,0987	-0,1965	-0,0585	-0,1445	-0,0634	-0,1438
4-Метилфенол	0,0923	-0,1401	-0,0640	-0,1159	-0,0618	-0,1903
2,6-ДитБФ	0,1276	-0,1617	-0,0788	-0,1420	-0,0848	-0,1032
Іонол	0,1220	-0,1580	-0,0791	-0,1140	-0,0873	-0,0978

Таблиця 4 – Розподіл електричних зарядів (за Mulliken) на атомах вуглецю фенольного кільця вільнорадикальних форм одноядерних фенолів (розрахунок за гамільтоніаном РМ3)

Фенольна сполука	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
4-Нітрофенол	0,2575	-0,0446	-0,3928	-0,0150	-0,1096	-0,1065
Фенол	0,2749	-0,1390	-0,1033	-0,0485	-0,1033	-0,1390
4-Метилфенол	0,2818	-0,1477	-0,0959	-0,0320	-0,0988	-0,1476
2,6-ДитБФ	0,3265	-0,1112	-0,1227	-0,0543	-0,1227	-0,1112
Іонол	0,3265	-0,1192	-0,1167	-0,0365	-0,1167	-0,1193

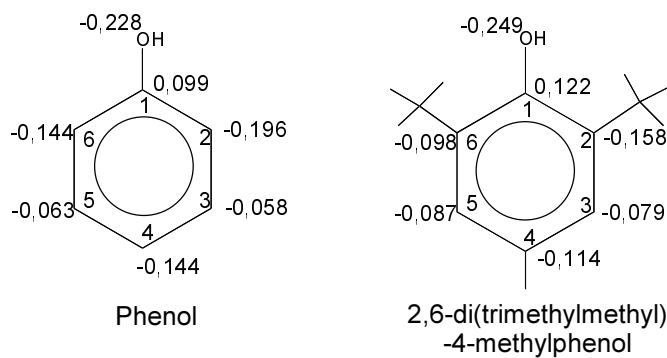


Рис. 1. Розподіл зарядів (за Mulliken) на атомах вуглецю фенольного кільця та гідроксильному кисні молекул фенолу й іонолу.

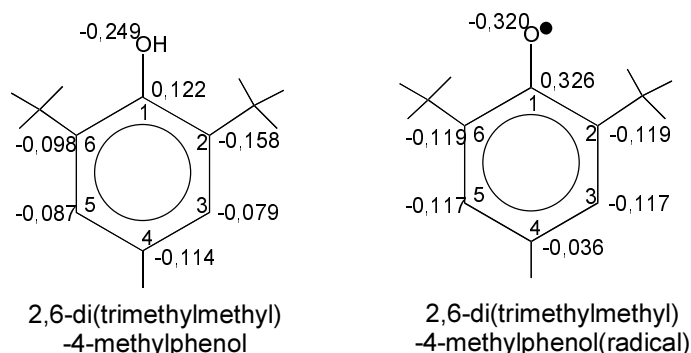


Рис. 2. Зміни розподілу електричних зарядів при утворенні вільнорадикальних форм фенольних АО.

Таблиця 5 – Значення електричного заряду на атомах кисню та водню гідроксильної групи одноподібних фенолів (гамільтоніан PM3)

Фенольна сполука	Електричний заряд (за Mulliken)			$\Delta e_{O(mol-rad)}$
	молекулярні форми		вільні радикали	
	O	H	O	
м-Нітрофенол (O_{10})	-0,2194	0,1496	-0,2759	-0,0565
Фенол (O_7)	-0,2276	0,1102	-0,3043	-0,0767
2,6-ДиТБФ (O_7)	-0,2488	0,2125	-0,3158	-0,0670
Іонол (O_7)	-0,2489	0,2121	-0,3201	-0,0712

Таблиця 6 – Значення електронної щільності на атомах кисню та водню гідроксильної групи одноподібних фенолів (гамільтоніан PM3)

Фенольна сполука	Електронна щільність			
	молекули		вільні радикали	$\Delta E.D_o$
	O	H		
м-Нітрофенол (O_{10})	6,2194	0,8594	6,2759	+0,0565
Фенол (O_7)	6,2276	0,8898	6,3043	+0,0767
2,6-ДиТБФ (O_7)	6,2488	0,7884	6,3158	+0,0670
Іонол (O_7)	6,2489	0,7879	6,3201	+0,0712

на 2-му, 6-му і 4-му атомах вуглецю. Серед досліджених похідних фенолу найменший негативний електричний заряд (в одиницях Mulliken) міститься на кисні ОН-групи м-нітрофенолу, що пояснюється відтягуванням електронів у бік електроноакцепторної нітрогрупи (-I-ефект). Перехід від молекули фенолу до 2,6-дитретбутилфенолу та 2,6-дитретбутил-4-метилфенолу (іонолу), тобто включення в ароматичний цикл розгалужених алкільних радикалів з електронодонорними властивостями (+I-ефект), призводить до зростання негативного заряду та електронної щільності на кисні гідроксильної групи. Відповідним чином на атомі гідроксильного кисню збільшується і загальна електронна щільність.

Утворення вільнорадикальних форм фенольних сполук призводить до суттєвих змін у статичній поляризації часточок та (здебільшого) зростання їх дипольного моменту. При цьому, як свідчать результати квантово-механічних розрахунків, наведені в таблиці 4 та на рисунку 2, відщеплення атома водню від фенольного гідроксилу викликає суттєві зсуви у розподілі електричних зарядів та атомної

щільності на окремих атомах вуглецю фенольного циклу. Наведені дані вказують на те, що утворення ВР збільшує електронну щільність переважно на атомах С-2–С-6, при цьому високий позитивний заряд накопичується на С-1 за рахунок зсуву електронів у бік атома кисню.

ВИСНОВКИ. 1. Невисокі значення дипольних моментів похідних одно- та двохядерних фенолів (від 0,692 до 1,142) вказують на те, що всі речовини цього класу мають сильно виражені гідрофобні властивості.

2. Антиоксидантна активність у ряду досліджуваних фенолів зростає при зменшенні величин від'ємних зарядів на атомах кисню як у молекулярній, так і у вільнорадикальній формі. Для найпотужнішого антиоксиданту іонолу вони складають -0,2489 та -0,3201, а для найменш слабкого антиоксиданту – м-нітрофенолу становлять -0,2194 та -0,2759 відповідно.

3. Пропорційно збільшенню антиоксидантної активності збільшується і позитивний заряд на атомі C_1 – 6,2489 для іонолу та 6,2194 для м-нітрофенолу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантна активність, мембрано- та генотоксична дія похідного триметилфенолу – сполуки МВ-5 за умов отруєння тетрахлорметаном / Ю. І. Губський, Г. Г. Горюшко, Н. В. Літвінова [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4. – С. 23.

2. Взаємодія фенольних антиоксидантів з активними формами кисню / Т. М. Івлева, А. М. Ніколаєвський, О. І. Хижан [та ін.] // Фармац. журн. – 2010. – № 3. – С. 89.

3. Денисов Е. Т. Реакционная способность природных фенолов / Е. Т. Денисов, Т. Г. Денисова // Усп. химии. – 2009. – 78, № 11. – С. 11–29.

4. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідях *in vitro*: метод рекомендації / Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, І. Ф. Беленічев [та ін.]. – К., 2002. – 26 с.

5. Синтез и изучение антиоксидантной активности 3,4-дигидроксибензилтиазолов / А. Н. Шендрик,

Н. И. Бураков, В. В. Одарюк [и др.] // Журн. органічної та фармацевтичної хімії. – 2011. – 9, № 4. – С. 61.

6. Хижан О. І. Антиоксидантна дія лікарських засобів у модельних системах різної складності / О. І. Хижан, О. П. Книга, Ю. С. Єфремова // Вісник Донецького університету, Серія А "Природничі науки". – 2010. – № 1. – С. 208.

Ю. І. Губський¹, О. В. Афанасенко²

ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ НАМН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА², КИЕВ

ИЗУЧЕНИЕ СУБМОЛЕКУЛЯРНЫХ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ФЕНОЛОВ.

II. СТАТИЧЕСКАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАРЯДОВ

Резюме

В статье проанализирована зависимость между антиоксидантными и антирадикальными свойствами природных и синтетических фенолов и величинами статической поляризации, значением зарядов на атомах молекулярных и свободнорадикальных форм.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фенолы, статическая поляризация, дипольный момент, заряды на атомах, антиоксидантные свойства.

Yu. I. Hubskiy¹, O. V. Afanasenko²

INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF NAMS OF UKRAINE¹, KYIV
O. O. BOHOMOLOTS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY², KYIV

STUDY OF SUBMOLECULAR AND QUANTUM-CHEMICAL MECHANISMS OF NATURAL AND SYNTHETIC PHENOLS ANTIOXIDANT ACTION.

II. STATIC POLARIZATION AND CHARGE DISTRIBUTION

Summary

The article contains analysis of relation between antioxidant and antiradical properties of natural and synthetic phenols and the values of static polarization and atom charges for molecular, as well as free radical forms.

KEY WORDS: phenols, static polarization, dipole moment, atom charges, antioxidant properties.

Отримано 03.10.13

Адреса для листування: О. В. Афанасенко, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, б-р Шевченка, 13, Київ, 01601.

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

ВПЛИВ КАРБОНОВИХ НАНОЧАСТИНОК НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ

Карбонові наночастинки можуть становити потенційну небезпеку для екології навколишнього середовища і здоров'я населення. Метою даної роботи було дослідити, як фулерени і карбонові нанотрубки впливають на мембрани еритроцитів. Показано, що фулерени, одно- і багатостінкові нанотрубки у певних концентраціях (0,05–1,0 мг/мл) здатні знижувати стійкість еритроцитів до гемолізу. При цьому негативний ефект багатостінкових нанотрубок на мембрани клітин крові був більш вираженим, ніж такий одностінкових. Найменший токсичний вплив на мембрани еритроцитів притаманний фулеренам.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фулерени, нанотрубки, токсичність, еритроцити, кислотний гемоліз.

ВСТУП. Нанотехнології, наночастинки і наноматеріали, зважаючи на широке за масштабами використання багатьма країнами світу в різних сферах виробництва, побуті й медицині, набувають характеру нового глобального антропогенного чинника, який може становити потенційну небезпеку для екології навколишнього середовища і здоров'я населення [1, 2, 6]. На сьогодні зареєстровано близько 3000 найменувань наноматеріалів. Попередні токсикологічні дослідження показали, що, завдяки своїм унікальним фізичним і хімічним властивостям та малим розмірам, наночастинки здатні зв'язуватися з біологічними макромолекулами (ДНК, РНК, білками) з можливою модифікацією їх властивостей, вмонтовуватися у біологічні мембрани і проникати крізь фізіологічні бар'єри організму, слугувати "провідниками" в організм деяких розповсюджених токсикантів (важких металів, пестицидів тощо), відігравати роль активаторів процесів вільнорадикального окиснення, модулювати проведення регуляторних сигналів у клітинах [7, 9, 13].

Серед усіх наноматеріалів карбонові наночастинки, зокрема фулерени (C_{60}), одно- (ОСНТ) і багатостінкові (БСНТ) вуглецеві нанотрубки, зважаючи на їх специфічні фізико-хімічні властивості, мають чи не найбільший потенціал і перспективу використання. Світове щорічне виробництво карбонових наночас-

тинок сягає близько 2000 тонн. Їх застосовують у виробництві електронних приладів, сенсорів, фільтрів для води тощо. Було показано ефективність використання фулеренів і карбонових нанотрубок у медицині й біології, зокрема для цільової доставки ліків до певних тканин, для стимуляції росту клітин кісток, для лікування раку [3, 4, 10, 11].

З одного боку, постійно зростає антропогенне навантаження карбонових наночастинок на довкілля людини, а з іншого – їх унікальні фізико-хімічні властивості, що забезпечують здатність взаємодіяти з біологічними об'єктами, зумовлюють той факт, що C_{60} , ОСНТ і БСНТ потенційно становлять усе більшу можливість загрози для здоров'я людини. Токсичність карбонових наночастинок оцінено на різних типах клітин та живих організмів, і отримані результати в багатьох випадках були суперечливими – від повного заперечення будь-якого негативного впливу даних наночастинок на живі об'єкти до висновків, що карбонові наночастинки за певних умов є високоцитотоксичними [15]. На сьогодні вирішення проблеми з'ясування, які атрибути карбонових наночастинок визначають їх токсичні ефекти, а також питання ідентифікації механізмів, що лежать в основі їх токсичності, має життєво важливе значення [5, 8, 14].

Метою даної роботи було дослідити, як різні концентрації C_{60} , ОСНТ і БСНТ впливають на стійкість мембрани еритроцитів до кислотного гемолізу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження слугували еритроцити гепаринізованої крові інтактних щурів. Клітини виділяли шляхом дворазового відмивання центрифугуванням у фізіологічному розчині (рН=7,4) протягом 10 хв при 150 g. Суспензію еритроцитів готували шляхом розведення 0,01 мл еритромаси в 4 мл фізіологічного розчину, при цьому середня концентрація еритроцитів складала $\sim 10^6$ клітин/мл. Суспензію еритроцитів інкубували протягом 1 год без і за присутності ОСНТ, БСНТ та C_{60} у концентраціях 0,005, 0,01, 0,05, 0,1 і 1 мг/мл. Гемоліз еритроцитів викликали 0,003 М розчином хлоридної кислоти (HCl). Кінетику гемолізу реєстрували при кімнатній температурі на спектрофотометрі "Lambda 25" з використанням комп'ютерної програми UV WINLAD. Усі виміри проводили не пізніше 48 год з моменту забору крові. Для кількісної характеристики гемолізу будували еритрограми залежності кількості гемолізованих еритроцитів від часу впливу на них HCl [12].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що посилення вільнорадикальних реакцій перш за все призводить до порушення структурно-функціональної цілісності клітинних і субклітинних мембран. Якщо в клітинах активуються процеси ліпопероксидації, порушуються синтез і вмонтовування у мембрани фосfolіпідів, мають місце розлади процесів синтезу мембранних білків, то такі клітини різко втрачають свою життєздатність і легко руйнуються під впливом несприятливих факторів. Цитотоксичність карбонових наночастинок на клітинному рівні ми оцінювали за їх гемолітичною активністю. Відомо, що стійкість еритроцитів до

кислотного гемолізу залежить від функціонального і структурного стану мембран клітин.

Інкубування еритроцитів протягом 60 хв без добавок та за присутності різних концентрацій карбонових наночастинок свідчить про те, що показники кислотного гемолізу еритроцитів, які попередньо інкубували за наявності ОСНТ у концентраціях 0,005, 0,01, 0,05 мг/мл, не відрізнялися від контрольних значень (рис. 1). Процес гемолізу відбувався протягом 80 с, максимальна швидкість гемолізу становила 25–27 % за 10 с і спостерігалася на 40 секунд з моменту введення соляної кислоти в систему. Водночас за умов преінкубації еритроцитів з 0,1 мг/мл ОСНТ гемоліз завершувався на 70 секунд, максимальна швидкість гемолізу хоча і була приблизно такою ж, як і в попередньому випадку (26 % за 10 с), проте спостерігалася на 10 с раніше, тобто на 30 секунд від початку процесу гемолізу. Після преінкубації еритроцитів за присутності 1 мг/мл ОСНТ максимальна швидкість гемолізу зростала до 32 % за 10 с і спостерігалася на 30 секунд від моменту введення HCl у кювету. При цьому вже за перших 10 с гемолізувалося 16 % еритроцитів, а процес гемолізу завершувався на 60 секунд.

БСНТ, порівняно з ОСНТ, були дещо токсичнішими щодо їх здатності змінювати стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу (рис. 2). Так, тільки при інкубації еритроцитів з 0,005 і 0,01 мг/мл БСНТ динаміка гемолізу практично не відрізнялася від такої в контролі, а присутність у системі 0,05 мг/мл БСНТ уже виражено прискорювала кислотний гемоліз. Якщо в контролі процес гемолізу закінчувався на 80 секунд, то попередня експозиція еритроцитів

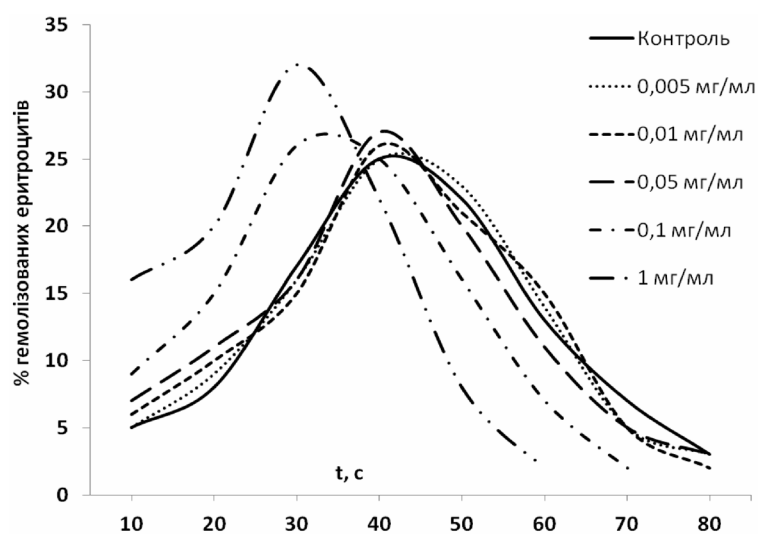


Рис. 1. Динаміка кислотного гемолізу еритроцитів, інкубованих за присутності різних концентрацій одношарових карбонових нанотрубок.

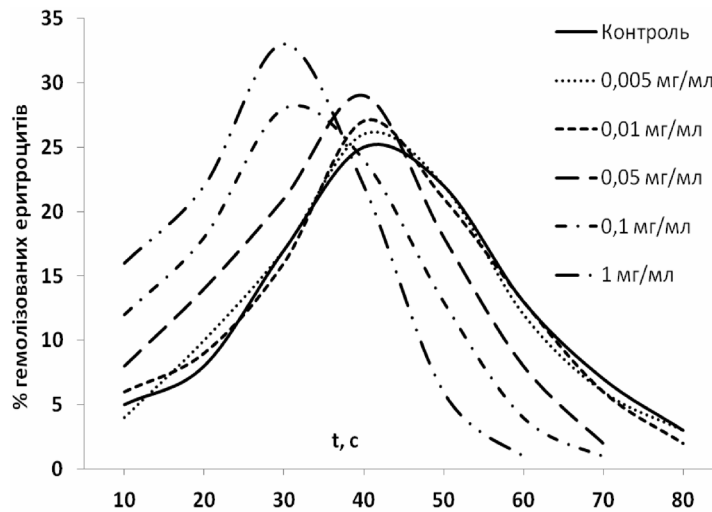


Рис. 2. Динаміка кислотного гемолізу еритроцитів, інкубованих за присутності різних концентрацій багатостінкових карбонових нанотрубок.

до 0,05 мг/мл БСНТ призвела до того, що під впливом кислоти всі еритроцити руйнувалися на 70 секунд. Максимальна швидкість гемолізу збільшувалася до 29 % за 10 с порівняно з 25 % у контролі. Ще більшою мірою еритроцити втрачали стійкість до кислотного гемолізу при їх попередній інкубації з 0,1 мг/мл БСНТ. Найбільший токсичний вплив мали багатостінкові нанотрубки в концентрації 1 мг/мл. У цьому випадку вже за перших 10 с гемолізу руйнувалося 16 % еритроцитів (для порівняння – в контролі 5 %). Максимальна швидкість гемолізу становила 33 % за 10 с і спостерігалася на 30 секунд з моменту додавання соляної кислоти до еритроцитів. Повний гемоліз клітин крові, преінкубованих з 1 мг/мл БСНТ, відбувався на 20 с раніше, ніж у контролі, тобто на 60 секунд.

Фулерени C_{60} були найменш токсичними порівняно з іншими наночастинками. Процес гемолізу прискорювався лише за умови преінкубації еритроцитів з 1 мг/мл фулеренів (рис. 3). У цьому випадку максимальна швидкість гемолізу збільшувалася до 30 % за 10 с і, що важливо, спостерігалася раніше (на 30 секунд) порівняно з контролем чи еритроцитами, які інкубувалися з меншими концентраціями наночастинок. На відміну від контролю, час повного гемолізу в системі з 1 мг/мл фулеренів закінчувався на 10 с швидше, тобто на 70 секунд, а активність гемолізу за перших 10 с зростала вдвічі.

На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що карбонові наночастинки у певних концентраціях здатні негативно впливати на мембрани клітин крові та знижувати їх

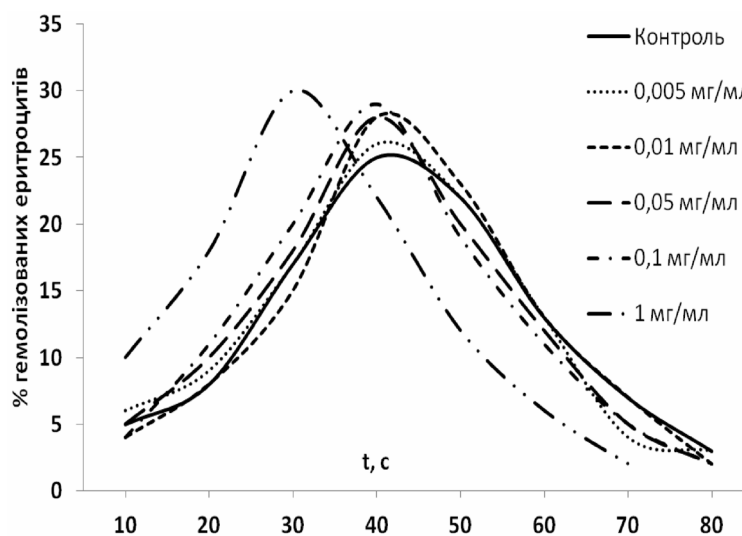


Рис. 3. Динаміка кислотного гемолізу еритроцитів, інкубованих за присутності різних концентрацій фулеренів C_{60} .

стійкість до кислотного гемолізу. При цьому цитотоксичні ефекти наночастинок залежать від їх типу і концентрації в середовищі. За ступенем цитотоксичного впливу карбонових наночастинок на еритроцити їх можна розмістити в такому порядку: багатостінкові нанотрубки > одностінкові нанотрубки > фулерени.

Щодо механізму такого негативного ефекту карбонових наночастинок на стійкість еритроцитів до гемолізу, то можна припустити, що ОСНТ, БСНТ і фулерени C_{60} , можливо, здатні взаємодіяти з мембранами клітин і спричиняти їх пошкодження. Оскільки БСНТ мають дещо більший діаметр, ніж ОСНТ і C_{60} , їх деструктивна

дія на мембрани еритроцитів більш виражена, що викликає зниження стійкості клітин крові до дії гемолітика більшою мірою.

ВИСНОВКИ. 1. Фулерени і нанотрубки (ОСНТ, БСНТ) у певних концентраціях (0,05–1,0 мг/мл) здатні негативно впливати на мембрани клітин крові та знижувати їх стійкість до кислотного гемолізу.

2. Негативний ефект багатостінкових нанотрубок на мембрани еритроцитів більш виражений, ніж такий одностінкових. Найменший токсичний вплив на мембрани еритроцитів притаманний фулеренам.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балабанов В. И. Нанотехнологии. Наука будущего / В. И. Балабанов. – М. : Эксмо, 2009. – 220 с.
2. Глушкова А. В. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему / А. В. Глушкова, А. С. Радиллов, В. Р. Рембовский // Токсикол. вестник. – 2007. – № 6. – С. 4–9.
3. Головенко М. Адресна доставка наносистемами лікарських засобів до головного мозку / М. Головенко, В. Ларіонов // Вісник фармакології та фармації. – 2008. – № 4. – С. 8–16.
4. Кац Е. А. Фуллерены, углеродные нанотрубки и нанокластеры: родословная форм и идей / Е. А. Кац. – М. : Изд-во ЛКИ, 2008. – 296 с.
5. Кузнецова С. А. Нанотранспортные системы адресной доставки нуклеиновых кислот в клетки / С. А. Кузнецова, Т. С. Орецакая // Российские нанотехнологии. – 2010. – 5, № 9–10. – Р. 40–52.
6. Михайленко В. М. Нанотехнології – перспективи застосування та ризику для здоров'я людини / В. М. Михайленко, П. М. Михайленко, Л. О. Єлейко // Онкологія. – 2008. – 10, № 4. – С. 420–426.
7. Москаленко В. Ф. Екологічні і токсикологічні аспекти біологічної безпеки нанотехнологій, наночастинок та наноматеріалів / В. Ф. Москаленко, О. П. Яворовський // Науковий вісник національного медичного університету ім. О. О. Богомольця. – 2009. – № 3. – С. 25–35.
8. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин [и др.]. // Вестник РАМН. – 2008. – № 4. – С. 50–55.
9. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2009. – № 1. – С. 3–7.
10. Прилуцька С. В. Вуглецеві нанотрубки як новий клас матеріалів для біонанотехнології / С. В. Прилуцька, О. В. Ременяк, Ю. В. Гончаренко // Біотехнологія. – 2009. – № 2. – С. 13–24.
11. Раков Э. Г. Химия и применение углеродных нанотрубок / Э. Г. Раков // Усп. химии. – 2001. – 70, № 10. – С. 934–973.
12. Терсков И. А. Метод химических (кислотных) эритрограмм / И. А. Терсков, И. И. Гительзон // Биофизика. – 1957. – 11, № 2. – С. 259–266.
13. 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.
14. Applications of Functionalized Fullerenes in Tumor Theranostics / Z. Chen, L. Ma, Y. Liu, C. Chen // Theranostics. – 2012. – 2. – Р. 238–250.
15. Review of fullerene toxicity and exposure – Appraisal of a human health risk assessment, based on open literature / K. Aschberger, H. J. Johnston, V. Stone, R. J. Aitken // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2010. – 58. – Р. 455–473.

С. А. Ястремская, Л. М. Палыця, Н. Я. Матвиив, И. М. Ястремская, М. М. Корда
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ КАРБОНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ

Резюме

Карбоновые наночастицы могут представлять потенциальную опасность для экологии окружающей среды и здоровья населения. Целью данной работы было исследовать, как фуллерены и карбоновые нанотрубки влияют на мембраны эритроцитов. Показано, что фуллерены, одно- и многостенные нанотрубки в определенных концентрациях (0,05–1,0 мг/мл) способны снижать устойчивость эритроцитов к гемолизу. При этом негативный эффект многостенных нанотрубок на мембраны клеток крови был более выражен, чем одностенных. Наименьшее токсическое воздействие на мембраны эритроцитов проявили фуллерены.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фуллерены, нанотрубки, токсичность, эритроциты, кислотный гемолиз.

S. O. Yastremska, L. M. Palytsia, N. Ya. Matviyiv, I. M. Yastremska, M. M. Korda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF CARBON NANOPARTICLES ON THE FUNCTIONAL STATE OF RED BLOOD CELL MEMBRANES

Summary

Carbon nanoparticles may be a potential danger to the environment and human health. The aim of this study was to investigate how fullerenes and carbon nanotubes affect erythrocyte membranes. It was showed that fullerenes, single walled nanotubes and multi-wall nanotubes in certain concentrations (0,05–1,0 mg/ml) were able to reduce the resistance of erythrocytes to hemolysis. The negative effect on multi-wall nanotubes on the blood cells membranes was more pronounced than that of single walled nanotubes. Fullerenes showed the least toxic effect on the membranes of erythrocytes.

KEY WORDS: fullerenes, nanotubes, toxicity, erythrocytes, acid hemolysis.

Отримано 29.10.13

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

**ВПЛИВ ТІВОРТІНУ НА ПЕРЕБІГ ВАГІТНОСТІ, СТАН ПЛОДІВ
ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ**

У результаті досліджень на вагітних мишах лінії Balb/c з антифосфоліпідним синдромом встановлено, що попередник синтезу оксиду азоту тівортін попереджує смертність експериментальних тварин, сприяє відновленню показників системи гемостазу, покращує показники фертильності, ліквідовує дисбаланс у системі прооксиданти/антиоксиданти в плаценті й матці тварин на 18-ту добу вагітності та у легенях новонароджених мишей на тлі нормалізації утворення оксиду азоту в досліджуваних структурах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тівортін, антифосфоліпідний синдром, вагітність, новонароджені.

ВСТУП. Антифосфоліпідний синдром (АФС) належить до найбільш актуальних проблем сучасної медицини, його розглядають як прояв автоімунної тромботичної васкулопатії [1, 2]. Даний синдром пов'язаний з утворенням антитіл до власних фосфоліпідів, які є універсальними компонентами клітинних і субклітинних мембран, зокрема беруть участь у формуванні цитолемі тромбоцитів, еритроцитів, ендотелію судин, клітин нервової тканини тощо [6, 7, 9].

Гіперкоагуляція у плазмовій ланці гемостазу, яка розвивається під впливом антифосфоліпідних антитіл, призводить до тромбоутворення в мікроциркуляторному руслі, розвитку плацентарної недостатності та хронічної гіпоксії плода, що супроводжується невиношуванням вагітності, затримкою структурно-функціонального розвитку легеневої тканини плода з недостатнім дозріванням системи сурфактанта і, як наслідок, виникненням респіраторного дистрес-синдрому новонародженого [3, 4]. З останнім пов'язані 35–48 % випадків перинатальних втрат, незважаючи на всі здобутки сучасного акушерства та перинатології [4].

Як відомо, одним з ендогенних чинників, що ефективно протидіють тромбоутворенню та покращують процеси мікроциркуляції, є оксид азоту (NO) [13]. NO – вазоактивна сполука, яка виробляється в організмі з амінокислоти L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази,

синтез та біодоступність в ендотелії якої порушуються при АФС [11].

Метою даної роботи було встановити можливість зменшення ускладнень вагітності та покращання стану плодів і новонароджених при експериментальному антифосфоліпідному синдромі за допомогою попередника синтезу NO L-аргініну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконували на 120 біологічних об'єктах: вагітних самках мишей лінії Balb/c, їх плодах та новонароджених мишенятах. Тварини перебували у віварії з контрольованим температурним режимом, на стандартному раціоні з вільним доступом до їжі та води. Всі маніпуляції з мишами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [12].

АФС моделювали з використанням кардіоліпіну ("Sigma", США), який вводили внутрішньом'язово 4 рази (30 мкг на одну ін'єкцію, проміжки між ін'єкціями становили 14 днів) (В. Ю. Прокопюк, 2011). Для підвищення ефективності імунної відповіді кардіоліпін вводили в ад'юванті Фрейнда. Модель АФС формувалася через 2 тижні після останньої ін'єкції кардіоліпіну. Піддослідних самок мишей поділили на три групи (по 7 особин у кожній): 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини з екс-

© К. А. Посохова, С. Р. Сампара, І. Ю. Сак, 2013.

периментальним АФС; 3-тя – тварини, яким після відтворення АФС починали вводити L-аргінін (тівортін, ТОВ “Юрія-Фарм”, 25 мг/кг, внутрішньочеревно, щоденно, протягом 10 днів до запліднення і впродовж вагітності). Через 10 діб після початку прегравідарної терапії попередником синтезу NO злучали самок всіх трьох груп із самцями. Перший день вагітності у самок підтверджували за наявністю білих вагінальних пробок та шляхом мікроскопії вагінальних мазків, забарвлених метиленовим синім [2]. Дослідження проводили на 18-ту добу вагітності й одразу після пологів. Визначали: у вагітних мишей трьох груп – активований частковий тромбластиновий час (АЧТЧ) (на 18-ту добу вагітності) на двоканальному напівавтоматичному коагулографі “HumaclotQuoHuman”; у гомогенатах плаценти та легень новонароджених – активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази [5], вміст гіпероксидів ліпідів (ГПЛ) та ТБК-активних продуктів (ТБК), МДА. Також досліджували кількість вагітних самок, їх смертність, масу плодів та новонароджених. У гомогенатах плаценти визначали концентрацію нітрит-аніона NO(2)(-) [10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень встановлено, що у вагітних мишей з АФС (на 18-ту добу гестації) відбувається скорочення АЧТЧ на 46 % порівняно з групою вагітних тварин без АФС, що свідчить про підвищену здатність до тромботворення [11]. У групі тварин, яким попередньо вводили L-тівортін, даний показник нормалізувався. У контрольній групі завагітніло 50 %

мишей, серед тварин з АФС – 42 %, а серед мишей, яким попередньо вводили L-тівортін, – 85 % особин. Смертність серед вагітних самок було відмічено лише у групі тварин з контрольною патологією (28 %).

Середня маса плодів на 18-ту добу вагітності у самок з АФС була на 15 % нижчою, ніж плодів від самок контрольної групи. Маса плодів у самок, яким вводили L-тівортін, була на 23 % вищою від показників групи тварин з АФС і достовірно не відрізнялась від контрольної групи ($p=0,01$), що свідчить про нормалізацію даного показника. Маса новонароджених у самок 3-ї групи була на 17 % більшою порівняно з контрольною патологією.

При дослідженні показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у гомогенатах легень новонароджених мишей лінії Valb/c встановлено, що у новонароджених від мишей з АФС спостерігали підвищення рівня ТБК на 73 %, каталази – на 78 % з одночасним зниженням СОД на 34 % ($p\leq 0,01$). Дані показники нормалізувалися у новонароджених, матері яких отримували прегравідарну терапію L-тівортіном (рис. 1).

У гомогенатах плаценти мишей з АФС заереєстровано підвищення рівня ГПЛ на 36 %, ТБК – на 33 % з одночасним зниженням активності СОД на 46 % порівняно з контролем ($p\leq 0,01$). Вказані зміни супроводжувались зменшенням вмісту стабільного метаболіту NO – NO(2)(-) в гомогенатах плаценти мишей з АФС (на 22 % порівняно з контрольною групою). Дані показники нормалізувалися у мишей, яким попередньо вводили L-тівортін ($p=0,01$) (рис. 2).

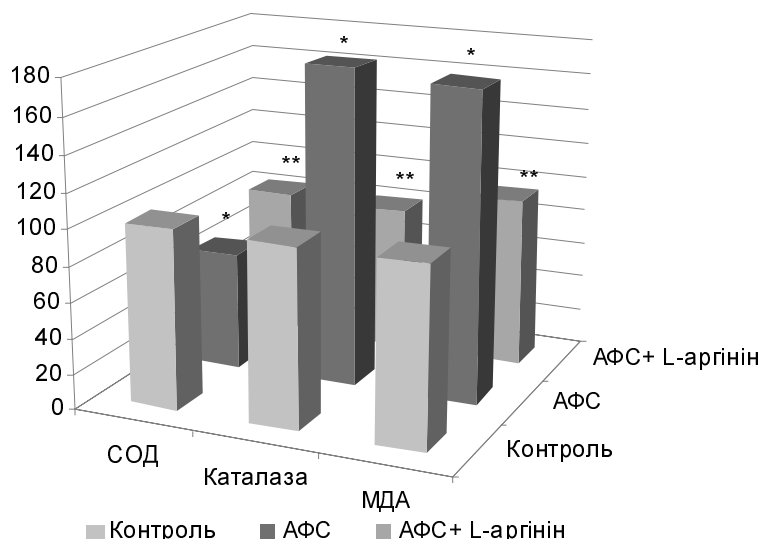


Рис. 1. Зміна показників антиоксидантної системи та пероксидного окиснення ліпідів у легенях новонароджених мишей при АФС та корекції L-аргініном (%).

Примітка. Достовірність різниці відносно: * – контролю, ** – патології.

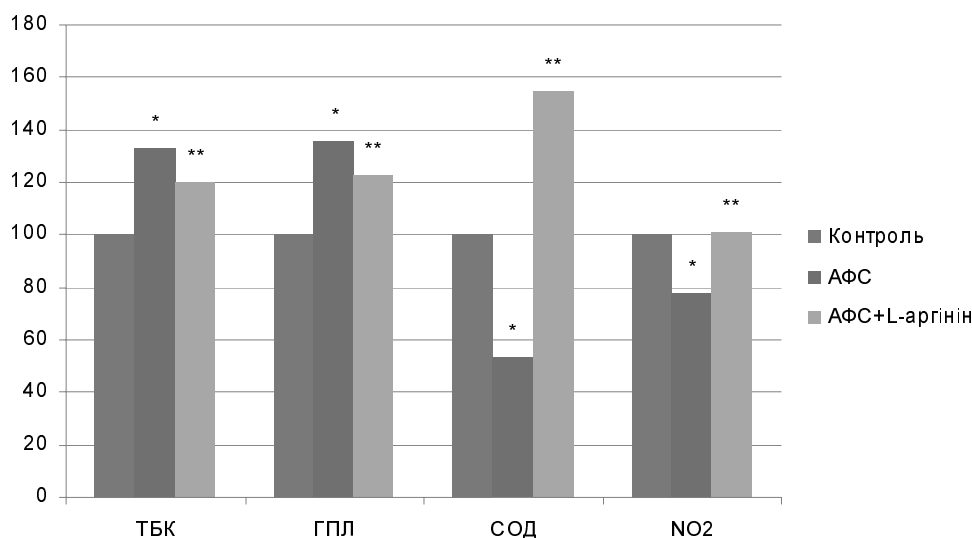


Рис. 2. Зміна показників пероксидного окиснення ліпідів, активності СОД та вмісту NO(2)(-) у гомогенатах плаценти мишей лінії Balb/c.

ВИСНОВКИ. 1. У вагітних мишей з АФС на 18-ту добу гестаційного періоду відбувається скорочення АЧТЧ. Смертність серед вагітних самок було відмічено лише у групі тварин з АФС. Середня маса плодів у самок з АФС менша від маси плодів з групи контролю.

2. У гомогенатах легень новонароджених із групи тварин з АФС відзначають активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, зростання активності каталази та зниження супероксиддисмутази порівняно з контролем.

3. У гомогенатах плаценти мишей лінії Balb/c з АФС підвищується рівень продуктів

пероксидного окиснення ліпідів, знижуються активність супероксиддисмутази та вміст стабільного метаболіту NO – NO(2)(-) порівняно з контрольною групою.

4. Показник АЧТЧ у групі тварин, яким попередньо вводили L-тівертін, нормалізується, а середня маса плодів у них є вищою, ніж у групі з контрольною патологією.

5. Проведення прегравідарної підготовки та лікування під час вагітності мишей з АФС тівертіном супроводжується нормалізацією вивчених біохімічних показників у гомогенатах плаценти та легень новонароджених мишей лінії Balb/c.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Генік С. М. Антифосфоліпідний синдром як фактор ризику тромбозів / С. М. Генік, С. І. Генік // Серце і судини. – 2009. – № 2. – С. 101–105.
2. Доклінічне вивчення лікарських засобів, призначених для лікування плацентарної дисфункції : методичні рекомендації / [Л. В. Яковлева, Г. В. Зайченко, А. Г. Ципкун та ін.]. – К., 2009. – 61 с.
3. Ижедерова И. Р. Особенности развития гипоксических повреждений внутриутробного плода и новорожденного при антифосфолипидном синдроме / И. Р. Ижедерова, Л. Н. Иванов, Т. Н. Охотина // Мед. альманах. – 2010. – № 4. – С. 105–108.
4. Кириченко Ю. А. Застосування амніоінфузії для профілактики респіраторного дистрес-синдрому при недоношеній вагітності, ускладненій передчасним виліттям навколоплідних вод / Ю. А. Кириченко //

Актуал. пробл. медицины и биологии. – 2002. – № 1. – С. 235–242.

5. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

6. Насонов Е. Л. Современные подходы к профилактике и лечению антифосфолипидного синдрома / Е. Л. Насонов // Тер. арх. – 2003. – № 5. – С. 83–88.

7. Суханова Г. А. Антифосфоліпідний синдром: клініка, діагностика та лікування / Г. А. Суханова, С. А. Васильєв, В. Л. Виноградов // Лаб. діагностика. – 2006. – № 3. – С. 64–70.

8. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба,

Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

9. Яворская В. А. Антифосфолипидный синдром / В. А. Яворская // Междунар. мед. журн. – 2003. – 9, № 4. – С. 44–47.

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

11. Clinical relevance of nitric oxide metabolites and nitrate stress in thrombotic primary antiphospholipid syndrome / P. R. Ames, J. R. Batuca, A. Ciampa [et al.] // J. Rheumatol. – 2010. – 37, № 12. – P. 2523–2530.

12. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 52 p.

13. Gross S. Nitric oxide: pathophysiological mechanism / S. Gross, M. Wolin // Annu. Rev. Physiol. – 1995. – 57. – P. 737–769.

14. Kamal A. H. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults / A. H. Kamal, A. Teffery, R. K. Pruthi // Mayo Clin Proc. – 2007. – Jul. 82 (7). – P. 864–873.

Е. А. Посохова, С. Р. Сампара, И. Ю. Сак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ТИВОРТИНА НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ, СОСТОЯНИЕ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

Резюме

В результате исследований на беременных мышах линии Balb/c с антифосфолипидным синдромом установлено, что предшественник синтеза оксида азота тивортин предупреждает смертность экспериментальных животных, способствует восстановлению показателей системы гемостаза, улучшает показатели фертильности, ликвидирует дисбаланс в системе прооксиданты/антиоксиданты в плаценте и матке животных на 18-е сутки беременности и в легких новорожденных мышей на фоне нормализации образования оксида азота в исследуемых структурах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тивортин, антифосфолипидный синдром, беременность, новорожденные.

K. A. Posokhova, S. R. Sampara, I. Y. Sak

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF TIVORTIN ON PREGNANCY, FETUSES AND NEWBORNS IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Summary

It was shown in experiments on pregnant mice line Balb/c with antiphospholipid syndrome that the precursor of nitric oxide synthesis Tivortin prevents mortality of experimental animals, renews of hemostatic system parameters, improves the fertility, eliminates imbalance in prooxidant/antioxidant system in the placenta and uterus of animals on 18th day of pregnancy and in the lungs of newborns. These changes are accompanied with the normalization of nitric oxide synthesis.

KEY WORDS: tivortin, antiphospholipid syndrome, pregnancy, newborns, nitric oxide.

Отримано 01.10.13

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

ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ХІМІЧНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ І СТУПЕНЯ В ЩУРІВ

В експерименті на щурах відтворено модель хімічного опіку стравоходу I ступеня. Змодельований стан є адекватною моделлю хімічного опіку стравоходу I ступеня, що підтверджено визначенням біохімічних показників крові тварин з моделлю хімічного опіку стравоходу. Даний підхід може бути використаний при дослідженні біохімічних та імунологічних механізмів патогенезу хімічного опіку в експерименті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хімічний опік стравоходу, біохімічні показники.

ВСТУП. Хімічні опіки стравоходу (ХОС) залишаються поширеним захворюванням, особливо в дитячому віці [6, 11]. Майже 80 % хімічних пошкоджень стравоходу спричинені випадковим прийняттям отруйних речовин дітьми віком від 1 до 8 років [6, 7]. Це пов'язано з виробництвом нових луговмісних засобів очищення в яскравих пляшечках та недбалим зберіганням дорослими хімічних речовин у побуті.

Глибина опіку стравоходу залежить від концентрації хімічної речовини, її природи, кількості та часу контакту зі слизовою оболонкою. Провідне місце в патогенезі опіків стравоходу належить гіпоксії тканин [10, 13].

До ранніх наслідків ХОС належать набряк гортані, токсичний шок, кровотеча, некроз стінки стравоходу або шлунка, медіастеніт і формування рубцевого стенозу [10, 13, 18]. Пізніми наслідками ХОС є гастроєзофагеальний рефлюкс (ГЕР) [9, 16], порушення моторики [2], кандидоз [3], малігнізація у віддалений період [19] тощо.

Отже, опікова хвороба є важливою проблемою, яка потребує негайного вирішення.

На сьогодні існує ряд експериментальних моделей ХОС [12, 14, 15, 17], але вони є недостатньо коректними для проведення досліджень, оскільки при їх створенні застосовують хімічні речовини, які самі по собі впливають на ряд біохімічних показників, зумовлюючи похибку в результатах. Крім того, для наших

© Я. Б. Раєцька, Т. В. Іщук, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко, 2013.

досліджень принциповим було розробити модель опіку, яка б відповідала тій, що характерна для дітей віком від 1 до 8 років. Традиційно при створенні моделі опіку стравоходу використовують статевозрілих щурів, які за віком, як правило, відповідають дорослій людині [4].

Для відтворення ХОС було обрано розчин 10 % NaOH, оскільки більшість отруйних речовин, які викликають хімічні пошкодження стравоходу в дітей, є луговмісними (елементи живлення, мийні засоби, речовини для очистки).

Метою даної роботи було створити адекватну експериментальну модель ХОС I ступеня, яку можна застосовувати для широкого спектра досліджень особливостей опікового патогенезу, перш за все у дітей віком від 1 до 8 років.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У досліджах використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (одномісячних) масою 90–110 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У тварин експериментально моделювали опік стравоходу розчином 10 % NaOH: у стравохід вводили зонд із запаяним торцем і отвором на відстані 2 мм від нього. Зонд вводили на глибину 4,0 см від верхніх різців щура. Після цього через зонд повільно вводили 0,1 мл розчину 10 % NaOH. Контрольним щурам одноразово перорально вводили 0,1 мл води для ін'єкцій.

Стан слизової оболонки стравоходу досліджували на 1-шу, 3-тю і 7-му доби після вве-

дення розчину лугу. Вибір термінів дослідження зумовлений розвитком патоморфологічних процесів при хімічних опіках стравоходу [1]. Наприкінці експерименту тварин умертвляли методом дислокації шийних хребців. Отриманий стравохід розрізали поздовжньо, промивали холодним фізіологічним розчином. Для морфологічного дослідження використовували шматочки стравоходу довжиною близько 1,5 см. Їх фіксували в розчині 12 % формаліну і заливали в парафін. Депарафіновані зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксилін-еозином за ван Гізон. Дослідження стану слизової оболонки стравоходу проводили візуальним методом. Макроскопічно за допомогою лупи при яскравому освітленні визначали кількість і площу деструкцій.

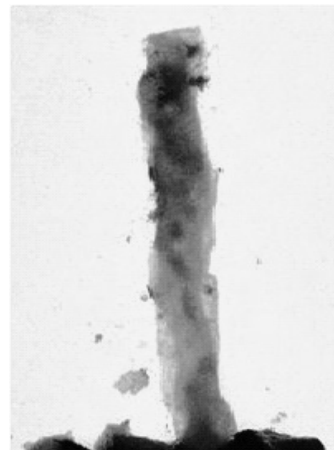
Біохімічні показники визначали в сироватці крові, яку отримували шляхом центрифугування крові при 2000 г 40 хв. У нашому дослідженні використовували біохімічний аналізатор Humalyser 3000. Вміст загального білка визначали із застосуванням набору для колориметричного фотометричного визначення концентрації загального білка біуретовим методом, рівень альбуміну – набору для колориметричного визначення концентрації альбуміну з використанням бромкрезолового зеленого, рівень іонів K^+ – набору для фотометричного турбідиметричного визначення концентрації іонів K^+ , активність аланінамінотрансферази (АлАТ) – набору для колориметричного визначення АлАТ, активність аспаратамінотрансферази (АсАТ) – набору для колориметричного визначення АсАТ.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Excel. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками застосовували критерій Стьюдента (t). При цьому достовірною вважали різницю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що луги пошкоджують слиз і білкову субстанцію клітин, омилюють жири, утворюючи лужні альбуміни, розпушують і розм'якшують тканини, які стають більш доступними для проникнення речовин у глибші шари стравоходу. Луги залишають глибокі опіки в стравоході, тоді як шлунок страждає менше, ніж при отруєнні кислотами, у зв'язку з частковою нейтралізацією лугу шлунковим соком [8].

Було показано, що 10 % NaOH проникає в тканини і призводить до значних уражень слизової оболонки стравоходу (рис. 1). Вияв-

лено набряк, гіперемію, пошкодження поверхневих шарів епітелію, крововиливи в підслизовий шар.



А



Б

Рис. 1. Макрофотографія слизової оболонки стравоходу щурів при експериментальному моделюванні хімічного опіку стравоходу 10 % NaOH (А – 1-ша доба, Б – 7-ма доба).

Мікрофотографія слизової оболонки стравоходу демонструє ураження тканин стравоходу щурів за умов експериментального моделювання ХОС 10 % NaOH: десквамативний езофагіт, гіперемію, набряк, підвищену ранимість слизової оболонки (рис. 2). Порівняння виявлених уражень та результатів досліджень стану слизової оболонки стравоходу дітей з опіком I ступеня показало відповідність експериментальної моделі (С. Д. Терновский, 1963; Э. Н. Ванцян, Р. А. Тошакон, 1991).

Як відомо, опік стравоходу супроводжується тривалими порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів і систем [8]. Тому одним з основних діагностичних критеріїв тяжкості ХОС є визначення біохімічних показників. Було обрано

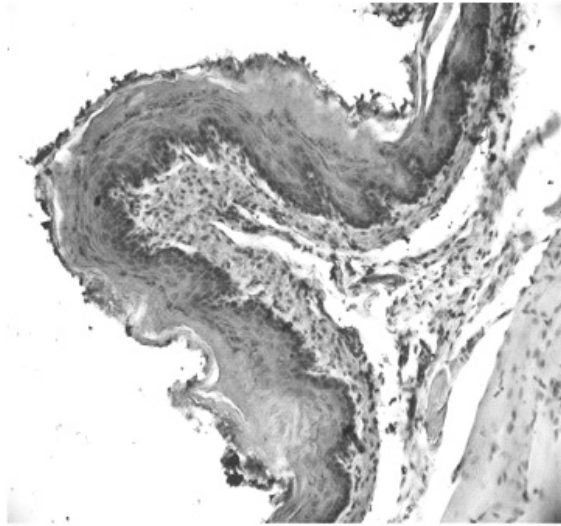


Рис. 2. Мікрофотографія слизової оболонки стравоходу щурів за умов експериментального моделювання хімічного опіку стравоходу 10 % NaOH.

такі показники, як рівні загального білка, альбуміну, сечовини, іонів калію, креатиніну, АсАТ, АлАТ, що є головними біохімічними показниками сироватки крові, за якими можна охарактеризувати функціональний стан організму та оцінити ступінь метаболічних порушень за умов досліджуваної патології.

Було визначено концентрацію загального білка в сироватці крові щурів з хімічним опіком стравоходу 10 % NaOH, у ході дослідження отримано дані, які наведено в таблиці.

Встановлено, що експериментальний опік стравоходу 10 % NaOH призводить до значних змін вмісту загального білка. На 1-шу, 3-тю і 7-му доби спостережень він поступово знижувався – в 1,2, 1,5 та 1,6 раза відповідно порівняно з контрольними значеннями.

Показано, що на 3-тю і 7-му доби поступово знижувався вміст альбуміну – в 1,7 і 2,1 раза відповідно порівняно з контрольними значеннями. Отже, має місце гіпопротеїнемія, яка виникає переважно за рахунок зменшення кількості альбумінів.

У клінічній лабораторній діагностиці велику роль відіграє визначення вмісту кінцевих продуктів обміну білка, які розглядають як систему залишкового азоту. Майже половина компонентів цієї системи припадає на сечовину. В клініці показник рівня сечовини має вирішальне значення для діагностики захворювань нирок. За умов хімічного опіку 10 % NaOH ми спостерігали підвищення на 1-шу, 3-тю та 7-му доби рівня сечовини в 1,3, 1,9 та 2,1 раза відповідно, що може свідчити про розвиток важкого патологічного процесу.

Було визначено рівень креатиніну в сироватці крові піддослідних тварин. У ході дослідження отримано дані (табл.), які свідчать про те, що експериментальний опік стравоходу в період 1-ї, 3-ї і 7-ї діб призводив до значних змін рівня креатиніну, який зазвичай використовується як маркер токсичного впливу на організм та може вказувати на ниркову недостатність. Експериментальний опік стравоходу зумовлював підвищення рівня креатиніну в сироватці крові в період усього терміну дослідження, на 1-шу, 3-тю і 7-му доби в 1,5, 2,1 та 2,3 раза, порівняно з контрольними значеннями, що відповідає літературним даним. Отже, опікова хвороба характеризується гострою інтоксикацією, порушенням в організмі водно-сольового обміну, що часто призводить до ураження нирок [1, 5, 8].

Дослідження рівня іонів K^+ в сироватці крові щурів з хімічним опіком стравоходу дозволило встановити його зростання в 1,4, 2,4, 2,9 раза у всі терміни.

Вивчення динаміки активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів при моделюванні опіку стравоходу показало, що активність АлАТ підвищувалась у 2,5, 2 і 1,5 раза, активність АсАТ – у 1,5, 1,3, 1,2 раза відповідно на 1-шу, 3-тю, 7-му доби експерименту.

Встановлені зміни основних печінкових трансфераз за умов моделювання хімічного опіку вказують на суттєві порушення функціо-

Таблиця – Біохімічні параметри сироватки крові щурів за умов експериментального моделювання хімічного опіку стравоходу 10 % NaOH ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Контроль	ХОС, 10 % NaOH		
		1-ша доба	3-тя доба	7- а доба
Загальний білок, г/л	65,01±0,1	51,02±2,1*	44,8±2,1*	41,2±1,0*
Альбу ін, г/л	37,5±0,12	21,9±1,6*	20,9±2,4*	18,3±1,3*
Сечовина, оль/л	8,8±0,2	12,2±1,23	18,3±1,01*	20,7±1,3*
Креатинін, к оль/л	88,0±0,1	130,8±4,2*	140,6±5,02*	178,8±3,98*
K^+ , оль/л	5,0±0,1	5,7±0,1*	11,8±1,01*	14,6±0,9*
АлАТ, од./л	27,7	68,31*	70,99*	78,12*
АсАТ, од./л	55,5	61,33*	62,12*	67,11*

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

нування різних органів, що може бути підтвердженням формування стійкого стану опіку стравоходу I ступеня в піддослідних тварин.

ВИСНОВКИ. За допомогою 10 % NaOH було відтворено модель ХОС I ступеня, яка супроводжувалась відповідними морфологічними ураженнями слизової оболонки стра-

воходу та змінами основних біохімічних показників. Отримані результати дозволяють стверджувати, що змодельований стан є адекватною моделлю хімічного опіку стравоходу I ступеня в дітей віком від 1 до 8 років. Даний підхід може бути використаний у дослідженні біохімічних та імунологічних механізмів патогенезу хімічного опіку стравоходу I ступеня на тваринах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ванцян Э. Н. Лечение ожогов и рубцовых сужений пищевода / Э. Н. Ванцян, Р. А. Тоццаков. – М., 1971. – 260 с.
2. Волков С. В. Химические ожоги пищевода и желудка / С. В. Волков, А. С. Ермолаев, Е. А. Лужников. – М. : Медпрактика-М, 2005. – 119 с.
3. Выбор метода эзофагопластики при доброкачественных заболеваниях пищевода / А. Ф. Черноусов, В. А. Адрианов, С. А. Домрачев [и др.] // *Анналы хирургии*. – 1998. – № 1. – С. 48–50.
4. Гелашвили О. А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы / О. А. Гелашвили // *Саратов. науч.-мед. журн.* – 2008. – **22**, № 4. – С. 125–126.
5. Гонський Я. І. Біохімія людини / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 736 с.
6. Доржиев Б. Д. Экспериментальная модель химического ожога пищевода и желудка современными агрессивными химическими агентами / Б. Д. Доржиев, М. Л. Тыхенова, К. Д. Пунсуков // *Бюлетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2012. – № 4 (86). – С. 46.
7. Ивашкин В. Т. Болезни пищевода / В. Т. Ивашкин, А. С. Трухманов. – М. : Триада-Х, 2000. – 179 с.
8. Лужников Е. А. Клиническая токсикология : учебник / Е. А. Лужников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1994. – 255 с.
9. Салахов Э. С. Лечение химических ожогов пищевода у детей : дисс. ... канд. мед. наук / Э. С. Салахов. – СПб., 2007. – 21 с.
10. Сапожникова М. А. Химические ожоги пищевода и их отдаленные исходы при различных методах лечения : дисс. ... доктора мед. наук / М. А. Сапожникова. – М., 1978. – 31 с.
11. Эволюция взглядов на хирургическое лечение детей с химическими ожогами пищевода / А. Ю. Разумовский, Р. В. Обыденнова, Н. В. Куликова [и др.] // *Росс. вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. — 2011. – № 1. – С.51–59.
12. Bustamantel T. F. The use of mitomycin C in caustic esophagitis in rats / T. F. Bustamantel // *Acta Cirurgica Brasileira*. – 2013. – **28** (2). – P. 136–141.
13. Effects of time of contact and concentration of caustic agent on the injuries / G. M. Mattos, D. D. Lopes, R. C. Mamede [et al.] // *Laryngoscope*. – 2006. – **116**, № 3. – P. 456–460.
14. Ekingen G. Effect of the prostacyclin derivate iloprost in experimental caustic esophageal burn / G. Ekingen // *Pediatr Surg Int*. – 2005. – **21**. – P. 441–444.
15. Guven A. The efficacy of ozone therapy in experimental caustic esophageal burn / A. Guven // *Journal of Pediatric Surgery*. – **43**, Issue 9, September 2008. – P. 1679–1684.
16. Mutaf O. The treatment of corrosive esophageal strictures by long-term stenting / O. Mutaf // *J. Pediatr. Surg.* – 1996. – **31**, № 5. – P. 681–685.
17. Ocakc A. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NaOH-induced esophageal burns in rats International / A. Ocakc // *Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. – **70**, Issue 10, October 2006. – P. 1731–1739.
18. Pediatric Thoracic Surgery / [Dakshesh H. Parikh, David C. G. Crabbe, Alexander W. Auld et al.]. – Rothenberg : London Limited, 2009. – 601 p.
19. Ziegler M. M. Operative pediatric surgery / M. M. Ziegler, R. G. Azizkhan, T. R. Weber. – New York : McGraw-Hill, 2003. P. 341–345.

Я. Б. Раецкая, Т. В. Ищук, А. Н. Савчук, Л. И. Остапченко
УНЦ "ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ" КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА I СТЕПЕНИ У КРЫС

Резюме

В эксперименте на крысах воспроизведена модель химического ожога пищевода I степени. Смоделированное состояние является адекватной моделью химического ожога пищевода I степени, что подтверждено определением биохимических показателей крови животных с моделью химического ожога пищевода. Данный подход может быть использован при исследовании биохимических и иммунологических механизмов патогенеза химического ожога в эксперименте.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: химический ожог пищевода, биохимические показатели.

Ya. B. Rayetska, T. V. Ishchuk, O. M. Savchuk, L. I. Ostapchenko.
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY,
ESC "THE INSTITUTE OF BIOLOGY"

EXPERIMENTAL MODELING OF FIRST-DEGREE CHEMICALLY-INDUCED ESOPHAGEAL BURNS IN RATS

Summary

We reconstituted the first-degree chemical burns of esophagus in rats in the study. The model was shown to be an optimal for first-degree chemical esophageal burns research. It was confirmed by determination of biochemical blood parameters of experimental animals under chemically-induced esophageal burns. This approach can be used to study biochemical and immunological mechanisms of pathogenesis of first-degree chemically-induced esophageal burns.

KEY WORDS: chemical esophageal burns, biochemical parameters.

Отримано 28.10.13

Адреса для листування: Я. Б. Раецька, пр-т Глушкова 2/12, ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, 03127, Україна, e-mail: raetska@ya.ru.

ВПЛИВ КОМБІНОВАНИХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З КОРЕНЯ ЕХІНАЦЕЇ, АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЦИНКУ АСПАРАГІНАТУ НА ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ В ЩУРІВ ІЗ ГОСТРИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Для вивчення впливу комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагінату на показники ендogenousної інтоксикації в щурів із гострим пародонтитом на тлі мерказоліліндукованого гіпотиреозу було визначено маркери ендogenousної інтоксикації, а також досліджено активність лізосомальних протеаз. Гіпотиреоз у тварин викликали введенням мерказолілу в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби. Запальний процес у пародонті моделювали шляхом однократного направлено впливу коливаннями ультразвукової частоти 50 кГц при експозиції впливу 60 с. Запалення в щурів із гострою травмою ясен на тлі гіпотиреозу призводило до пригнічення активності лізосомальних ферментів – катепсину D і кислотої фосфатази у гомогенаті ясен та підвищення вмісту маркерів ендogenousної інтоксикації – молекул середньої маси й еритроцитарного індексу інтоксикації. Введення комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагінату позитивно впливало на стан лізосомальних гідролаз і сприяло нормалізації показників ендogenousної інтоксикації в уражених тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий пародонтит, гіпотиреоз, ендogenousна інтоксикація, корекція.

ВСТУП. На сьогодні порушення функціонального стану щитоподібної залози набули значного розповсюдження. Як свідчать літературні дані, тканини організму, в тому числі пародонт, часто уражаються при дисфункції щитоподібної залози, а ступінь і вираження патологічного процесу залежать від тяжкості та тривалості гіпотиреозу [5, 15, 17, 19, 20]. У зв'язку з тим, що роль гормонів щитоподібної залози в реалізації функціональної активності клітин імунної системи вивчено недостатньо, актуальним стало дослідження особливостей перебігу запалення на фоні гіпотиреозу [11, 18]. Запальний процес, що триває на тлі гіпотиреозу як системна відповідь організму, має певні особливості формування і перебігу. Ці зміни викликані зниженням функціональної активності клітин, що беруть участь у формуванні запальної відповіді [9, 11, 14, 16–19].

Сучасні напрямки лікування пародонтиту пов'язані з труднощами в підборі оптимального методу лікування, оскільки доводиться вибирати між ефективністю і безпекою. У цих випадках особливу увагу приділяють фітопрепаратам. На сьогодні на світовому ринку фарм-

препаратів зростає кількість засобів рослинного походження, і, за прогнозами Всесвітньої організації охорони здоров'я, протягом найближчих десяти років частка фітопрепаратів у загальному обсязі лікарських засобів складе понад 60 % [1]. Серед сучасних імуномодельючих препаратів велику кількість становлять синтетичні засоби, тоді як дотепер продовжується пошук рослинних препаратів, які б мали м'яку природну дію на організм та оптимальний лікувальний ефект за умов патологічного стану. Враховуючи те, що, за літературними даними, ехінацея проявляє імуномодельючі властивості шляхом стимуляції клітин імунної системи, аскорбінова кислота і цинк сприяють активації нейтрофілів і Т-лімфоцитів, у нашому дослідженні як коригувальні засоби ми використали комбіновані таблетки на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагінату під робочою назвою "Ехцивіт".

З огляду на те, що стан і динаміка ендogenousної інтоксикації залежать від інтенсивності катаболічних процесів в ураженій тканині й швидкості елімінації утворених продуктів [3, 13], метою даної роботи було дослідити вплив

комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти і цинку аспарагіату на стан ендogenous інтоксикації та активність лізосомальних ферментів в організмі тварин із гострим експериментальним пародонтитом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконували на білих безпородних щурах-самцях масою 180–200 г, отриманих з віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, згідно з вимогами Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин [6]. Тварини перебували на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Гіпотиреоз моделювали, щоденно вводячи $per os$ за допомогою спеціального зонда фармакопейний тиреостатик мерказоліл (“Акрихин”, Росія) у дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби [15]. Контролювали рівень тироксину, трийодтироніну і тиреотропного гормону, а також масу щурів і їх рухову активність. Групу порівняння становили тварини, яким мерказоліл не вводили. Вплив гіпотиреозу на перебіг запального процесу при пародонтиті вивчали на моделі запалення, спричиненого гострою травмою м'яких тканин ясен [7]. Тваринам під тіопенталовим наркозом (30 мг/кг) з губної сторони до тканин пародонта нижнього різця підводили робочу головку ультразвукового генератора – випромінювач від ультразвукового скейлера ART (Великобританія), і впродовж 60 с здійснювали однократний направлений вплив коливаннями ультразвукової частоти при таких параметрах впливу, як: частота коливань – 50 кГц, потужність випромінювання – 1,2 Вт·см² при експозиції впливу 60 с. Операцію виконували на 14-ту добу після першого введення мерказолілу. Через 1 і 8 днів після неї щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Групами порівняння були тварини з експериментальним гіпотиреозом і щури з гострою механічною травмою м'яких тканин ясен. Контролем слугував матеріал від інтактних тварин.

Щодо комбінованих таблеток “Ехцивіт”, які ми застосовували 1 раз на добу, умовно-терапевтичну дозу для лабораторних тварин визначали за сумарним вмістом активних речовин (екстракту з кореня ехінацеї – 100 мг/таблетку, кислоти аскорбінової – 300 мг/таблетку і цинку аспарагіату – 25 мг/таблетку, всього – 425 мг/таблетку), яка становить для щурів 37 мг/кг, але якщо визначати цю дозу за вмістом екстракту з кореня ехінацеї, то вона складає 10 мг/кг [9]. Досліджувані зразки сус-

пендували з дистильованою водою і вводили протягом 2-х тижнів після першого введення мерказолілу та впродовж наступних 1-ї і 8-ми днів моделювання гострого пародонтиту внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда з розрахунку 1 мл/кг.

Ступінь вираження ендотоксемії оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові (МСМ₁ – вміст молекул середньої маси, визначений при довжині хвилі 254 нм, а МСМ₂ – при довжині хвилі 280 нм) [1], а за вираженням пошкодження еритроцитарної мембрани розраховували еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) [4].

Для того, щоб приготувати гомогенат, зразки тканини ясен розтирали за допомогою гомогенізатора при 4 °С і суспендували в 9 об'ємах 0,25 М розчину цукрози з 0,001 М етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА), рН 7,4. Сполучнотканинні елементи, які залишились у середовищі, видаляли шляхом центрифугування (1000 об./хв протягом 3 хв) при охолодженні. Надосадову частину гомогенату ясен застосовували для визначення. Активність катепсину D у гомогенаті тканини ясен визначали за методом Дингла у модифікації [20] по гідролізу гемоглобіну при рН 3,2. Інкубацію проводили при 37 °С протягом 60 хв, часто струшуючи. Реакцію зупиняли, додаючи 5 % ТХУ, потім проби центрифугували впродовж 15 хв. До 1 мл супернатанту додавали 0,5 N NaOH для нейтралізації ТХУ і 0,5 мл реактиву Фоліна. Активність ферменту виражали в мкМ тирозину/(мг білка·год). Концентрацію білка визначали за методом Лоурі.

Активність кислої фосфатази (КФ) визначали за методом Bodansky [10] з використанням набору реагентів фірми “Hospitex Diagnostix”. Кисла фосфатаза каталізує гідроліз 1-нафтилфосфату до 1-нафтолу і фосфату. 1-Нафтол дає в реакції з 2-амінотолуолом комплексну сполуку – діазобарвник. Зміна забарвлення при довжині хвилі $\lambda=405$ нм пропорційна активності КФ у зразку. Результати виражали у мкМ/(мг білка·год).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для того, щоб оцінити функціональний стан щитоподібної залози при моделюванні гіпотиреозу, було визначено концентрацію тиреоїдних гормонів у крові. Рівень тироксину в здорових щурів склав (18,39±0,61) пмоль/л, а у тварин, яким протягом 14-ти днів вводили мерказоліл, був нижчим у 2,2 рази і становив (8,51±0,35) пмоль/л. Вміст T₃ в інтактних щурів становив (6,27±0,23) пмоль/л, а через 14 днів з моменту початку експерименту був в 1,9 рази

меншим від показників у інтактних тварин і склав $(3,2 \pm 0,086)$ пмоль/л. Показник ТТГ в нормі становив $(1,77 \pm 0,06)$ мМО/л, після введення мерказолілу – $(3,2 \pm 0,09)$ мМО/л. Це вказує на розвиток у тварин вираженого гіпотиреозу при введенні мерказолілу в дозі 25 мг/кг.

Вважають, що головним токсичним субстратом, який відповідає за виникнення стадії автоагресії ендотоксикозу, можуть стати продукти клітинної дезорганізації, неповного розпаду і неферментного перетворення білків крові й тканин. Вони представлені в основному класом середньомолекулярних продуктів протеолізу й оксидативних процесів або молекул середньої маси. Зростання рівня МСМ у крові зумовлене порушенням їх елімінації з організму, посиленням утворення в тканинах або поєднанням обох механізмів. Середньомолекулярні олігопептиди, будучи продуктами розпаду білків, діють як вторинні ендотоксини, спричиняючи розлад різних фізіологічних процесів [1].

Як свідчать результати наших досліджень (табл. 1), у щурів зі змодельованою травмою пародонта на тлі гіпотиреозу спостерігали зростання вмісту МСМ в організмі тварин, що вказує на посилення катаболічних процесів. Застосування ехцивіту мало сприятливий вплив на ці показники. Зокрема, концентрація МСМ₁ на 1-шу добу від моделювання гострого пародонтиту тваринам зі зниженою функцією щитоподібної залози була меншою в 1,3 раза, ніж у щурів, яким корекцію не проводили, а до 8-ї доби цей показник знизився у 2,1 раза, наблизившись до показника здорових тварин. Аналогічну тенденцію зафіксовано і щодо концентрації МСМ₂ – зниження, відповідно, у 1,7 та 2,6 раза.

Позитивну динаміку відмічено при визначенні еритроцитарного індексу інтоксикації. За результатами попередніх досліджень, ЕІІ в

еутиреоїдних щурів зріс в 1,5 раза з поступовим зниженням до 8-ї доби, а гіпотиреоїдний стан спричинив більш суттєве підвищення ЕІІ після нанесення травми ясен. Застосування ехцивіту, що супроводжувалось нормалізацією інтенсивності процесів ліпопероксидації та імунного статусу, позначилось і на ступені проникності еритроцитарних мембран. Зокрема, на 1-шу добу після нанесення травми тваринам з гіпотиреозом і корекції ехцивітом ЕІІ був нижчим від показника щурів, яким корекцію не проводили, на 23 %, а на 8-му – на 41 %.

Таким чином, зниження продукування тиреоїдних гормонів призводило до посилення ендогенної інтоксикації внаслідок надмірного розпаду окисномодифікованих білків, а також порушення їх метаболізму, зокрема за участі лізосомальних гідролаз, і виведення цих продуктів, а застосування коригувального чинника ехцивіту, нормалізуючи ці процеси, сприяло зменшенню накопичення продуктів, що викликають ендогенну інтоксикацію.

Ми вивчали також активність лізосомальних ферментів – катепсину D і кислій фосфатази у гомогенаті ясен, щоб перевірити одне з цих припущень (табл. 2). Одержані результати вказують на те, що після нанесення травми тваринам з гіпотиреозом активність катепсину D у гомогенаті ясен зростала. Застосування ехцивіту сприяло нормалізації цих процесів. Зокрема, через добу від моменту нанесення травми щурам з гіпотиреозом, яким проводили корекцію ехцивітом, активність катепсину D на 8-му добу була нижчою від аналогічного показника тварин без корекції на 13 %, хоча на 1-шу добу показник був дещо вищим від аналогічного в попередній групі.

Аналогічні зміни відмічено в динаміці кислій фосфатази. У щурів з гіпотиреозом нанесення травми супроводжувалось значно меншими змінами активності ферменту, ніж в еутиреоїдних. Застосування ехцивіту супрово-

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації в щурів із гострим пародонтитом на тлі мерказоліліндукованого гіпотиреозу та за корекції ехцивітом ($M \pm m$)

Показник	Група тварин				
	інтактні тварини (n=10)	гострий пародонтит+гіпотиреоз		гострий пародонтит+гіпотиреоз+корекція	
		1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)	1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)
МСМ ₁ , ум. од.	351,3±14,6	832,2±17,7 p ₁ <0,001	827,3±11,1 p ₁ <0,001	648,8±17,0 p<0,001 p ₁ <0,001	412,3±16,1 p<0,02 p ₁ <0,001
МСМ ₂ , ум. од.	204,3±11,2	641,5±12,6 p ₁ <0,02	668,3±5,8 p ₁ <0,001	391,5±15,4 p<0,001 p ₁ <0,001	258,3±4,53 p<0,001 p ₁ <0,001
ЕІІ, %	29,9±1,2	54,1±1,3 p ₁ <0,001	51,9±1,4 p ₁ <0,02	44,1±1,33 p<0,001 p ₁ <0,001	36,9±1,49 p<0,01 p ₁ <0,001

Таблиця 2 – Показники активності лізосомальних ферментів у гомогенаті ясен щурів з гострим пародонтитом на тлі мерказоліндукованого гіпотиреозу та за корекції ехцивітом ($M \pm m$)

Показник	Група тварин				
	інтактні тварини (n=10)	гострий пародонтит+ гіпотиреоз		гострий пародонтит+ гіпотиреоз+корекція	
		1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)	1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)
Катепсин D, мкМ/(мг білка·год)	0,209±0,015	0,287±0,011 $p_1 < 0,01$	0,264±0,014 $p_1 < 0,02$	0,295±0,008 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	0,234±0,006 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
Кисла фосфатаза, мкМ/(мг білка·год)	27,03±1,63	32,61±1,62 $p_1 < 0,05$	30,05±1,60 $p_1 > 0,05$	30,91±1,10 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	29,45±1,32 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$

джувалось незначним зниженням активності ферменту, хоча показники і не відрізнялись від таких у щурів без корекції, а також інтактних тварин.

ВИСНОВОК. Зниження рівня тиреоїдних гормонів супроводжується пригніченням лізо-

сомального апарату клітин, впливає на синтез і деградацію лізосомальних ферментів, що може спричинити накопичення молекул середньої маси внаслідок порушення їх подальшої деградації та виведення. Корекція ехцивітом нормалізує лізосомальний апарат клітин, що впливає на ступінь ендогенної інтоксикації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адекенов С. М. Современное состояние и перспективы производства фитопрепаратов в Казахстане / С. М. Адекенов // Российские аптеки. – 2003. – № 5. – С. 61–64.
2. Габриэлян Н. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липатова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
3. Леонтьева Е. А. Влияние лизосомальных соединений на функциональную активность лизосомального аппарата клетки : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук / Е. Ф. Леонтьева. – СПб., 2003. – 26 с.
4. Метод определения эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
5. Москвина Т. С. Эффективность лечения пародонтита у больных с нарушением функции щитовидной железы / Т. С. Москвина // Стоматология. – 2001. – № 1. – С. 47–50.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Пат. на корисну модель 65771. Спосіб моделювання пародонтиту / Мачоган В. Р., Авдеев О. В. – 2011. – Бюл. № 23.
8. Подунай Ю. А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания среднемолекуляр-

- ных пептидов в мышцах морского ерша / Ю. А. Подунай, И. Н. Залевская, И. И. Руднева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия". – 2009. – **22** (61), № 4. – С. 128–134.
9. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513–1516.
10. Bodansky O., Acid phosphatase / O. Bodansky // Adv. Clin. Chem. – 1972. – **15**. – P. 143–147.
11. Cellular metabolism as a basis for immune privilege / M. K. Newell, E. Villalobos-Menuety, S. C. Schweitzer [et al.] // J. Immune Based Ther Vaccines. – 2006. – № 4. – P. 1.
12. Hypothyroidism attenuates protein tyrosine nitration, oxidative stress and renal damage induced by ischemia and reperfusion: effect unrelated to antioxidant enzymesactivities / V. M. Tenorio-Velazquez, D. Barrera, M. Franco [et al.] // BMC Nephrol. – 2005. – № 6. – P. 12.
13. Influence of membrane physical state on the lysosomal proton permeability / G. J. Zhang, H. W. Liu, L. Yang [et al.] // J. Membr. Biol. – 2000. – **175** (1). – P. 53–62.
14. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine, contributes to the pathogenesis of non-thyroidal illness mainly via the central part of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis / A. Boelen, J. Kwakkel, M. Platvoet-ter Schiphorst [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2004. – **151**, № 4. – P. 497–502.

15. Isman C. A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C. A. Isman, B. C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – **177**, № 3. – P. 471–476.
16. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidism / K. Asayama, K. Dobashi, H. Hayashibe [et al.] // Endocrinology. – 1987. – **121**, № 2. – P. 112–118.
17. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes / E. Mezosi, J. Szabo, E. V. Nagy [et al.] // J. Endocrinol. – 2005. – **185**, № 1. – P. 121–129.
18. Rao M. K. Extracellular metabolism of thyroid hormones by stimulated granulocytes / M. K. Rao, A. L. Sagone // Infect Immun. – 1984. – **43**, № 3. – P. 846–849.
19. Thyroid hormone regulation of cell migration and oxidative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy / F. Marino, L. Guasti, M. Cosentino [et al.] // Life Sci. – 2006. – **78**, №10. – P. 1071–1077.
20. Wiederanders B. Accumulation of inactive cathepsin D in old rats / B. Wiederanders, B. Oelke // Mech. Ageing Dev. – 1982. – **24**, № 3. – P. 265–271.

Т. И. Дзецюх, И. Н. Клищ

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЯ ЭХИНАЦЕИ, АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЦИНКА АСПАРАГИНАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС С ОСТРЫМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Резюме

С целью изучения влияния комбинированных таблеток на основе экстракта из корня эхинацеи, аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината на показатели эндогенной интоксикации у крыс с острым пародонтитом на фоне мерказолилиндуцированного гипотиреоза было определено маркеры эндогенной интоксикации, а также исследовано активность лизосомальных ферментов. Гипотиреоз у животных вызывали введением мерказолила в дозе 25 мг/кг в течение 21-х суток. Воспалительный процесс в пародонте моделировали путем однократного направленного воздействия колебаниями ультразвуковой частоты 50 кГц при экспозиции воздействия 60 с. Воспаление у крыс с острой травмой десен на фоне гипотиреоза приводило к угнетению активности лизосомальных ферментов – катепсина D и кислой фосфатазы в гомогенате десен и повышению содержания маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы и эритроцитарного индекса интоксикации. Введение комбинированных таблеток на основе экстракта из корня эхинацеи, аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината положительно влияло на состояние лизосомальных гидролаз и содействовало нормализации показателей эндогенной интоксикации в пораженных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспаление пародонта, гипотиреоз, эндогенная интоксикация.

T. I. Dzetsiukh, I. M. Klishch

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF COMBINED PILLS FROM ECHINACEA ROOT EXTRACT, ASCORBIC ACID AND ZINK ASPARAGINATE ON INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH ACUTE PARODONTITIS ON THE BACKGROUND OF MERCAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

Summary

In order to study the influence of combined pills from echinacea root extract, ascorbic acid and zink asparaginate on indicators of en endogenous intoxication in rats with acute parodontitis on the background of mercazolil-

induced hypothyroidism was conducted the determination of endogenous intoxication markers and also the activity of lysosomal enzymes was analyzed. Hypothyroidism in rats was caused by the injection of mercazolil in dose of 25 mg / kg over a 21-day period. Inflammation in parodontium was modelled by a single directed influence with the vibrations of ultrasonic frequency of 50 kHz at the exposure of influence of 60 sec. Inflammation in rats with acute injury of the gum tissues on the background of hypothyroidism resulted in the decreased activity of lysosomal enzymes – cathepsin D and acid phosphatase in gum homogenate and the increased content of endogenous intoxication markers – molecules of average weight and erythrocytic index of intoxication. The injection of combined pills from echinacea root extract, ascorbic acid and zink asparaginate had positive effect on the state lysosomal hydrolases and promoted normalization of endogenous intoxication affected animals.

KEY WORDS: parodontal inflammation, hypothyroidism, endogenous intoxication.

Отримано 24.10.13

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

АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТУ

Встановлено, що злоякісний ріст призводить до зростання активності досліджуваних ферментів. Показано, що введення антиоксидантного препарату сприяє нормалізації активності амінотрансфераз у сироватці крові та проявляє значний гальмівний ефект на ріст пухлини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карцинома Герена, амінотрансферази, антиоксидант.

ВСТУП. Щорічно у світі реєструють близько 6 млн нових випадків захворювання на злоякісні пухлини. При цьому в жінок поширеним є рак матки (аденокарцинома), що займає четверте місце після раку молочної залози, шкіри та шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Захворюваність на рак тіла матки (РТМ) постійно зростає, в Україні цей показник становить 26,4 випадку на 100 тис. населення. Починають хворіти жінки переважно віком 40–54 роки, досягаючи піку захворювання до 60–64 років [4, 10]. Карцинома Герена (КГ) на сьогодні є оптимальною моделлю для дослідження даної патології, вона являє собою штамп перевиваючого модифікованого раку щурів, отриманий із спонтанної аденокарциноми щурів.

На сьогодні експериментальними і клінічними дослідженнями переконливо доведена перспективність використання засобів природного походження в комбінованій терапії онкологічних захворювань. Особливий інтерес викликають препарати, які підвищують протипухлинну резистентність, перешкоджають розвитку метастазів і рецидивів пухлин, знижують токсичні прояви хіміотерапії. Отже, застосування препаратів, здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу, є важливим для онкології [6, 7].

© Я. Б. Раєцька, Т. В. Іщук, О. О. Моргаєнко, Л. І. Остапченко, 2013.

При злоякісному розвитку пухлин суттєво змінюються біохімічні показники в організмі як людини, так і тварини [8]. У зв'язку з цим, метою даної роботи було відтворити експериментальну модель аденокарциноми та оцінити активність аспаратамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2) крові в щурів при злоякісному рості за умов введення досліджуваного препарату "GRIN".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 130 білих лабораторних щурах-самках масою (180±20) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Тваринам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції в ділянку стегна задньої кінцівки 20 % суспензії пухлинних клітин на 0,9 % розчині NaCl, отриманих від щура-донора [1, 4].

Частині щурів щоденно протягом 25-ти днів після прищеплення пухлини вводили досліджуваний препарат у різних дозах. Контрольний групі тварин із КГ вводили 1 мл 0,9 % NaCl. На 7-му добу після прищеплення починали визначати об'єм пухлини до 25-ї доби.

Тварин під легким ефірним наркозом декапітували через 25 днів після прищеплення пухлини.

Для одержання сироватки крові периферичну кров витримували впродовж 40 хв у термостаті при температурі 28 °С. Сироватку крові відбирали після центрифугування крові при 2500 г через 30 хв [5].

Ферментативну активність визначали за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням набору для колориметричного визначення активності АсАТ та АлАТ [3].

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Стюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Застосування препаратів, здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу, є важливим і становить один із провідних напрямків комплексних онкологічних досліджень [2, 4, 9].

Таким є препарат "GRIN", розроблений компанією "Ворлд гринизейшен систем" (Україна), який являє собою порошкову форму очищених білкових фракцій голонтурії далекосхідної і вермікультури, виготовлених за спеціальною технологією "GRINIZATION"® (неферментативна, багатоступінчаста, низькотемпературна), що дозволяє уникати денатурації білків, збільшувати їх біодоступність, зберігати глобулярний стан з повним збереженням регуляторних пептидів ядерних ДНК та їх функціональних властивостей.

На першому етапі наших досліджень було визначено вплив препарату на ріст КГ у щурів із прищепленою карциномою Герена. В ході дослідження отримано такі дані (табл. 1).

Було показано, що досліджуваний препарат має стабілізуючий вплив на злоякісний

ріст карциноми Герена. Даний ефект спостерігали переважно на 18-ту і 23-тю доби після прищеплення пухлини порівняно з пухлинним контролем (карцинома Герена). Середній об'єм пухлини постійно зростає, досягаючи максимального значення на 23-тю добу, при введенні препарату "GRIN" у дозі 200 мг/кг він був меншим у 2,2 раза порівняно з пухлинним контролем.

При порівняльному вивченні дії трьох варіантів доз досліджуваного препарату на щурів із прищепленою карциномою Герена ми дійшли висновку, що найефективнішою експериментально встановленою дозою є 200 мг/кг, дане спостереження було зроблено за двома критеріями: величиною гальмування росту пухлини та збільшенням тривалості життя щурів відносно контролю. Встановлено, що даний препарат проявляє стабілізуючий вплив лише у наведених дозах, тоді як за умов введення препарату в дозах 500 мг/кг та вище було показано зворотний ефект.

Отримані результати вказують на перспективи подальшого вивчення біохімічних механізмів впливу досліджуваного препарату. Біохімічні параметри крові є інтегральними до оцінки організму, одним із найбільш інформативних показників слугує активність амінотрансфераз.

Було визначено активність амінотрансфераз (АсАТ і АлАТ) у сироватці крові щурів із прищепленою карциномою Герена при застосуванні препарату "GRIN" (табл. 2, 3).

Як свідчать наведені у таблиці 2 дані, у щурів із КГ, які не отримували досліджуваного препарату, активність АсАТ у сироватці крові зростала в 3 рази порівняно з контрольною групою.

Таблиця 1 – Середні об'єми карциноми Герена в щурів за умов введення препарату "GRIN"

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин			
	КГ, мм ³	КГ+"GRIN" у дозі 10 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 100 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 200 мг/кг
8-ма	3,16±0,1	1,55±0,2*	1,9±0,1*	1,48±0,1*
11-та	16,7±2,3	15,87±0,8	14,0±10,5	9,12±0,6*
15-та	31,92±3,1	29,01±1,5	27,21±1,6	22,56±0,9*
18-та	60,53±5,6	54,12±5,4	50,34±3,9	30,64±1,8*
23-тя	96,35±26,2	83,09±5,5	66,18±4,9	37,76±2,1*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – $p < 0,05$ порівняно з КГ.

Таблиця 2 – Активність АсАТ у сироватці крові (Од/л) щурів із карциномою Герена за умов введення препарату "GRIN"

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин				
	контроль	КГ	КГ+"GRIN" у дозі 10 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 100 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 200 мг/кг
15-та	37,1±0,12	200,6±0,6	146,7±0,2*	127,1±0,4*	130,9±0,5*
18-та	35,12±0,2	163,7±0,5	73,7±0,1*	85,2±0,2*	62,2±0,1*
23-тя	31,1±0,1	109,1±0,1	68,7±1,5*	59,2±0,3*	53,1±0,1*

Таблиця 3 – Активність АлАТ у сироватці крові (Од/л) щурів із карциномою Герена при застосуванні досліджуваного препарату “GRIN”

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин				
	контроль	КГ	КГ+“GRIN” у дозі 10 мг/кг	КГ+“GRIN” у дозі 100 мг/кг	КГ+“GRIN” у дозі 200 мг/кг
15-та	45,1±3,13	137,1±0,1	101,1±0,2*	96,9±0,1*	103,4±0,1*
18-та	44,3±3,1	126,7±0,3	82,2±0,8*	80,2±0,5*	55,2±0,6*
23-тя	42,1±2,3	91,2±0,1	60,7±0,5*	56,8±0,6*	49,2±0,9*

У щурів із прищепленою КГ, які отримували досліджуваний препарат (у дозах 10, 100 та 200 мг/кг), активність АсАТ у сироватці крові змінювалась. У тварин, які одержували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, ми спостерігали поступове зниження активності АсАТ, порівняно з групою щурів із КГ, переважно на 18-ту і 23-тю доби після прищеплення пухлини, значення якої наближалися до нормальних. Так, у тварин, які отримували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, активність АсАТ зменшувалася майже у 2 рази порівняно з групою щурів із КГ, що може свідчити про поступове відновлення функцій певних органів (табл. 2).

При визначенні активності АлАТ у сироватці крові щурів за умов злоякісного росту було виявлено зміни (табл. 3).

Так, у щурів із КГ, які не отримували досліджуваного препарату, активність АлАТ у сироватці крові зростала у 2 рази порівняно з контрольною групою. У тварин із прищепленою КГ, які одержували препарат “GRIN” у досліджуваних дозах, активність АлАТ у сироватці крові поступово змінювалась. У групах, які отримували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, активність ферменту поступово знижувалася в 1,5–2 рази переважно на 23-тю добу після прищеплення пухлини і наближалася до фізіологічної норми.

Отже, встановлено, що злоякісний ріст призводить до зростання активності ферментів АсАТ і АлАТ. Показано, що введення досліджуваного препарату сприяє нормалізації цих біохімічних показників крові та проявляє значний гальмівний ефект на ріст пухлини.

На нашу думку, виявлені відмінності зумовлені позитивним впливом препарату “GRIN” на органний кровотік і мікроциркуляторне русло/мікроциркуляцію внутрішніх органів, а також на попередження розвитку катаболічних реакцій, що розвиваються внаслідок канцерогенезу.

ВИСНОВКИ. 1. Показано динаміку зменшення середнього об’єму КГ у щурів при застосуванні різних доз препарату “GRIN”. Отримані результати свідчать про те, що найефективнішою була доза препарату 200 мг/кг. При використанні препарату в зазначеній дозі спостерігали гальмування росту КГ майже в 3 рази.

2. Встановлено підвищення активності АсАТ і АлАТ у сироватці крові щурів при злоякісному рості КГ. Виявлено, що показники активності АсАТ та АлАТ наближалися до фізіологічної норми в щурів із прищепленою КГ, які отримували препарат “GRIN” у дозі 200 мг/кг.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрушкевич В. В. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови / В. В. Андрушкевич. – Новосибирск, 2006. – 76 с.
2. Барабой В. А. Перекисное окисление и радиация / В. А. Барабой, В. Э. Орел, И. М. Карнаух. – К. : Наук. думка, 1991. – 256 с.
3. Інструкція для роботи з біохімічним аналізатором Humalyzer 3000.

4. Кавецкий Р. Е. Реактивность организма и опухолевой рост. – К. : Наук. думка, 1981. – 432 с.
5. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика : справочник : в 2 т. / А. И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 1999. – С. 27–28.
6. Методические рекомендации по применению биологически активных добавок к пище производства ООО “Биолит” в профилактике и комплексном

лечении / А. И. Венгеровский, Э. И. Белобородова, Г. И. Калинкина, Н. К. Бычкова. – Томск, 2008. – 90 с.

7. Невожай В. И. Советы онкологическому больному (если вам предстоит лечение) / В. И. Невожай, С. В. Юдин. – Владивосток, 2003. – 35 с.

8. Чорна І. В. Методичні вказівки до занять з дисципліни “Клініко-лабораторна діагностика” / І. В. Чорна, І. Ю. Висоцький. – Суми : Сумський державний університет, 2011. – 130 с.

9. Immunohistochemical Expression of TGF- β 1 Predicts a Poor Prognosis in Cervical Cancer Patients

who Harbor Enriched Endoglin Microvessel Density / H. Lin, C. C. Huang, Y. C. Ou [et al.] // Int J Gynecol Pathol. – 2012. – № 5. – P. 482–489.

10. The biochemical parameters of blood, antioxidant system and lipid peroxidation processes under malignization in rats in condition of antioxidant substance treatment. Poland. Przemysl / Ya. B. Raetska, O. O. Morgaienko, R. S. Demyanenko, L. I. Ostapchenko // Journal Nauka i Studia. Biologiczne nauki. – 2012. – № 4. – P. 17–20.

Я. Б. Раецкая, Т. В. Ищук, А. А. Моргаенко, Л. И. Остапченко
УНЦ “ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ” КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТА

Резюме

Установлено, что злокачественный рост приводит к возрастанию активности исследуемых ферментов. Показано, что введение антиоксидантного препарата способствует нормализации активности аминотрансфераз в сыворотке крови и проявляет значительный тормозящий эффект на рост опухоли.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: карцинома Герена, аминотрансферазы, антиоксидант.

Ya. B. Rayetska, T. V. Ishchuk, O. O. Morgaienko, L. I. Ostapchenko
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY,
ESC “THE INSTITUTE OF BIOLOGY”

ACTIVITY OF AMINOTRANSFERASES IN DYNAMICS UNDER THE MALIGNANT GROWTH IN CONDITION ABOUT THE ANTIOXIDANT SUBSTANCE INTRODUCTION

Summary

The results obtained indicate increased activities of the aminotransferases under the malignant growth. It was shown that the introduction of an antioxidant substance contributed to normalization of aminotransferases' activities and significantly inhibited tumor growth.

KEY WORDS: Guerin's carcinoma, aminotransferases, an antioxidant.

Отримано 28.10.13

Адреса для листування: Я. Б. Раецька, пр-т Глушкова 2/12, ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, 03127, Україна, e-mail: raetska@ya.ru.

ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ЧИННИКІВ РИЗИКУ ОСТЕОПОРОЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГАСТРОДУОДЕНІТ У ПОЄДНАННІ З ХРОНІЧНИМ ПАНКРЕАТИТОМ

У 44 хворих на хронічний гастродуоденіт у поєднанні з хронічним панкреатитом вивчено гетерогенність змін показників ендogenousної інтоксикації залежно від чинників ризику остеопорозу. Виявлено ендотоксемию за рахунок збільшення ендogenousної інтоксикації. Встановлено, що рівень ендogenousної інтоксикації у даної групи хворих пов'язаний зі станом мінеральної щільності кісткової тканини і залежить від чинників ризику остеопорозу, таких, як вік, стать, тривалість захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний гастродуоденіт, хронічний панкреатит, ендogenousна інтоксикація, остеопороз.

ВСТУП. В останні десятиліття все більше дослідників відзначають часте поєднання різних захворювань органів травлення [4]. Ця поєднана патологія може бути причиною розвитку інших хвороб, що взаємообтяжує перебіг основного захворювання. Однією з таких недуг є розвиток остеопенічного синдрому й остеопорозу (ОП). За даними експертів ВООЗ, серед основних медико-соціальних проблем сучасності ОП займає друге місце після серцево-судинних захворювань і цукрового діабету [2]. Останнім часом увага науковців зосереджена на вторинних ураженнях кісткової тканини (КТ) [3, 7, 10]. Встановлено поширеність ОП на тлі поєднаної патології органів травлення (ППОТ). Результати поодиноких досліджень свідчать про те, що структурно-функціональні зміни КТ є важливим патогенетичним компонентом ускладненого перебігу ППОТ, зокрема гастродуоденальної ділянки, підшлункової залози [6]. Не з'ясовано механізми формування остеопенічного синдрому, вплив порушень метаболізму КТ на перебіг захворювань, у тому числі ППОТ, роль чинників ризику [5, 6]. Невпинна втрата кісткової маси, нетравматичні переломи, хронічний больовий синдром у кістках, зниження якості життя хворих, висока частота тяжкого перебігу поєднаних хронічних запальних захворювань гастродуоденопанкреатичної зони зумовлюють необхід-

ність подальшого дослідження патогенезу чинників ризику ОП. На сьогодні ряд досліджень спрямований на вивчення стану ендogenousної інтоксикації (ЕІ) при різних захворюваннях шлунково-кишкового тракту [1, 8, 9], проте залишаються не до кінця з'ясованими механізми ендотоксемії за умов різного перебігу хвороби, а також можливий її зв'язок з розвитком і глибиною остеопенічних станів.

Метою даної роботи було вивчити гетерогенність змін показників ЕІ залежно від чинників ризику ОП у хворих на хронічний гастродуоденіт (ХГД) у поєднанні з хронічним панкреатитом (ХП).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 44 хворих на ХГД у поєднанні з ХП, зокрема 24 чоловіки (54,6 %) та 20 жінок (45,4 %), причому 50,0 % осіб жіночої статі перебувало в доменопаузальному періоді та 50,0 % – у постменопаузальному. Середній вік хворих становив $(47,43 \pm 2,28)$ року. Поміж обстежених переважали хворі зрілого віку – 15 осіб (34,1 %). Для подальшої характеристики гетерогенності змін мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) хворих поділили, згідно з рекомендаціями ВООЗ, на три групи: 1-шу групу становили 12 (27,3 %) пацієнтів з нормальною МЩКТ, 2-гу – 23 (52,3 %) обстежених з остеопенією, 3-тю – 9 (20,4 %) осіб з ОП. У кожній групі проводили детальну оцінку основних денситометричних

показників та аналізували їх для встановлення чинників ризику розвитку остеодіфіцитних станів за наявності ХГД у поєднанні з ХП. Для верифікації діагнозу на апараті "Lunar" (США) виконували широкий спектр клінічних і лабораторно-інструментальних обстежень (загальний та біохімічний аналізи крові, показники EI, загальний аналіз сечі, копрограма, імуноферментний аналіз крові на виявлення антитіл до Нр, у частини хворих – ПЛР на виявлення Нр, езофагогастродуоденофіброскопія з гістологічним та цитологічним дослідженнями, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, денситометричне обстеження поперекового відділу хребта і проксимального відділу правої стегнової кістки). Стан EI вивчали за методом Габрієляна (1984).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Враховуючи підвищення концентрації токсичних метаболітів при зниженні показників мінералізації кістки, ми вважали за доцільне дослідити стан

показників EI залежно від чинників ризику остеопорозу. Результати досліджень наведено в таблиці.

Як свідчать дані таблиці, синдром EI посилюється з віком. Так, у пацієнтів похилого віку відбувалася активація токсемії за рахунок збільшення рівня MCM_{254} , відповідно, на 28,2, 13,0, 5,7 %; MCM_{280} – на 24,7, 13,2, 8,6 %; EI – на 38,3, 15,9, 10,1 % порівняно з хворими молодого, середнього та зрілого віку ($p < 0,01$).

Оцінка рівня MCM_{254} , MCM_{280} та EI залежно від давності захворювання виявила зростання вказаних показників у пацієнтів з тривалістю захворювання 5–10 років у 1,2, 1,1 й 1,1 раза ($p < 0,01$); понад 10 років – у 1,2, 1,2 та 1,3 раза ($p < 0,01$).

Аналіз результатів, що свідчать про посилення ендотоксикозу при збільшенні тривалості захворювання та кількості прожитих років, вказав на патогенетичні зв'язки між розвитком змін КТ і синдромом EI у хворих на ХГД у поєднанні з ХП.

Таблиця – Показники синдрому EI у хворих на ХГД у поєднанні з ХП із врахуванням чинників ризику остеопорозу ($M \pm m$)

Критерій		MCM_{254} , ум. од.	MCM_{280} , ум. од.	EI, %
Контрольна група (n=20)		334,13±2,64	161,50±2,16	27,25±1,22
Вік, роки	до 29 (n=8)	458,88±16,13	221,25±5,56	33,79±1,92
	30–44 (n=10)	515,00±15,24	237,88±4,62	40,20±0,61
	45–60 (n=15)	556,67±7,31	253,87±3,01	42,43±0,80
	понад 60 (n=11)	588,18±14,01	275,91±6,32	46,74±1,43
Тривалість захворювання, роки	до 5 (n=11)	466,45±12,14	225,36±5,02	35,89±1,71
	6–10 (n=11)	534,73±11,67	243,27±3,0	39,93±0,53
	понад 10 (n=22)	574,18±7,39	265,73±4,26	44,99±0,94
Стать	чоловіки (n=24)	526,71±12,32	244,92±4,98	39,71±1,23
	фертильні жінки (n=10)	512,10±13,86	243,10±5,40	40,29±0,63
	жінки в постменопаузальному періоді (n=10)	587,40±11,76	269,20±6,38	46,80±1,31

Примітки:

1. p_1 – достовірність різниці показників у хворих віком до 29 років і осіб контрольної групи (здорові люди).
2. p_2 – достовірність різниці показників між хворими віком до 29 та 29–44 років.
3. p_3 – достовірність різниці показників між хворими віком 29–44 та 45–60 років.
4. p_4 – достовірність різниці показників між хворими віком 45–60 та понад 60 років.
5. p_5 – достовірність різниці показників між хворими з тривалістю хвороби до 5 років і особами контрольної групи.
6. p_6 – достовірність різниці показників між хворими з тривалістю хвороби до 5 і 6–10 років.
7. p_7 – достовірність різниці показників між хворими з тривалістю хвороби 6–10 і понад 10 років.
8. p_8 – достовірність різниці показників між чоловіками і фертильними жінками.
9. p_9 – достовірність різниці показників між чоловіками і жінками в менопаузальному періоді.
10. p_{10} – достовірність різниці показників між фертильними жінками і жінками в менопаузальному періоді.

Порівняльний аналіз стану ЕІ у хворих різної статі виявив, що, незважаючи на активацію ендотоксикозу, вираження токсемії не відрізнялося в чоловіків і жінок доменопаузального періоду, проте спостерігали достовірно вищі показники в осіб жіночої статі, які перебували у менопаузальному періоді ($p < 0,01$). Так, у фертильних жінок вміст MCM_{254} був у 1,2 раза нижчим, ніж у жінок в менопаузальному періоді ($p < 0,01$).

Таким чином, на основі результатів нашого дослідження можна стверджувати, що на розвиток остеопорозу вагомо впливає активація токсемії у хворих на ХГД у поєднанні з ХП, що вказує на міцний зв'язок між СЕІ та станом МЩКТ (рис.).

Визначення рівня ендотоксемії у хворих на ХГД у поєднанні з ХП має важливе значення для розуміння патогенезу, особливостей перебігу та системних проявів цієї мікст-патології. Активація токсемії погіршує перебіг захворювання і, як наслідок, сприяє появі вторинних уражень інших органів та систем.

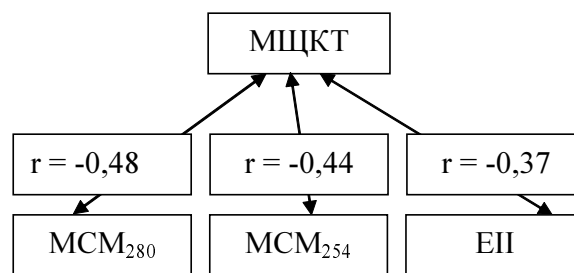


Рис. Кореляція між показниками ЕІ та МЩКТ у хворих на ХГД у поєднанні з ХП.

ВИСНОВКИ. 1. Рівень ендогенної інтоксикації пов'язаний зі станом мінеральної щільності кісткової тканини і залежить від чинників ризику остеопорозу, таких, як вік, стать, тривалість захворювання, при хронічному гастродуоденіті в поєднанні з хронічним панкреатитом.

2. Виявлено зворотний кореляційний зв'язок між показниками мінеральної щільності й ендогенної інтоксикації у хворих з даною мікст-патологією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бакалець О. В. Особливості синдрому ендогенної інтоксикації у хворих на алергічні дерматози / О. В. Бакалець // Здобутки клініч. і експерим. мед. – 2012. – № 2 (17). – С. 13–15.
2. Балацька Н. І. Дефіцит вітаміну Д у населення України та чинники ризику його розвитку / Н. І. Балацька // Вісник наук. досліджень. – 2013. – № 1. – С. 37–41.
3. Вибирана Р. Й. Фактори формування остеопенічного синдрому у чоловіків, хворих на хронічну лімфоїдну лейкемію / Р. Й. Вибирана, І. В. Жулкевич // Вісник наук. досліджень. – 2013. – № 3. – С. 60–65.
4. Гравіровська Н. Г. Показники поширеності вперше виявленої патології органів травлення у міського населення / Н. Г. Гравіровська // Суч. гастроентерологія. – 2008. – № 1. – С. 4–6.
5. Жулкевич І. В. Вікова динаміка змін стану мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на хронічну лімфоїдну лейкемію / І. В. Жулкевич, Р. Й. Вибирана, К. В. Баранникова // Вісник наук. досліджень. – 2013. – № 1. – С. 47–51.

6. Пасієшвілі Л. М. Порушення кальцієвого обміну як предиктор формування вторинного остеопорозу у хворих на хронічний панкреатит, патогенетичні аспекти взаємозв'язку та взаємообтяження / Л. М. Пасієшвілі, Л. М. Бобро, М. В. Моргуліс // Суч. гастроентерологія. – 2008. – № 3 (41). – С. 4–8.
7. Синяченко О. В. Гендерные особенности остеопороза у больных остеоартрозом / О. В. Синяченко // Укр. ревматол. журн. – 2010. – № 1 (39). – С. 31–37.
8. Шано В. П. Синдром ендогенної інтоксикації / В. П. Шано, Е. А. Кучер // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2011. – № 1 (25). – С. 3–8.
9. Chudaikin A. N. Endotoxicosis Problem in Obstetric–Gynecologis Practice / A. N. Chudaikin, M. A. Levina, S. L. Peshev // Journal of Medical Schentific Foeseerch. – 2009. – 5, № 1. – Р. 56–59.
10. Cortical and trabecular bone distribution in the femoral neck in osteoporosis and osteoarthritis / H. Blain, P. Chavassieux, N. Portero-Muzy, F. Bonnel // Bone. – 2008. – № 43 (5). – Р. 862–868.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАКТОРОВ РИСКА ОСТЕОПОРОЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРОДУОДЕНИТОМ В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

Резюме

У 44 больных хроническим гастродуоденитом в сочетании с хроническим панкреатитом изучено гетерогенность изменений показателей эндогенной интоксикации в зависимости от факторов риска остеопороза. Выявлено эндотоксемию за счет увеличения эндогенной интоксикации. Установлено, что уровень эндогенной интоксикации у данной группы больных связан с состоянием минеральной плотности костной ткани и зависит от факторов риска остеопороза, таких, как возраст, пол, длительность заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический гастродуоденит, хронический панкреатит, эндогенная интоксикация, остеопороз.

T. V. Boyko, H. V. Lykhatska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

VARIETY OF CHANGES OF ENDOGENOUS INTOXICATION INDEXES DEPENDING ON RISK OF OSTEOPOROSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC GASTRODUODENITIS ASSOCIATED WITH CHRONIC PANCREATITIS

Summary

The variety of changes in the values of endogenous intoxication, depending on the risk factors of osteoporosis in 44 patients with chronic gastroduodenitis in combination with chronic pancreatitis were studied. Endotoxemia revealed by increasing endogenous intoxication. It was found the level of endogenous intoxication in this group of patients the condition is associated by bone mineral density, depending on the risk factors of osteoporosis such as age, sex, duration of disease.

KEY WORDS: chronic gastroduodenitis, chronic pancreatitis, endogenous intoxication, osteoporosis.

Отримано 04.10.13

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

ДИНАМІКА ЗМІН ПРОДУКЦІЇ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ ЗАПАЛЕННЯ В ДІТЕЙ ІЗ СТОМАТОЛОГІЧНОЮ ЗАХВОРЮВАНІСТЮ НА ТЛІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

У 119 дітей віком 7–15 років зі стоматологічними захворюваннями на тлі бронхіальної астми визначали α -2r-глікопротеїн, гаптоглобін та орозомукоїд. У статті наведено дані, що свідчать про участь білків гострої фази запалення в розвитку деструктивних і запальних процесів у ротовій порожнині та їх інтенсифікації на тлі бронхіальної астми.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карієс, гінгівіт, бронхіальна астма, білки гострої фази запалення, активність запального процесу.

ВСТУП. Збереження здоров'я дітей є найголовнішим завданням сучасної медицини, а критерії здоров'я дітей – одним із найважливіших показників соціального, економічного та культурного розвитку суспільства [2, 6]. Результати численних досліджень свідчать про те, що в останні роки підвищується розвиток загальносоматичних захворювань, суттєво знижуються резистентність дитячого організму та його адаптаційно-компенсаторні можливості [1, 2, 6]. З урахуванням комплексу екологічних і соціально-економічних чинників зберігається тенденція до зростання захворюваності крові та кровотворних органів, нервової системи, прогресують хвороби шлунково-кишкового тракту, ендокринної системи й органів дихання. Так, у дітей досить розповсюдженим захворюванням є бронхіальна астма (БА), яка характеризується хронічним запаленням дихальних шляхів, яке перебігає на тлі зміни реактивності бронхів та зумовлюється різноманітними алергічними факторами [1, 3, 6]. Стоматологічне здоров'я дитини є невід'ємною частиною її загального здоров'я та перебуває під впливом тих самих чинників, що і формування соматичного здоров'я [1, 6]. Подальше комплексне вивчення стоматологічного здоров'я дітей на тлі соматичних захворювань, проведення аналізу біохімічних, морфологічних та імунологічних показників для визначення ступеня їх змін в організмі, з'ясування причинно-наслідкових зв'язків виникнення і розвитку захворювань порожнини рота в дітей з огляду на соматичне здо-

ров'я з метою наукового обґрунтування шляхів та методів профілактики основних стоматологічних захворювань можна розглядати як важливу науково-практичну проблему. Відомо, що в гостру фазу запального процесу збільшується продукція деяких білків, синтез яких пригнічений у здорових людей. Це так звані "гострофазні" білки-реактанти, коливання у вмісті яких може дати інформацію для практичних діагностичних тестів [3, 7].

Метою даного дослідження було визначити α -2r-глікопротеїн, гаптоглобін та орозомукоїд у капілярній крові ясен дітей із стоматологічною захворюваністю на тлі бронхіальної астми.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Основу дослідження склали клінічні спостереження за 119 дітьми віком 7–15 років. До основної групи ввійшли 50 дітей зі стоматологічною захворюваністю на тлі бронхіальної астми. Порівняльну групу склали 49 дітей із карієсом зубів та запальними захворюваннями пародонта без соматичної патології. Контрольну групу сформували 20 практично здорових дітей з інтактними зубами та пародонтом. Ураженість зубів карієсом оцінювали відповідно до рекомендацій ВООЗ (1998). При встановленні клінічного діагнозу запальних захворювань пародонта використовували класифікацію М. Ф. Данилевського. Додаткові дослідження включали визначення гігієнічного індексу Гріна-Вермільйона (OHI-S) (1964), індексу кровоточивості ясен Мюллемана (SBI) (1967) та індексу PMA (Russel, 1956) [2, 5, 6].

До спеціальних методів дослідження належали визначення α -2r-глікопротеїну в капілярній крові ясен методом імунодифузного титрування в агаровому гелі за Оухтерлоні [7] з використанням стандартної тест-системи; визначення рівнів гаптоглобіну й орозомукоїду методом радіальної імунодифузії за Манчіні [3, 7].

Для обґрунтування поняття “фізіологічна норма” було попередньо обстежено 20 здорових дітей. У цій групі рівень α -2r-глікопротеїну коливався в діапазоні від 0,90 до 3,35 мг/л (у середньому $(2,12 \pm 0,21)$ мг/л); гаптоглобіну – від 42,12 до 65,08 мг/л (у середньому $(53,28 \pm 4,62)$ мг/л) та орозомукоїду – від 24,21 до 40,19 мг/л (у середньому $(32,18 \pm 2,21)$ мг/л).

Статистичну обробку матеріалу проводили за допомогою пакета програм Excel на PC Pentium із використанням середнього арифметичного, помилки середньої, t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведення лабораторних досліджень отримано такі дані (табл.): у дітей основної групи продукція α -2r-глікопротеїну в капілярній крові ясен була у 2,5 раза більшою стосовно даних контрольної групи ($(5,37 \pm 0,20)$ проти $(2,12 \pm 0,21)$ мг/л, $p < 0,01$) та в 1,2 раза перевищувала дані порівняльної групи ($(4,32 \pm 0,22)$ мг/л, $p_1 < 0,01$). У дітей порівняльної групи продукція α -2r-глікопротеїну була в 1,6 раза вищою стосовно даних контрольної групи ($p_2 < 0,01$).

Вміст гаптоглобіну в капілярній крові ясен дітей основної групи був у 1,9 раза більшим стосовно аналогічних значень у дітей контрольної групи ($(98,65 \pm 3,78)$ проти $(53,28 \pm 4,62)$ мг/л, $p < 0,01$) та в 1,4 раза перевищував дані порівняльної групи ($(70,13 \pm 3,89)$ мг/л, $p_1 < 0,01$). У дітей порівняльної групи вміст гаптоглобіну в капілярній крові ясен був у 1,3 раза більшим стосовно показника контрольної групи ($p_2 < 0,05$).

У дітей основної групи продукція орозомукоїду була у 2,2 раза більшою стосовно даних контрольної групи ($(71,72 \pm 2,22)$ мг/л, $p < 0,01$) та в 1,4 раза перевищувала значення осіб порівняльної групи ($(52,12 \pm 0,22)$ мг/л, $p_1 < 0,01$). У дітей порівняльної групи вміст орозомукоїду в капілярній крові ясен був у 1,6 раза вищим стосовно даних контрольної групи ($p_2 < 0,01$).

Деталізація процесу продукування білків гострої фази запалення дозволила об'єктивізувати особливості їх вмісту залежно від нозологічної форми стоматологічного захворювання та наявності соматичного захворювання в дітей груп дослідження (рис.).

Так, при карієсі зубів у дітей основної групи з БА простежувалась тенденція до збільшення рівня в капілярній крові ясен α -2r-глікопротеїну на 53,07 % ($p < 0,05$), гаптоглобіну – на 26,98 % ($p < 0,05$), орозомукоїду – на 42,65 % ($p < 0,01$) стосовно даних дітей порівняльної групи з ураженням твердих тканин зубів без супутньої соматичної патології. При цьому було відзначено, що вміст білків гострої фази запалення в дітей порівняльної групи з карієсом зубів дорівнював значенням, отриманим у дітей з інтактними зубами та пародонтом (контрольна група).

У дітей основної групи із захворюваннями тканин пародонта відмічали підвищення продукції α -2r-глікопротеїну на 66,05 % ($p < 0,01$), гаптоглобіну – на 50,91 % ($p < 0,01$), орозомукоїду – на 31,66 % ($p < 0,01$).

ВИСНОВКИ. У дітей основної групи зі стоматологічною захворюваністю на тлі бронхіальної астми відзначають підвищений ступінь активності білків гострої фази запалення в капілярній крові ясен як стосовно даних дітей контрольної групи з інтактними зубами та пародонтом, так і відносно аналогічних значень дітей порівняльної групи з ураженням твердих та м'яких тканин ротової порожнини без загальносоматичної патології. Значення вмісту

Таблиця – Динаміка змін вмісту білків гострої фази запалення в дітей груп дослідження

Білок гострої фази запалення	Основна група (n=50)	Порівняльна група (n=49)	Контрольна група (n=20)
α -2r-глікопротеїн, мг/л	$5,37 \pm 0,20$ p, p ₁	$3,32 \pm 0,22$ p ₂ < 0,01	$2,12 \pm 0,21$
Гаптоглобін, мг/л	$98,65 \pm 3,78$ p, p ₁	$70,13 \pm 3,89$ p ₂ < 0,05	$53,28 \pm 4,62$
Орозомукоїд, мг/л	$71,72 \pm 2,22$ p, p ₁	$52,12 \pm 0,22$ p ₂ < 0,01	$32,18 \pm 2,21$

Примітки:

1. $p < 0,01$ – достовірна різниця стосовно даних контрольної групи.
2. $p_1 < 0,01$ – достовірна різниця стосовно даних порівняльної групи.
3. p_2 – достовірна різниця між даними порівняльних та контрольних груп.

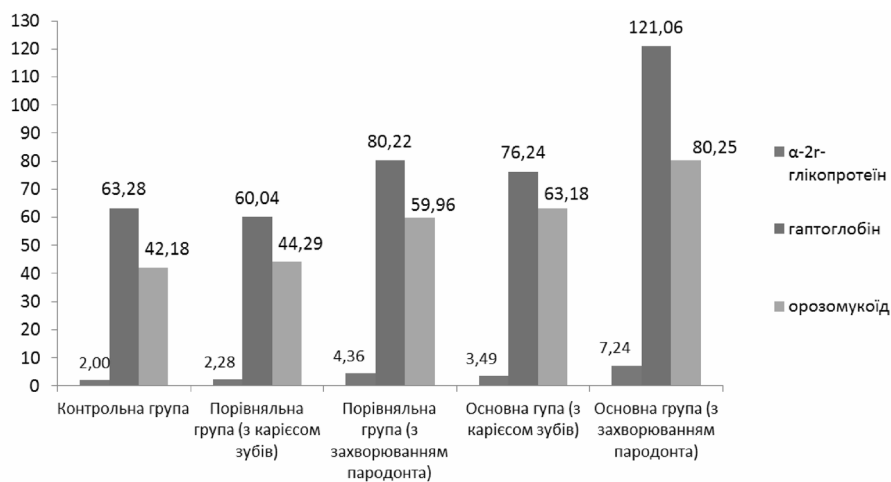


Рис. Динаміка змін вмісту білків гострої фази запалення в дітей груп дослідження залежно від форми стоматологічного захворювання.

білків гострої фази запалення в дітей основної та порівняльної груп із запальними захворюваннями пародонта вищі стосовно аналогіч-

них даних у дітей з карієсом зубів, що може бути додатковим підтвердженням інтенсифікації запальних реакцій в організмі дітей.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Безвужко Е. В. Взаємозв'язок карієсу зубів із соматичною патологією дітей, що проживають у районах, різних за екологічною ситуацією / Е. В. Безвужко, І. В. Микитчак // Укр. стоматол. альманах. – 2012. – № 4. – С. 115–117.
2. Безвужко Е. В. Рівень стоматологічної допомоги дітям Львівської області / Е. В. Безвужко, О. І. Мрочко // Стоматол. новини. – Львів, 2009. – Вип. 9/10. – С. 68–69.
3. Белопластова Н. А. Диагностическое и прогностическое значение белков острой фазы при бронхите у детей / Н. А. Белопластова // VI Науч. конгр. по болезням органов дыхания. – Новосибирск, 2000. – С. 319–320.
4. Гупал А. М. Комп'ютерні засоби в моделюванні процесів стоматологічної захворюваності / А. М. Гупал, Т. Я. Грачова // Комп'ютерні засоби в мережі та системи. – 2009. – № 8. – С. 52–58.
5. Леус П. А. Значение некоторых индексов в эпидемиологических исследованиях болезней пародонта / П. А. Леус // Стоматология. – 1990. – 69, № 1. – С. 80–83.
6. Хоменко Л. А. Заболевания пародонта у лиц молодого возраста: проблема риска и диагностики / Л. А. Хоменко, Н. В. Биденко, Е. И. Остапко // Стоматолог. – 2006. – № 1–2. – С. 54–58.
7. Manchini Y. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / Y. Manchini, A. Yarbonara // Immunochemistry. – 1965. – 2, № 6. – P. 234–235.

О. Я. Выдойник

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПРОДУКЦИИ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ У ДЕТЕЙ СО СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ НА ФОНЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Резюме

У 119 детей в возрасте 7–15 лет с стоматологическими заболеваниями на фоне бронхиальной астмы определяли α-2r-гликопротеин, гаптоглобин и орозомукоид. В статье представлены данные, которые

свидетельствуют об участии белков острой фазы воспаления в развитии деструктивных и воспалительных процессов в ротовой полости и их интенсификации на фоне бронхиальной астмы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кариес, гингивит, бронхиальная астма, белки острой фазы воспаления, активность воспалительного процесса.

О. Я. Видойник

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF CHANGES OF PRODUCTION OF ACUTE PHASE PROTEINS OF INFLAMMATION IN CHILDREN WITH DENTAL DESEASE ON THE BACKGROUND OF BRONCHIAL ASTHMA

Summary

It was conducted α -2r-glikoprotein, haptoglobin and oroz'mukoid in 119 children, in age 7–15, with dental diseases on the background of bronchial asthma. It was presented the participation of acute phase proteins in development of destructive and inflammatory processes in the oral cavity and their intensification on the background of bronchial asthma in the article.

KEY WORDS: caries, gingivitis, bronchial asthma, acute phase proteins, activity of inflammatory process.

Отримано 23.10.13

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

ОСОБЛИВОСТІ СИНДРОМУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ПРОВЕДЕННІ РАНЬОГО ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ГІДРОГЕЛЕВИХ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗАСОБІВ ТА ГУБЧАСТИХ СОРБУЮЧИХ МАТЕРІАЛІВ

У роботі досліджено динаміку системних змін в організмі експериментальних тварин за показниками ендогенної інтоксикації при проведенні ранньої некретомії опікового струпу та з подальшим закриттям ран сучасними гідрогелевими пов'язками і сорбуючими губчастими засобами. Експериментально доведено, що застосування гідрогелевих засобів на етапах раннього хірургічного лікування безпородних білих щурів послаблює прояви ендогенної інтоксикації у тварин. При цьому відзначено зниження рівня показників еритроцитарного індексу інтоксикації, молекул середньої маси та підвищення резистентності еритроцитарних мембран до токсичних продуктів розпаду тканин у реакції кислотного гемолізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: опіки, ендогенна інтоксикація, некретомія, гідрогелеві засоби.

ВСТУП. При дослідженні опікової патології важливо виявити особливості системних реакцій організму, що пов'язані з розвитком інтоксикаційного синдрому, який розвивається при опіковій хворобі [10, 11]. Явища інтоксикації, як правило, супроводжують тяжку термічну травму, а її ускладнення пов'язані з підвищеним розпадом тканин, посиленням процесом катаболізму, поліорганною недостатністю та порушенням процесів мікроциркуляції [12, 14]. Незалежно від причинного фактора опікового ураження симптоми інтоксикації мають спільні риси та клінічні прояви. Практично ідентичним вважають і механізм розвитку цих самих симптомів, починаючи від змін у первинному осередку ураження і закінчуючи генералізацією процесу [6, 8].

За умов опікової патології рідко створюються ситуації, коли синдром ендогенної інтоксикації є наслідком тільки одного причинного фактора. Найчастіше поява і надлишкове нагромадження ендогенних токсинів – це результати поєднання різних етіопатогенетичних факторів, взаємозумовлених наявністю великої кількості нервових, гуморальних, ендокринних зв'язків, які мають автокаталітичні властивості й каскадний характер розвитку [13, 24].

© А. О. Ковальчук, 2013.

Упровадження в клінічну практику раннього хірургічного видалення уражених тканин, що виконують після виведення хворого з шоку на 2–4 доби від початку травми, дозволяє покращити перебіг опікової хвороби [1, 9, 15, 20], знизити прояви інтоксикаційного синдрому та попередити розвиток ускладнень у хворих із критичними опіками [4, 5, 19]. При цьому адекватний підбір матеріалів та засобів для тимчасового закриття ранових поверхонь має важливе значення [2, 3, 7].

Сучасним вимогам концепції загоєння ран відповідають пов'язки, що забезпечують вологий мікроклімат на поверхні ранового дефекту [22]. Пов'язки цього типу абсорбують біологічні рідини й оберігають від накопичення виділень за рахунок випаровування води зовнішньою поверхнею пов'язки [21, 23]. Однак у I фазу ранового процесу вищевказані засоби не завжди ефективні. Це пов'язано з надмірним накопиченням ексудату з токсичними продуктами розпаду тканин між поверхнею рани та гідрогелевим покриттям. За такої умови прогресують явища запалення та вторинного некрозу в проекції післяопераційної рани, що призводить до збільшення тривалості II періоду опікової хвороби (періоду токсемії).

Тому метою даного дослідження було вивчити вплив раннього хірургічного лікування

обпечених з використанням комбінованих ранових покриттів, що включають гідрогелеві засоби з покращеними дренажними властивостями та губчасті сорбуючі матеріали.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальне дослідження проведено на 192 безпородних статевозрілих білих щурах масою 250–300 г. Утримували їх на загальноприйнятому регламентованому раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Усіх піддослідних тварин поділили на три групи: до складу контрольної групи віднесено 8 здорових щурів; до 1-ї групи входило 24 тварини з опіковою травмою, лікування яких включало виконання некректомії на 6 добу після травми; до 2-ї – 24 тварини, яким проводили раннє хірургічне лікування з використанням гідрогелевих монопов'язок; до 3-ї – 24 тварини, яким проводили раннє хірургічне лікування із застосуванням сітчастих гідрогелевих пов'язок та поліуретанових адсорбентів.

Методика моделювання експериментальної травми передбачала контактний опік III–IV ступенів звільненої від шерсті шкіри спини. Опік наносили мідною пластиною, яку попередньо розігрівали в кип'яченій воді при температурі 97–100 °С. У подальшому щільно прикладали її до шкірної поверхні піддослідної тварини на 20 с, при цьому площа опіку становила 10–15 % поверхні тіла.

У ході експерименту щоденно проводили перев'язки в ділянці опікової травми, оцінювали рухову активність, кількість споживання води та їжі, контролювали масу тварин, реєстрували летальність.

На 7, 14, 21 доби після травми проводили евтаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Кров для дослідження брали з порожнини серця.

Для визначення рівня ендогенної інтоксикації організму експериментальних тварин вивчали токсичність плазми крові обпечених щурів за резистентністю мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу [18], досліджували показники еритроцитарного індексу інтоксикації (EII) [17], визначали рівень молекул середньої маси (MCM) [16].

Отримані в процесі виконання дослідження кількісні показники обробляли методами математичної статистики з розрахунком середніх вибіркового варіант (M), дисперсії (s) та помилок середніх значень (m) у відповідних групах піддослідних тварин і пацієнтів. Вірогідність

відмінностей одержаних результатів у групах порівняння оцінювали за t -критерієм Стюдента. Обчислення проводили на персональному комп'ютері з використанням програм Statistica for Windows. Version 5.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході експериментального дослідження важливими для детального аналізу закономірностей патогенезу опікової травми стали результати біохімічних досліджень у 1-й групі тварин, яким проводили некректомію на 6 добу після травми (табл. 1). З даною метою визначали вміст універсальних біохімічних маркерів ендотоксемії – молекул середньої маси. Це фізіологічно активні компоненти, молекулярна маса яких займає проміжне положення між основним пулом білків плазми та амінокислотами. При цьому визначали гідрофобні фракції молекул з довжиною хвилі 254 нм та гідрофільні фракції з довжиною хвилі 280 нм.

Так, на 7 добу після травми в 1-й групі тварин вміст досліджуваних пептидів зростає майже у 2 рази (на 86,4 %) і залишався на високому рівні на 14 та 21 доби, перевищуючи ці показники здорових щурів на 52,5 і 35,6 % відповідно ($p < 0,05$). Слід відмітити, що зростання даних показників переважно пов'язане зі збільшенням вмісту гідрофобних фракцій MCM, вміст яких на 7 добу експерименту перевищував показники здорових тварин у 2,2 рази ($p < 0,05$). Саме ця токсична фракція (MCM1 – довжина хвилі 254 нм) представлена гідрофобними токсинами, які мають високу спорідненість до біологічних структур.

На різко виражені прояви ендотоксемії в 1-й групі піддослідних тварин вказує показник токсичності сироватки крові за резистентністю еритроцитарних мембран при постановці реакції кислотного гемолізу. На 7 добу після травми, порівняно з інтактними тваринами, даний показник збільшувався на 37,6 % і поступово зменшувався на 14 та 21 доби, перевищуючи норму на 30,4 і 23,4 % відповідно ($p < 0,05$). Таке повільне відновлення резистентності мембран еритроцитів може свідчити про високий вміст токсичних продуктів розпаду тканин у кров'яному руслі, що, очевидно, супроводжується функціональною недостатністю дезінтоксикаційних систем в організмі піддослідних тварин у всі терміни експерименту.

У ході дослідження проявів ендогенної токсемії аналогічну тенденцію спостерігали при визначенні показників еритроцитарного індексу інтоксикації. На 7, 14 та 21 доби після травми в 1-й групі тварин значення вказаного індексу перевищували показники здорових

тварин на 40,1, 29,6 і 21,3 % відповідно. Така динаміка токсичних проявів в ураженому організмі свідчить про виражене зростання проникності еритроцитарних мембран у результаті впливу токсичних агентів, що, у свою чергу, відображає загальний стан клітинних мембран внутрішніх органів і доводить мембранолітичний ефект продуктів розпаду обпечених тканин.

У 2-й групі тварин, яким проводили ранню некректомію з подальшим закриттям ран гідрогелевими пов'язками, динаміка перебігу ендотоксемії у всі дні експерименту різко відрізнялась порівняно з 1-ю групою (табл. 2).

У зазначеному аспекті високоінформативними були результати дослідження впливу гідропов'язок ран на рівень токсемії за показниками МСМ у плазмі крові експериментальних тварин. Уже на 7 добу (рис. 1) після травми в прооперованих щурів вміст МСМ зростав на 44,1 % порівняно з інтактними тваринами і, відповідно, був нижчим, ніж у щурів 1-ї групи, на 42,3 %. На 14 та 21 доби (рис. 2, 3) відзначали активне зменшення вмісту МСМ, що

токсемії у всі дні експерименту різко відрізнялась порівняно з 1-ю групою (табл. 2). У зазначеному аспекті високоінформативними були результати дослідження впливу гідропов'язок ран на рівень токсемії за показниками МСМ у плазмі крові експериментальних тварин. Уже на 7 добу (рис. 1) після травми в прооперованих щурів вміст МСМ зростав на 44,1 % порівняно з інтактними тваринами і, відповідно, був нижчим, ніж у щурів 1-ї групи, на 42,3 %. На 14 та 21 доби (рис. 2, 3) відзначали активне зменшення вмісту МСМ, що

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації у тварин контрольної групи

Показник	Показник здорових тварин	Термін дослідження в 1-й групі піддослідних тварин			p ₇₋₂₁	p _{ctrl-21}
		7 доба	14 доба	21 доба		
КГЕ, ум. од.	81,1±1,2*	50,6±1,5	56,5±1,9	62,2±2,6	>0,05	<0,05
ЕІІ, ум. од.	65,8±1,3*	92,2±1,3	84,7±2,3	79,6±3,6	>0,05	<0,05
МСМ 254 _{nm} , ум. од.	0,25±0,02	0,54±0,03	0,45±0,03	0,42±0,02	<0,05	<0,05
МСМ 280 _{nm} , ум. од.	0,34±0,03	0,57±0,02	0,48±0,04	0,44±0,03	<0,05	<0,05
МСМ	0,59±0,02	1,1±0,01	0,9±0,01	0,8±0,02	<0,05	<0,05

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

1. p₇₋₂₁ – вірогідність різниці в групах тварин між показниками на 7 і 21 доби.
2. p_{ctrl-21} – вірогідність різниці між показниками в групі інтактних і показниками у хворих на 21 добу лікування.

Таблиця 2 – Показники ендогенної інтоксикації в обпечених тварин при застосуванні гідрогелевих пов'язок

Показник	Показник здорових тварин	Термін дослідження в 2-й групі піддослідних тварин			p ₇₋₂₁	p _{ctrl-21}
		7 доба	14 доба	21 доба		
КГЕ, ум. од.	81,1±1,2*	63,5±1,2	68,2±1,7	72,1±2,7	>0,05	<0,05
ЕІІ, ум. од.	65,8±1,3*	77,8±1,8	74,1±2,7	70,1±1,1	>0,05	<0,05
МСМ 254 _{nm} , ум. од.	0,25±0,02	0,42±0,02	0,36±0,02	0,31±0,01	<0,05	<0,05
МСМ 280 _{nm} , ум. од.	0,34±0,03	0,45±0,02	0,43±0,03	0,38±0,02	<0,05	<0,05
МСМ	0,59±0,02	0,85±0,02	0,78±0,03	0,69±0,03	<0,05	<0,05

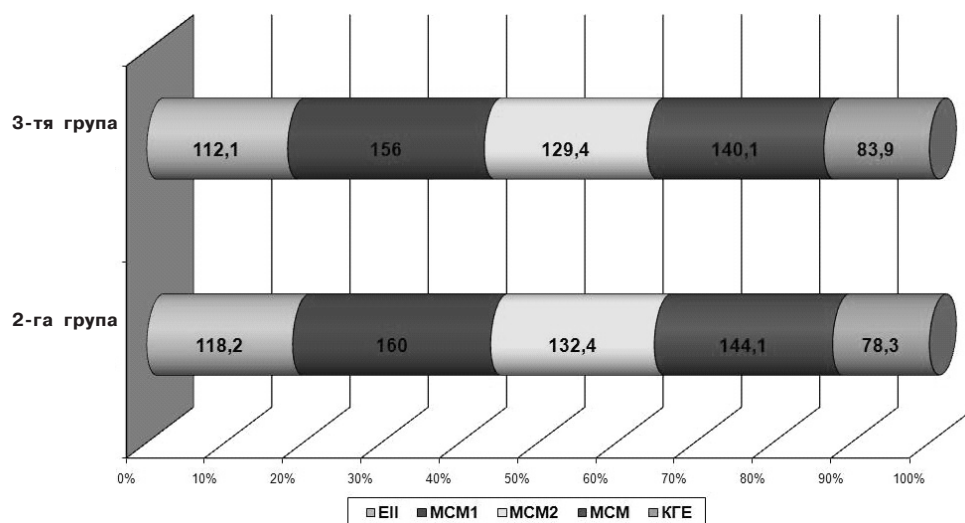


Рис. 1. Характеристика токсемії на 7 добу після травми у тварин з експериментальною опіковою хворобою при застосуванні гідрогелевих монопов'язок (2-га група) та сітчастих гідрогелевих засобів у комбінації з поліуретановими адсорбентами (3-тя група).

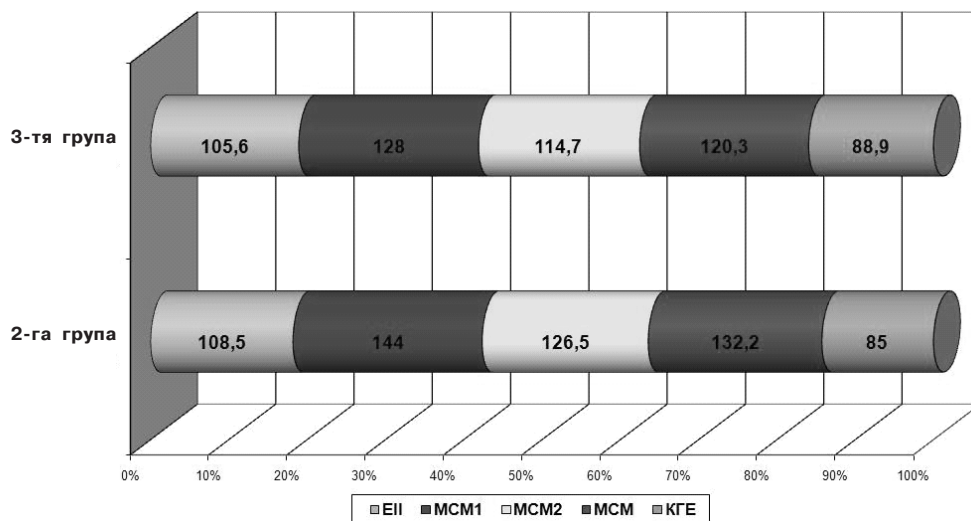


Рис. 2. Характеристика токсемії на 14 добу після травми у тварин з експериментальною опіковою хворобою при застосуванні гідрогелевих монопов'язок (2-га група) та сітчастих гідрогелевих засобів у комбінації з поліуретановими адсорбентами (3-тя група).

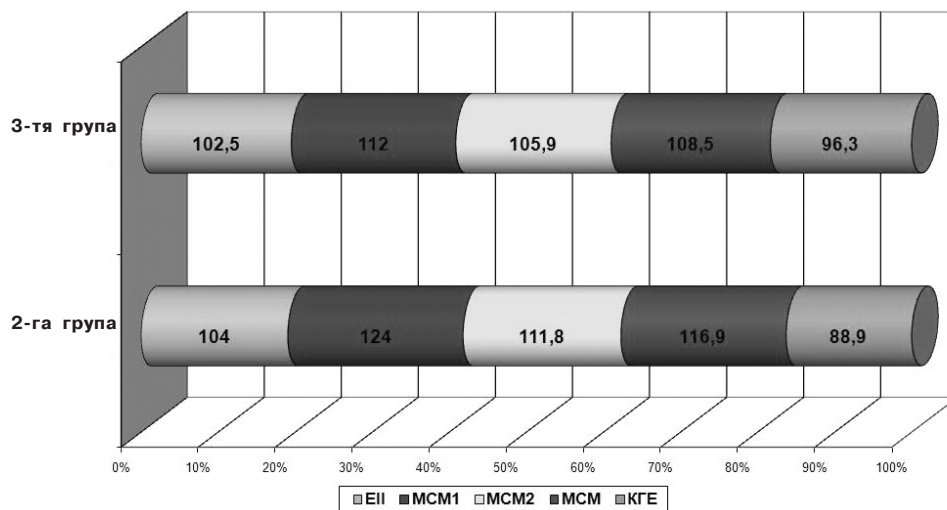


Рис. 3. Характеристика токсемії на 21 добу після травми у тварин з експериментальною опіковою хворобою при застосуванні гідрогелевих монопов'язок (2-га група) та сітчастих гідрогелевих засобів у комбінації з поліуретановими адсорбентами (3-тя група).

перевищувало показники інтактних тварин на 32,2 та 16,9 %, при цьому він був нижчим на 20,3 і 18,7 % від показників щурів 1-ї групи.

Послаблення проявів ендотоксикозу підтвердили дані, отримані під час проведення реакції кислотного гемолізу еритроцитів на 7 добу після травми. При цьому в 2-й групі рівень токсичності плазми крові зростав, порівняно з нормою, на 21,7 %, будучи меншим від показників 1-ї групи на 15,9 %, а на 14 і 21 доби він перевищував норму на 15,7 та 11,4 % і був на 14,2 та 12,6 % нижчим від показників групи тварин, яким проводили традиційне лікування. Вищевказані результати досліджень відображають активне зростання резистентності клітинних мембран до токсинів, а відтак підтверджують ефективність виконання ранньої некр-

ректомії з наступним закриттям ран в обпечених тварин класичними гідропов'язками.

Аналогічні за характером зміни в 2-й досліджуваній групі виявлено при визначенні EII, який перевищував норму на 7, 14 і 21 доби на 19,5, 13,8 та 7,7 % відповідно, а порівняно з показниками 1-ї групи знижувався в ці терміни на 20,6, 15,8 і 13,6 %.

Характерним було істотне зниження показників інтоксикації в експериментальних тварин при закритті операційних ран сітчастими гідрогелевими засобами та сорбуючим поліуретановим покриттям.

На всіх етапах дослідження MCM у 3-й групі щурів чітко позначилася тенденція до зниження їх вмісту (табл. 3). Вже на 7 добу після травми рівень MCM зростав лишень на 40,7 %

Таблиця 3 – Показники ендогенної інтоксикації в обпечених тварин при застосуванні сітчастої гідрогелевої пов'язки та сорбуючого поліуретанового покриття

Показник	Показник здорових тварин	Термін дослідження в 3-й групі піддослідних тварин			p ₇₋₂₁	p _{ctrl-21}
		7 доба	14 доба	21 доба		
КГЕ, ум. од.	81,1±1,2*	68,2±1,3	72,1±1,9	78,1±0,9	>0,05	<0,05
ЕІІ, ум. од.	65,8±1,3*	73,8±1,9	69,5±2,2	67,5±1,2	>0,05	<0,05
МСМ 254 _{nm} , ум. од.	0,25±0,02	0,39±0,02	0,32±0,03	0,28±0,02	<0,05	<0,05
МСМ 280 _{nm} , ум. од.	0,34±0,03	0,44±0,02	0,39±0,02	0,36±0,01	<0,05	<0,05
МСМ	0,59±0,02	0,83±0,04	0,71±0,05	0,64±0,02	<0,05	<0,05

порівняно з показниками інтактної групи тварин, будучи нижчим від показників 1-ї та 2-ї груп піддослідних тварин на 45,7 і 3,4 %. Рівномірне зменшення вмісту МСМ спостерігали на 14 та 21 доби дослідження відносно показників, виявлених на 7 добу. При цьому у вказані терміни, порівняно з показниками інтактної групи тварин, рівень МСМ зростав на 20,3 (на 14 добу) та 6,8 % (на 21 добу) і, таким чином, був нижчим на 32,2 та 28,8 % щодо рівня МСМ у щурів 1-ї групи. Відносно показників 2-ї групи вміст МСМ зменшувався на 11,9 і 10,1 % відповідно.

Найменші прояви токсичності плазми за резистентністю клітинних мембран відзначено в щурів 3-ї групи у реакції кислотного гемолізу еритроцитів. На 7, 14 та 21 доби після травми, порівняно з показниками інтактних тварин, рівень токсичності плазми зростав на 16,0, 11,1 та 3,7 % і, відповідно, був нижчим від даних показників 2-ї групи на 4,8, 4,6 та 7,7 %.

Характерну динаміку у тварин вказаної групи відмічено при вивченні токсемії за еритроцитарним індексом інтоксикації. Проведені дослідження в черговий раз підтвердили високу лікувальну ефективність запропонованого комбінованого ранового покриття, при застосуванні якого на 7, 14 та 21 доби, порівняно з нормою, рівень інтоксикації зростав, відповідно, на 12,2, 5,6 і 2,6 %, будучи нижчим від даних показників 1-ї та 2-ї груп на 27,9, 24,0, 18,7 % і 7,3, 8,2, 5,1 % відповідно.

Така динаміка системних змін, які розвиваються на фоні експериментальноіндуко-

ваної опікової патології в організмах тварин 3-ї піддослідної групи, вказує на виражену дезінтоксикаційну та мембранопротекторну дії гідрогелевого субстрату з адсорбуючим поліуретановим шаром.

ВИСНОВКИ. З огляду на результати аналізу патогенетичних особливостей перебігу опікової хвороби як у стадії токсемії, так і в період септикотоксемії, експериментально доведено, що ранне хірургічне видалення некротичних тканин з наступним закриттям ран гідрогелевими засобами суттєво послаблює прояви ендогенної інтоксикації. Водночас відзначено вищу ефективність хірургічного лікування ран при застосуванні гідрогелевої композиції, носієм якої є трикотажна бавовняно-поліестеролова сітка в комбінації з губчастим покриттям, що виконує функцію активного адсорбента навіть за умов контурної компресії. Сітчаста структура гідрогелевої пов'язки дозволяє контролювати рівень вологого середовища при надмірній ексудації на ранових поверхнях і, разом з цим, забезпечує оптимальний мікроклімат для процесу репаративної регенерації опікових ран у різні терміни опікової хвороби. Механізм активної сорбції гідрогелевого субстрату первинної пов'язки та дрібнопористої губки зумовлює ефективний відтік ранового ексудату і, таким чином, забезпечує очищення рани від запального вмісту та токсичних продуктів розпаду уражених термічним фактором тканин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
2. Використання ліофілізованих ксенодермо-трансплантатів у комбустіології : метод. рекоменда-

ції / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний, В. І. Нагайчук, Н. В. Гуда. – Тернопіль, 2003. – 21 с.

3. Грязін О. Є. Оптимізація раннього хірургічного лікування опікових ран шляхом подолання дефіциту донорських ресурсів шкірного покриву у важко об-

печених : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / О. Є. Грязін. – Харків, 2007. – 20 с.

4. Диагностика и лечение ожоговой травмы : монография / С. А. Усик, А. В. Толстов, У. С. Беслеков [и др.]. – Самара : СамГМУ, 2008. – 106 с.

5. Коваленко О. М. Вплив раннього хірургічного лікування на перебіг і наслідки опікової хвороби у дорослих : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / О. М. Коваленко. – К., 2002. – 28 с.

6. Козинець Г. П. Опікова хвороба / Г. П. Козинець, О. Н. Коваленко, С. В. Слесаренко // Мистецтво лікування. – 2006. – № 12. – С. 9–15.

7. Возможности восстановления утраченного кожного покрова при дермальных опіках / В. І. Нагайчук, Т. В. Бігуняк, Н. В. Гуда, Н. О. Старикова // Шпитальна хірургія. – 2005. – № 2. – С. 63–66.

8. Нагайчук В. І. Патогенетичне обґрунтування раннього хірургічного лікування опечених / В. І. Нагайчук // Вісник Вінницького державного медичного університету ім. М. І. Пирогова. – 2003. – № 2. – С. 724–726.

9. Нагайчук В. І. Раннє оперативне лікування хворих з поверхневими опіками / В. І. Нагайчук // Вісник Вінницького державного медичного університету ім. М. І. Пирогова. – 2006. – **10**, № 1. – С. 48–50.

10. Ожоговая интоксикация. Дифференцированные подходы к детоксикационной терапии [Электронный ресурс] / Г. П. Козинець, С. В. Слесаренко, Б. С. Шейман [и др.] // Комбустиология. – 2003. – № 16–17. – Режим доступа к журн. : <http://www.burn.ru/all/number/show/?id=3542>.

11. Ожоговая интоксикация: патогенез, клиника, принципы лечения / Г. П. Козинець, С. В. Слесаренко, А. П. Радзиховский [и др.]. – К. : МЕДпресс-информ, 2005. – 184 с.

12. Пекарский Д. Е. Острая ожоговая токсемия / Д. Е. Пекарский, О. М. Захарченко // Клини. хирургия. – 1980. – № 3. – С. 55–59.

13. Поплавская О. Г. Прогнозирование развития синдрома полиорганной недостаточности у больных с ожоговой травмой : дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Поплавская Ольга Георгиевна. – Новосибирск, 2009. – 127 с.

14. Потапов В. Л. Регрессионный анализ лабораторных показателей у больных с обширными термическими поражениями [Электронный ресурс] //

Комбустиология. – 2002. – № 11. – Режим доступа к журн. : <http://www.burn.ru/all/number/show/?id=3524>.

15. Система комплексного лікування опікової хвороби з метою профілактики ранових ускладнень при хірургічному відновленні шкірного покриву / О. В. Шаповал, Ю. І. Ісаєв, Т. Г. Григор'єва [та ін.] // Наук. вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2006. – Вип. 27. – С. 73–79.

16. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : метод. рекомендации / Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев [и др.]. – М., 1985. – 18 с.

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

18. Справочник по клинически-лабораторным методам исследования / под ред. Е. А. Кост. – М. : Медицина, 1975. – С. 88.

19. Шаповал О. В. Летальність хворих на опікову хворобу: функціональний аналіз передумов інфузійного лікування / О. В. Шаповал // Актуальные проблемы медицины и биологии. – 2003. – № 1. – С. 370–375.

20. Hadzic Z. Our Five year experience in surgical management of extensive burned patients / Z. Hadzic, S. Cvetanovic, P. Vovacevic // 10-th congress of the international society for burn injuries. – Israel, 1998. – P. 4.

21. Hydrogen peroxide resolves neutrophilic inflammation in a model of antigen-induced arthritis in mice / F. Lopes, F. M. Coelho, V. V. Costa [et al.] // Arthritis Rheum. – 2011. – **10**, № 2. – P. 169–172.

22. Opasanon S. Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial-thickness burns / S. Opasanon, P. Muangman, N. Namviriyachote // Int Wound J. – 2010. – **7**, № 6. – P. 467–471.

23. Park J. B. Healing of extraction socket grafted with deproteinized bovine bone and acellular dermal matrix: histomorphometric evaluation / J. B. Park // Implant Dent. – 2010. – **19**, № 4. – P. 307–313.

24. Pathophysiology of burns / M. Keck, D. H. Hurdon, L. P. Kamolz [et al.] // Wien Med. Wochenschr. – 2009. – **159**, № 13–14. – P. 327–336.

А. О. Ковальчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАННЕГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИДРОГЕЛЕВЫХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ СРЕДСТВ И ГУБЧАТЫХ СОРБИРУЮЩИХ МАТЕРИАЛОВ

Резюме

В работе исследована динамика системных изменений в организме экспериментальных животных по показателям эндогенной интоксикации при проведении ранней некрэктомии ожогового струпа и с

последующим закрытием ран современными гидрогелевыми повязками и сорбирующими губчатыми средствами. Экспериментально доказано, что применение гидрогелевых средств на этапах раннего хирургического лечения беспородных белых крыс ослабляет проявления эндогенной интоксикации у животных. При этом отмечено снижение уровня показателей эритроцитарного индекса интоксикации, молекул средней массы и повышение резистентности эритроцитарных мембран к токсическим продуктам распада тканей в реакции кислотного гемолиза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожоги, эндогенная интоксикация, некрэктомия, гидрогелевые средства.

A. O. Kovalchuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

FEATURES OF ENDOGENOUS INTOXICATION SYNDROME DURING EARLY SURGICAL TREATMENT WITH HYDROGEL REGENERATIVE PRODUCTS AND SPONGE SORBENT MATERIALS

Summary

It was investigated the dynamic of system changes in experimental animals in terms of endogenous intoxication during early necroectomy of burn eschar and subsequent closure of wounds by contemporary hydrogel wound dressing and sponged sorbing agents in this article.. Experimentally was proved that the use of hydrogel agents on the stages of early surgery treatment of rats reduces the evidences of endogenous intoxication in animals. It was observed the reduction of the level of erythrocyte intoxication index, the average molecular weight and increasing of resistance level of erythrocyte membranes to toxic products of tissue destruction in the reaction of acid hemolysis.

KEY WORDS: burns, endogenous intoxication, necrectomy, hydrogel agents.

Отримано 10.10.13

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

А. Ю. Герасимець¹, І. І. Герасимець¹, М. Р. Хара²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. ГНАТЮКА²

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У ГОМОГЕНАТІ РОГІВКИ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ

Біохімічні дослідження гомогенату рогівки кролів при використанні кератоксеноімплантата показали меншу активацію пероксидного окиснення ліпідів порівняно з консервативним способом лікування. Зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки проявилось більшою мірою при корекції травми хірургічним способом лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: непроникна травма рогівки, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

ВСТУП. За умов нормального функціонування організму постійно підтримується динамічна рівновага між про- та антиоксидантною системами. Порушення цієї рівноваги в бік переважання генерації активних форм кисню та їх метаболітів, виснаження антиоксидантної системи і порушення її збалансованості призводять до окиснювального стресу [7, 9, 11]. Окиснювальне пошкодження тканин відіграє ключову роль у розвитку багатьох захворювань органа зору.

Визначення ролі прооксидантних та антиоксидантних систем у динаміці післятравматичного періоду при непроникному пошкодженні рогівки є важливим завданням сучасної офтальмології.

Метою даної роботи було вивчити зміни інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки кроля за умов непроникного її поранення та при його корекції кератоксеноімплантатом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих кролях породи "Шиншила" масою від 2,5 до 3,0 кг із дотриманням норм біоетики. Для оцінки патофізіологічних змін у рогівці після непроникного її поранення тварин було поділено на дев'ять груп: контрольна група – інтактні тварини (6 кролів); 1-ша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після

травми (6 кролів); 2-га дослідна група – через 7 днів після травми (6 кролів); 3-тя дослідна група – через 10 днів після травми (6 кролів); 4-та дослідна група – через 14 днів після травми (6 кролів); 5-та дослідна група – через 3 доби після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 6-та дослідна група – через 7 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 7-ма дослідна група – через 10 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 8-ма дослідна група – через 14 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів).

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали на обох очах кроля під місцевою анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Трепаном діаметром 7 мм у верхній половині рогівки наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом із переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контролювали відтворення ерозії методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флюоресцеїну. Корекцію травми ксенокератоімплантатом здійснювали шляхом пришивання його в 4 місцях (на 12, 15, 18 та 21 год) до склери через кон'юнктиву за допомогою атравматичної голки 8/0 нейлон. Упродовж терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду "Вігамокс" (1 крапля 3 рази на день).

© А. Ю. Герасимець, І. І. Герасимець, М. Р. Хара, 2013.

За умов тіопентало-натрієвого знеболювання (80 мг/кг маси тіла) тварин виводили з експерименту методом повітряної емболії, після чого виконували енуклеацію ока, висікали рогівку та гомогенізували.

Активність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом у гомогенаті рогівки малонового діальдегіду (МДА) [1], стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [7] і каталази [5].

Результати оброблено статистично за допомогою програми STATISTICA ("StatSoft, Inc.", США), дані обчислювали за допомогою критерію Вілкоксона.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Зважаючи на дані таблиці, у групах тварин, яких лікували консервативним способом, вміст МДА в гомогенаті рогівки кролів після травми максимально зростав на 7 добу спостереження та поступово знижувався до рівня контрольної групи на 14 добу. При порівнянні дослідних груп між собою встановили, що концентрація МДА в гомогенаті рогівки на 7 та 10 доби була достовірно вищою у тварин, в яких не використовували ксенокератоімплантат (відповідно, на 15,7 і 6,6 %, $p < 0,05$).

Активність СОД у гомогенаті рогівки кролів у дослідних групах максимально знизилась на 3 добу. Протягом 7–14 днів спостерігали поступове її зростання, проте активність залишалась достовірно меншою, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). У групах з корекцією рогівкового поранення кератоксеноімплантатом відзначали нижчий рівень СОД порівняно з групами без корекції у відповідний термін спостереження ($p < 0,05$).

Активність каталази, навпаки, в дослідних групах була істотно більшою, ніж у контролі ($p < 0,05$). В її динаміці відмічали поступове зростання активності до 10–14 днів спостереження. У групах тварин без корекції травми рогівки величина досліджуваного показника в усі терміни спостереження була статистично достовірно меншою ($p < 0,05$).

Отримані результати свідчать про те, що травматична виразка рогівки супроводжується вираженою інтенсифікацією ПОЛ та зниженням активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту: СОД і каталази. Така закономірність є характерною особливістю багатьох травматичних уражень інших локалізацій [3, 4]. Це пов'язано із безпосереднім пошкодженням, розвитком запалення та гіпоксії, на тлі якої відзначають активацію ПОЛ [2]. За умов використання ксеноімплантата механізми ПОЛ та антиоксидантного захисту видозмінюються. Виражено зменшується інтенсивність ліпопероксидації, що, очевидно, пов'язано з протизапальною дією застосованого методу корекції, оскільки вміст МДА тісно пов'язаний з інтенсивністю запальної реакції [6]. Більше зниження на цьому тлі активності СОД, імовірно, пов'язане із властивістю ксеноімплантата інтенсивно залучати даний фермент для утилізації супероксиданіон-радикала. Підтвердженням цього є і менша активність каталази гомогенату рогівки в корегованих тварин, оскільки даний фермент більшою мірою залучається для нейтралізації гідрогену пероксиду, який утворюється внаслідок дисмутації СОД супероксиданіон-радикала. У цьому, очевидно, й проявляється біостимульовальна дія ксеноімплантатів рогівки, що

Таблиця – Динаміка вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки кроля за умов механічної травми рогівки та її корекції кератоксеноімплантатом ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Контроль (n=6)	Механічна травма рогівки			
		3 доба	7 доба	10 доба	14 доба
МДА, ммоль·л ⁻¹					
Некореговані	7,67±0,08	8,28±0,16*	8,93±0,2*	8,13±0,08*	7,63±0,13
Кореговані		8,15±0,23	7,72±0,08	7,63±0,14	7,78±0,10
p		p>0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05
СОД, %					
Некореговані	44,95±0,51	27,50±0,65*	32,68±0,87*	36,13±0,69*	39,33±0,30*
Кореговані		17,52±0,37*	19,07±0,60*	20,18±0,56*	31,28±1,99*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Каталаза, %					
Некореговані	12,08±0,19	31,97±0,60*	36,85±0,41*	43,42±0,37*	43,9±0,35*
Кореговані		16,65±1,00*	16,48±0,46*	20,70±0,41*	19,57±0,53*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітки:

- * – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи ($< 0,05$).
- p – достовірність відмінностей між групами корегованих і некорегованих тварин.

показано в працях багатьох авторів при використанні ксеноімплантатів іншого походження [8, 10].

Отримані результати націлюють на поглиблене вивчення ксеноімплантації рогівки з метою корекції її механічного пошкодження.

ВИСНОВКИ. 1. Установлено зміни рівня малонового діальдегіду в гомогенаті рогівки експериментальних тварин за умов непроникного її пошкодження та його корекції кератоксеноімплантатом, які достовірно не відрізняються від показника контрольної групи. При консервативному лікуванні вміст малонового діальдегіду вищий, ніж у контрольній групі, з 3 до 10 доби та досягає рівня контрольної групи на 14 добу.

2. При використанні кератоксеноімплантата в гомогенаті рогівки кроля через 3 доби

посттравматичного періоду знижується активність супероксиддисмутази з наступним поступовим її зростанням до 14 доби, що наближається до рівня контрольної групи. У групах тварин, в яких застосовують тільки консервативну терапію, супероксиддисмутаза вища від показників груп з використанням ксенокератоімплантата у відповідні терміни спостереження, проте не досягає рівня контрольної групи.

3. Каталаза в гомогенаті рогівки експериментальних тварин поступово зростає до 14 доби спостереження у групах із консервативним способом лікування та з використанням ксенокератоімплантата. В групах із консервативною терапією рівень каталази вищий у відповідні терміни спостереження порівняно з групами, де застосовували операційний метод лікування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Влияние антиоксидантной и лазерной терапии на состояние мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните / Д. В. Срубиллин, Д. А. Еникеев, В. А. Мышкин [и др.] // Мед. вестн. Башкортостана. – 2009. – № 2. – С. 102–106.
2. Затковська О. Я. Роль попереднього гострого емоційного стресу в перебігу комбінованої травми в експерименті / О. Я. Затковська, А. А. Гудима // Актуал. пробл. транспортної медицини. – 2011. – № 1 (23). – С. 120–123.
3. Костенко В. С. Возможности плазмафереза в комплексной терапии синдрома эндогенной интоксикации. Новый отечественный аппарат для проточного, фильтрационного плазмафереза АПФ-1 “Гемофер” / В. С. Костенко // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2001. – № 2 (Д). – С. 57–59.
4. О влиянии антиоксидантов на выраженность эндотоксикоза при экспериментальном перитоните / А. П. Власов, Т. В. Тарасова, Г. Ю. Судакова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакология. – 2000. – **63**, № 6. – С. 58–61.
5. Практикум по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Т. А. Соловьевой. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.
6. Свободнорадикальные процессы в биосистемах : учеб. пособ. / [Т. Н. Попова, А. Н. Пашков, А. В. Семенихина и др.] – 2008. – 192 с.
7. Brooks D. E. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration / D. E. Brooks, F. J. Ollivier // Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. – 2004. – **34**, № 3. – P. 611–622.
8. Clinical outcomes of xeno-free allogeneic cultivated limbal epithelial transplantation for bilateral limbal stem cell deficiency / S. Basu, M. M. Fernandez, S. Das [et al.] // Br J Ophthalmol. – 2012. – **12**. – P. 1504–1509.
9. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom [et al.] // Biol. Chem. – 2009. – **390**, № 3. – P. 191–214.
10. Hara H. Xenotransplantation—the future of corneal transplantation? / H. Hara, D. K. Cooper // Cornea. – 2011. – **30**, № 4. – P. 371–378.
11. Nagano T. Differential regulation of collagen degradation by rabbit keratocytes and polymorphonuclear leukocytes / T. Nagano, M. Nakamura, T. Nishida // Curr. Eye Res. – 2002. – **24**, № 3. – P. 240–243.

А. Ю. Герасимец¹, И. И. Герасимец¹, М. Р. Хара²
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. ГНАТЮКА²

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОМОГЕНАТЕ РОГОВИЦЫ КРОЛЯ В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ТРАВМЫ РОГОВИЦЫ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ КЕРАТОКСЕНОИМПЛАНТОМ

Резюме

Биохимические исследования гомогената роговицы кролей при использовании кератоксеноимплантата показали меньшую активацию пероксидного окисления липидов в сравнении с консервативным способом лечения. Снижение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты в гомогенате роговицы проявилось в большей мере при коррекции травмы хирургическим способом лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: непроникающая травма роговицы, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита.

A. Yu. Herasymets¹, I. I. Herasymets¹, M. R. Khara²
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
V. HNATIUK TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY²

BIOCHEMICAL CHANGING IN THE RABBIT CORNEAL HOMOGENATE UNDER THE MECHANICAL IMPERMEABLE INJURY AND ITS CORRECTION BY KERATOXENOIMPLANT

Summary

Biochemical research of the rabbit corneal homogenate after using keratoxenoimplant registered the lower activation of the lipid peroxidation compared with the conservative treatment. Decrease activity of the enzymatic link of antioxidant protection in the corneal homogenate manifested to a grater extent after the usage of surgical treatment method.

KEY WORDS: impermeable corneal injury, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Отримано 18.10.13

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

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ОКСИДАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТЕКСТРАКЦІЙНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

У статті наведено результати біохімічних досліджень щодо застосування тіотриазоліну в білих щурів з експериментальним постекстракційним альвеолітом і оцінено ефективність лікування за вмістом у сироватці крові дієнових кон'югатів та трієнових кон'югатів, супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону. Встановлено, що для корекції біохімічних змін при експериментальному постекстракційному альвеоліті доцільно використовувати тіотриазолін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **постекстракційний альвеоліт, тіотриазолін.**

ВСТУП. Актуальність питання щодо з'ясування патогенетичних механізмів розвитку, вдосконалення наявних та створення нових методів лікування постекстракційних альвеолітів є одним із завдань сучасної стоматології, оскільки частота виникнення даної патології складає 20 % від пацієнтів, яким було проведено екстракцію зуба, і може досягати 50 % при видаленні кутніх зубів [1].

Проведені попередні експериментальні дослідження застосування тіотриазоліну при запальних реакціях вказують на ефективність та перспективність його використання [2, 3]. Метою даного дослідження було з'ясувати патогенетичну роль порушень оксидативних процесів у розвитку постекстракційного альвеоліту та оцінити ефективність тіотриазоліну в їх корекції.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на білих безпородних клінічно здорових щурах масою 150–200 г в умовах віварію. Вони перебували на стандартному раціоні, збалансованому за основними елементами харчування. Дослідження виконували з дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001). Щурів поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини (n=10); 2-га – тварини з експериментальним постекстрак-

© А. Є. Демкович, 2013.

ційним альвеолітом на 5 добу дослідження (n=6); 3-тя – тварини з експериментальним постекстракційним альвеолітом на 15 добу дослідження (n=6); 4-та – тварини з експериментальним постекстракційним альвеолітом, які отримували тіотриазолін (n=6). Експериментальний постекстракційний альвеоліт (ЕПА) у піддослідних тварин викликали шляхом ін'єкції у лунці суміші мікроорганізмів, розведеної протеїном. На 5 добу в піддослідних тварин відзначали зміни м'яких тканин нижньої щелепи в ділянці екстракції, які супроводжувались набряком та гіперемією слизової оболонки, їх умертвляли шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом. У щурів 4-ї групи застосовували тіотриазолін шляхом внутрішньом'язових ін'єкцій (100 мг/кг маси тварини) впродовж 5 діб. Для подальших досліджень відбирали сироватку крові. У сироватці визначали вміст ТБК-активних продуктів [4], дієнових і трієнових кон'югатів [7], відновленого глутатіону [13], показники окисної модифікації білків, NO₂-аніона [12], активність супероксиддисмутази [11] та каталази [5, 9]. Отримані результати статистично опрацьовували із застосуванням непараметричних методів статистики [6, 8].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Ін'єкція в лунці суміші мікроорганізмів, розведеної протеїном, призводила до гіперергічного перебігу запального процесу, виражених змін з боку м'яких тканин нижньої щелепи в ділянці екстракції, які супроводжувались набряком та гіперемією слизової оболонки і за характером

прояву наближались до таких змін у людини [10]. При цьому, як видно з даних таблиці, встановлено достовірні зміни ряду порушень прооксидантно-антиоксидантного статусу. Так, на тлі запального процесу відмічали різке підвищення активності ліпопероксидації, про що свідчило збільшення в сироватці крові вмісту ТБК-активних продуктів (у 3,14 раза; $p < 0,01$), дієнових (у 4,06 раза; $p < 0,01$) і трієнових кон'югатів (у 4,07 раза; $p < 0,01$), показників окисної модифікації білків (у 3,19 раза; $p < 0,01$) та NO_2 -аніона (у 2,52 раза; $p < 0,01$) порівняно з інтактними тваринами. Одночасно порушувався антиоксидантний статус, що проявлялось зростанням ферментативної активності супероксиддисмутази і каталази на 90,9 % ($p < 0,01$) та 350,0 % ($p < 0,01$) відповідно порівняно з інтактними тваринами. Аналізуючи показники антиоксидантного захисту, слід звернути увагу також на зниження показників неферментативного захисту – відновленого глутатіону, його вміст становив ($3,69 \pm 0,21$) ммоль/л, тобто був нижчим, ніж показник в інтактних тварин (у 2,15 раза; $p < 0,01$). Отримані експериментальні дані свідчать про дисбаланс прооксидантної та антиокси-

дантної систем як прояв оксидативного стресу (табл.).

Таким чином, порушення оксидативних процесів при розвитку запального процесу в лунці видаленого зуба свідчать про їх патогенетичну роль.

Послаблення запального процесу спостережали на 15 добу експерименту, про що свідчило зменшення вмісту в сироватці крові ТБК-активних продуктів (у 1,23 раза; $p < 0,05$), дієнових (у 1,31 раза; $p < 0,01$) і трієнових кон'югатів (у 1,30 раза; $p < 0,01$), показників окисної модифікації білків (у 1,30 раза; $p < 0,01$) та NO_2 -аніона (у 1,09 раза; $p < 0,05$) порівняно з тваринами з експериментальним постекстракційним альвеолітом на 5 добу дослідження. Одночасно порушувався антиоксидантний захист, що проявлялось зниженням ферментативної активності супероксиддисмутази і каталази на 17,85 % ($p < 0,01$) та 28,39 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно зі щурами з ЕПА на 5 добу дослідження. Аналізуючи показники антиоксидантного захисту, слід звернути увагу також на підвищення показників неферментативного захисту – відновленого глутатіону, його показник становив ($5,38 \pm 0,09$) ммоль/л

Таблиця – Показники прооксидантної та антиоксидантної систем сироватки крові білих щурів при ЕПА ($M \pm m$)

Показник	Група тварин			
	інтактна (n=10)	ЕПА 5 доба (n=6)	ЕПА 15 доба (n=6)	ЕПА та тіотриазолін (n=6)
ТБК активні продукти, ммоль/л	7,47±0,26	23,49±1,31 $p_1 < 0,01$	18,98±0,59 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,05$	15,74±0,20 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
Дієнові кон'югати, ум. од./мл	2,23±0,13	9,06±0,20 $p_1 < 0,01$	6,91±0,14 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$	3,76±0,19 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
Трієнові кон'югати, ум. од./мл	2,23±0,13	9,08±0,20 $p_1 < 0,01$	6,95±0,14 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$	3,74±0,19 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
Окисна модифікація білків, ммоль/мл	2,82±0,17	9,01±0,25 $p_1 < 0,01$	6,92±0,16 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$	4,56±0,35 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
NO_2 аніон, ммоль/л	0,36±0,03	0,91±0,02 $p_1 < 0,01$	0,83±0,02 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,05$	0,56±0,03 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
Супероксиддисмутаза, ум. од./мл	0,44±0,02	0,84±0,02 $p_1 < 0,01$	0,69±0,01 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$	0,58±0,02 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,01$
Каталаза, мкат/л	0,18±0,02	0,81±0,05 $p_1 < 0,01$	0,58±0,04 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,05$	0,40±0,03 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,05$
Відновлений глутатіон, ммоль/л	7,97±0,42	3,69±0,21 $p_1 < 0,01$	5,38±0,09 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$	5,80±0,12 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01, p_3 < 0,05$

Примітки:

1. p_1 – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин.
2. p_2 – достовірність відмінностей відносно тварин з альвеолітом (5 доба).
3. p_3 – достовірність відмінностей відносно тварин з альвеолітом (15 доба).

і був більшим, ніж показник тварин 2-ї групи (в 1,45 рази; $p < 0,01$).

Слід відмітити при цьому також зниження прооксидантної активності сироватки крові тварин 4-ї групи після корекції тіотриазоліном. Так, вміст ТБК-активних продуктів зменшився на 32,99 % ($p < 0,01$), дієнових кон'югатів – на 58,49 % ($p < 0,01$), трієнових кон'югатів – на 58,81 % ($p < 0,01$), продуктів окисної модифікації білків – на 49,38 % ($p < 0,01$) та NO_2 -аніона – на 38,46 % ($p < 0,01$) відповідно порівняно зі щурами з постекстракційним альвеолітом на 5 добу.

У сироватці крові тварин 4-ї групи також істотно знижувалась активність ферментів антиоксидантної системи. Ефективність впливу тіотриазоліну на перебіг запального процесу при даній модельованій патології підтверджувалась зменшенням активності супероксиддисмутази та каталази в сироватці крові (в 1,44 рази; $p < 0,01$ та 2,02 рази; $p < 0,01$), а вміст відновленого глутатіону підвищився (в 1,57 рази; $p < 0,01$) порівняно зі щурами 2-ї групи.

Як свідчать результати досліджень, застосування препарату тіотриазоліну впродовж

5 днів позитивно вплинуло на ряд показників прооксидантно-антиоксидантного захисту у тварин 4-ї групи порівняно з 2-ю групою.

Отже, запропонований нами ефективний спосіб корекції оксидативних порушень сироватки крові білих щурів при експериментальному альвеоліті тіотриазоліном може бути перспективним у подальших дослідженнях.

ВИСНОВКИ. 1. Порушення оксидативних процесів при експериментальному постекстракційному альвеоліті є однією з патогенетичних ланок, що формує характер перебігу і завершення запального процесу.

2. Тіотриазолін ефективно стабілізує прооксидантно-антиоксидантну систему в процесі перебігу експериментального постекстракційного альвеоліту, що проявляється зменшенням вмісту ТБК-активних продуктів, дієнових і трієнових кон'югатів, показників окисної модифікації білків, NO_2 -аніона, зниженням активності супероксиддисмутази та каталази, збільшенням вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Безруков С. Г. Оценка зфффективности лечебно-профилактической повязки, используемой при удалении зуба / С. Г. Безруков // Матеріали Другого українського міжнародного конгресу. – 2006. – С. 184–187.
2. Бибик В. В. Тиотриазолин: фармакология и фармакотерапия (обзор литературы) / В. В. Бибик, Д. М. Болгов // Укр. мед. альманах. – 2000. – 3, № 4. – С. 226–229.
3. Виноградов В. М. Фармакология с рецептурой / В. М. Виноградов, Е. Б. Каткова, Е. А. Мухин. – 5-е изд., испр. – СПб. : Спецлит, 2009. – 864 с.
4. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.
5. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биохимических субстратах / С. В. Гирин // Лаб. диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45–46.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц Спер. с. англ. Ю. А. Данилов, Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
7. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
8. Ланкин Т. Ф. Биометрия / Т. Ф. Ланкин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
10. Хірургічна стоматологія та щелепно-лицева хірургія / [В. О. Маланчук, О. С. Воловар, І. Ю. Гарляускайте та ін.]. – К. : ЛОГОС, 2011. – 672 с.
11. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Analysis of nitrate, nitrite and (^{15}N) nitrate in biological fluids / C. Green, A. W. David, J. Golawski [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – 126, № 1. – P. 131–138.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Biochem. and Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ОКСИДАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТЭКСТРАКЦИОННОГО АЛЬВЕОЛИТА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ТИОТРИАЗОЛИНОМ

Резюме

В статье приведены результаты биохимических исследований относительно применения тиотриазолина у белых крыс с экспериментальным постэкстракционным альвеолитом и оценена эффективность лечения по содержанию в сыворотке крови диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, супероксиддисмутаза, каталазы, обновленного глутатиона. Установлено, что для коррекции биохимических изменений при экспериментальном постэкстракционном альвеолите целесообразно использовать тиотриазолин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: постэкстракционный альвеолит, тиотриазолин.

A. Ye. Demkovych
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF VIOLATIONS OF OXIDATIVE PROCESSES IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL POSTEXTRACTION ALVEOLITIS AND CORRECTION BY THIOTRIAZOLINE

Summary

The results of biochemical studies on the use of thiotriazoline in white rats with experimental postextraction alveolitis and assessed the effectiveness of treatment for maintenance in the blood of diene conjugates, triene conjugates, superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione are presented. It was established that for the correction of biochemical changes in experimental postextraction alveolitis should be used thiotriazoline.

KEY WORDS: postextraction alveolitis, thiotriazoline.

Отримано 12.08.13

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

МІКРОРНК-ОПОСЕРЕДКОВАНЕ ОБМЕЖЕННЯ ПРОЛІФЕРАЦІЇ КЛІТИН ТА КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Мережа клітинних мікроРНК тісно пов'язана із сигнальними каскадами клітини. Пухлинні клітини пригнічують експресію мікроРНК, які викликають сайленсинг проліферативних та антиапоптозних генів, тобто тих мікроРНК, що попереджують несанкціоновану проліферацію і виживання клітин. МікроРНК, експресія яких зростає, пригнічують гени, що кодують інгібітори клітинного циклу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мікроРНК, передача сигналів, сайленсинг, проліферація, канцерогенез.

ВСТУП. МікроРНК (miRNA) являють собою некодуючі РНК, що використовуються клітинами для регуляції експресії генів, боротьби з вірусами, пригнічення поширення транспозонів та інших мобільних елементів у геномі. Більшість miRNA транскрибується зі своїх власних генів, що містять генний промотор і регуляторні сайти, однак близько 40 % miRNA походять з інтронів білок-кодуючих генів, а окремі – навіть з екзонів [7]. miRNA викликають сайленсинг генів на посттранскрипційному рівні, зв'язуючись із мішенями у 3'-некодуючих ділянках транскриптів, а також, згідно з нашими дослідженнями, на транскрипційному рівні, ініціюючи РНК-залежне метилювання ДНК *de novo* [3, 4].

Відсутність або, навпаки, гіперекспресія окремих miRNA часто асоціюється з пухлинним ростом. Зазвичай, мікроРНК miR-15/16, miR-122, miR-31, miR-143, miR-145 та miR-320 у пухлинних клітинах відсутні або експресуються на низькому рівні [2], тоді як miR-18a/b, miR-19, miR-21, miR-29a, miR-155, miR-181, miR-206, miR-210 та miR-221/222 зазнають гіперекспресії [1]. Загалом приблизно 50 % генів miRNA розташовані в ламких та пухлино-асоційованих ділянках геному [6], що вказує на певну універсальну роль miRNA у канцерогенезі.

Метою даної роботи було з'ясувати питання, чому зміни рівнів експресії клітинних miRNA є важливими для канцерогенезу, зокрема, яким

чином ці зміни сприяють проліферації пухлинних клітин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Пошук сайтів зв'язування miRNA у 3'-UTR-ділянках транскриптів генів проводили *in silico* за допомогою програми TargetScan 6.2 (<http://www.targetscan.org>).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У транскриптах генів, що кодують ключові елементи проліферативних сигнальних каскадів, було виявлено численні сайти зв'язування вищеперелічених miRNA (табл.).

Отримані результати свідчать про те, що клітинні miRNA тісно пов'язані із сигнальними каскадами, залежними від онкобілків ErbB2/В3/В4, Akt, NF-κB, Мус, Ras, а також від пухлинних супресорів pTEN, p53, Rb. Трансформовані клітини гіперекспресують ті miRNA, які викликають посттранскрипційний сайленсинг генів, що кодують інгібітори клітинного циклу (p27, p57), а також генів, відповідальних за диференціацію клітин. Зокрема, miR-21 та miR-155 скасовують зупинку клітинного циклу, спричинену активністю рецептора трансформуючого β-фактора росту (TGF-β). miR-19 нівелює pTEN-опосередковане пригнічення PI-3K/Akt-залежного антиапоптозного сигнального каскаду й, отже, сприяє виживанню клітини.

Інші клітинні мікроРНК, зокрема miR-320, miR-31, miR-15a/16, miR-17-5p, miR-125a/b, miR-143, miR-145 (табл.), викликають сайлен-

Таблиця – Мішені miRNA у транскриптах генів елементів сигнальних каскадів клітини

miRNA, експресія яких пригнічується	Мішені	miRNA, експресія яких посилюється	Мішені
miR-15a/16	<i>E2F3, E2F7, CDK6, bcl-2</i>	miR-21	<i>TGFBR</i>
miR-31	<i>E2F2, RASA1</i>	miR-155	<i>E2F2, TGFBR, SIRT1</i>
miR-125a/b	<i>E2F2, STAT3, erbB2, bcl-2</i>	miR-19	<i>pTEN, ESR1</i>
miR-143	<i>abl2, erbB3, bcl-2</i>	miR-23a/b	<i>erbB4, LBR, FAS, NFIB</i>
miR-17-5p	<i>E2F1, E2F2, STAT3, Rb, p107, p130, erbB3, p21</i>	miR-221/222	<i>SCFR (c-Kit), E2F2, p27, p57</i>
miR-145	<i>E2F3, RASA1, RASA2, erbB3</i>	miR-29b	<i>Bak1, Bcl11a, Dnmt3a, RARB, NFIB</i>
miR-320	<i>E2F1, E2F3, RASA1, CDK6</i>	miR-219-5p	<i>Bcl11a</i>
miR-205	<i>E2F1, erbB3, erbB4</i>		

синг проліферативних та антиапоптозних генів, таким чином перешкоджаючи в нормі несанкціонованій проліферації та виживанню клітин. І навпаки, оскільки експресія зазначених мікроРНК у пухлинних клітинах пригнічується, це знімає сайленсинг генів, відповідальних за поділ клітин та ухилення від апоптозу, сприяючи пухлинному росту.

З іншої сторони, що важливо, відзначені зміни в рівнях експресії клітинних miRNA самі по собі дозволяють гіперекспресію клітинних онкогенів та спричиняють репресію генів інгібіторів клітинного циклу. Це дає підстави припускати, що зміна паттерну miRNA є початковою стадією канцерогенезу, і саме завдяки їй мутація клітинних онкогенів та поява несанкціонованих сигналів не викликають апоптозу клітини, що трансформується в пухлинну [5].

ВИСНОВКИ. miRNA, наявні в нормальній клітині, обмежують експресію генів, що кодують білки, відповідальні за поділ клітин та протидію їх апоптозу. При трансформації експресія даних miRNA знижується, а експресія miRNA, здатних спричинити сайленсинг генів інгібіторів клітинного циклу, зростає. Як наслідок, проліферативна активність та ймовірність виживання пухлинних клітин зростають, і в результаті вони отримують можливість накопичуватись, формуючи пухлину. З іншої сторони, miRNA-залежне пригнічення механізмів апоптозу й одночасна активізація антиапоптозних сигнальних каскадів сприяють і більшій стійкості трансформованих клітин до протипухлинних препаратів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A microRNA polycistron as a potential human oncogene / L. He, J. M. Thomson, M. T. Hemann [et al.] // *Nature*. – 2005. – **435**, № 7043. – P. 828–833.
2. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia / G. A. Calin, C. D. Dumitru, M. Shimizu [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2002. – **99**, № 24. – P. 15524–15529.
3. Halytskiy V. A. Hypothesis of initiation of DNA methylation *de novo* and allelic exclusion by small RNAs / V. A. Halytskiy // *Cell Tissue Biol*. – 2008. – **2**, № 2. – P. 97–106.
4. Halytskiy V. A. Mechanism of the initiation of DNA methylation *de novo* by small RNA / V. A. Halytskiy // *Eur. J. Cancer Suppl*. – 2007. – **5**, № 4. – P. 75.
5. Halytskiy V. MicroRNA-mediated restriction of cell proliferation and tumour growth / V. Halytskiy // *Eur. J. Cancer*. – 2011. – **47**, Suppl., № 1. – P. 111.
6. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers / G. A. Calin, C. Sevignani, C. D. Dumitru [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – **101**, № 9. – P. 2999–3004.
7. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units / A. Rodriguez, S. Griffiths-Jones, J. L. Ashurst [et al.] // *Genome Res*. – 2004. – **14**. – P. 1902–1910.

В. А. Галицкий¹, Я. И. Гонский²
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

МИКРОРНК-ОПОСРЕДОВАННОЕ ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК И КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Резюме

Сеть клеточных микроРНК тесно связана с сигнальными каскадами клетки. Опухолевые клетки подавляют экспрессию микроРНК, которые вызывают сайленсинг пролиферативных и антиапоптозных генов, то есть тех микроРНК, которые предупреждают несанкционированную пролиферацию и выживание клеток. МикроРНК, экспрессия которых возрастает, подавляют гены, кодирующие ингибиторы клеточного цикла.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микроРНК, передача сигналов, сайленсинг, пролиферация, канцерогенез.

V. A. Halytskiy¹, Ya. I. Honskiy²
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE¹, KYIV
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

MICRORNA-MEDIATED RESTRICTION OF CELL PROLIFERATION AND CARCINOGENESIS

Summary

Cell microRNA network is intertwined with signal transduction pathways. Cancer cells down-regulate expression of microRNAs that silence proliferative and antiapoptotic genes that is can prevent from abnormal cell proliferation and surviving. Up-regulated microRNAs suppress genes encoding cell cycle inhibitors as well as genes responsible for cell differentiation.

KEY WORDS: microRNA, signal transduction, silencing, proliferation, carcinogenesis.

Отримано 01.10.13

Адреса для листування: В. А. Галицкий, Институт биохимии имени О. В. Палладина НАН Украины, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна, e-mail: volha@biochem.kiev.ua.

**ВИВЧЕННЯ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ДІЇ НОВИХ АЦИЛГІДРАЗИДІВ
2-(5-R-4-R₁-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ**

Проведення первинного фармакологічного скринінгу вперше синтезованих сполук гетероциклічної природи є одним із найважливіших етапів у створенні оригінальних лікарських засобів. Особливої уваги заслуговує дослідження протитуберкульозної активності похідних 1,2,4-тріазолу. Метою роботи було вивчити протитуберкульозну активність нових ацилгідрозидів 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетатних кислот, що, за результатами комп'ютерного прогнозування, мають найбільші показники даного виду дії, а також встановити закономірність між хімічною будовою досліджуваних речовин і показником їх протитуберкульозної активності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-тріазоли, протитуберкульозна активність.

ВСТУП. Постійне зростання кількості захворювань, викликаних патогенною мікрофлорою, посилення резистентності мікроорганізмів до існуючих лікарських засобів викликають попит фармацевтичного ринку на нові протимікробні засоби. Тому великий науковий потенціал спрямовано на пошук нових оригінальних лікарських засобів з високою бактерицидною та бактеріостатичною активністю, а також на модифікацію існуючих ліків з метою підвищення їх активності та зменшення токсичності [2, 4]. Особливої уваги заслуговує дослідження протитуберкульозної активності, в тому числі похідних 1,2,4-тріазолу [6, 7]. При цьому слід зазначити, що захворювання на туберкульоз в Україні, за офіційними даними, перебуває на рівні епідемії. Тому, займаючись пошуком біологічно активних речовин серед похідних 1,2,4-тріазолу, на першому етапі дослідження ми, за допомогою програми PASS, провели комп'ютерне прогнозування можливих видів фармакологічної активності нових синтезованих сполук. Результати комп'ютерного прогнозування показали [3], що ряд нових синтезованих нами ацилгідрозидів 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетатних кислот [1] є перспективним класом щодо вивчення їх протитуберкульозної дії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Протитуберкульозну активність досліджували в Запорізькому обласному клінічному тубдиспансері (головний лікар О. І. Ахтирський).

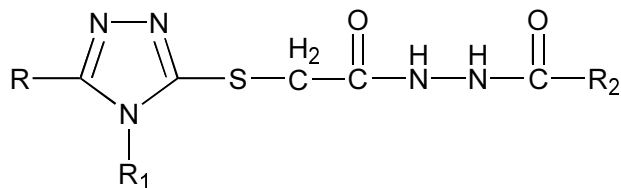
© А. Г. Каплаушенко, 2013.

В основу дослідження взято створення нових біологічно активних сполук, хімічна структура яких забезпечує вищу активність відносно мікобактерій туберкульозу.

Сполуки (1–11, табл.), які вивчали, було взято для дослідження в концентрації 0,2 мг/мл середовища, ідентичній концентрації ізоніазиду в середовищі Левенштейна–Йенсена при вивченні стійкості до антибіотиків за методом Каретті *in vitro*. Як культуру, обрану для тестування, використовували лабораторний штам H37RV, чутливий до антибактеріальних препаратів групи ПНК. Середовище Левенштейна–Йенсена з отриманою концентрацією досліджуваних речовин розливали по 5,0 мл у стерильні пробірки та згортали в скошеному вигляді при 85 °С протягом 30 хв в апараті для згортання сироватки крові. На готове середовище засівали суспензію лабораторного штаму H37RV, відкалібровану за стандартом мутності – 1 McF (300·10⁶ мікротіл в 1,0 мл) та розведену до 10⁻⁴ стерильним фізіологічним розчином. Посіви інкубовано в термостаті при 37 °С. Облік результатів проводили через 3–4 тижні при появі хорошого росту на контрольних посівах. Як еталон порівняння застосовували ізоніазид, активність якого брали за 100 %. При цьому як параметр активності використовували розмір зони, що займає штам мікобактерій туберкульозу після інкубації.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень, наведені в таблиці, свідчать про досить високу протитуберкульозну активність

Таблиця – Будова та протитуберкульозна активність ряду нових ацилгідрозидів 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот



№ сполуки	R ₁	R	R ₂	Активність, %
1	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	CH ₃	110
2	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	120
3	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₄ N-4	100
4	H	C ₆ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ N-4	50
5	H	C ₄ H ₃ -2	CH ₃	75
6	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ N-2	C ₆ H ₄ N-4	10
7	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ N-3	C ₆ H ₄ N-4	50
8	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₆ H ₄ N-4	CH ₃	10
9	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₆ H ₄ N-4	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ -3,5	25
10	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₄ H ₃ -2	C ₆ H ₄ N-3	75
11	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₄ H ₃ -2	C ₆ H ₄ N-4	75
Ізоніазид				100

сполук. Слід відзначити, що сполука 4, яка містить при C₅-атомі 1,2,4-тріазолового циклу, а також за гідразіноацильною групою залишки піридину, тобто є структурним аналогом ізоніазиду, має незначну активність порівняно з вищезазначеним еталонним препаратом. Не підсилює досліджуваної активності також введення замісників ароматичного характеру в четверте положення ядра 1,2,4-тріазолу (сполуки 6–9) та 3,5-динітрофенільного радикала в гідразіноацильний фрагмент (речовина 9). Речовини (5, 10, 11), що містять при п'ятому атомі карбону 1,2,4-тріазолового циклу залишки фурану, незалежно від наявності та характеру інших замісників, проявляють однакову протитуберкульозну дію, але не перевищують за активністю еталонний препарат.

Особливо слід звернути увагу на 2 сполуки: N'-ацетил-2-(5-(4-нітрофеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетгідрозид (сполука 1) та N'-(2-(5-(4-нітрофеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетил)бензгідрозид (сполука 2), що проявляють високу

активність відносно мікобактерій туберкульозу і перевищують за активністю еталон порівняння – ізоніазид. N'-(2-((5-(4-нітрофеніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетил)ізонікотиногідрозид (сполука 3) за показником досліджуваної дії має протитуберкульозний ефект, аналогічний еталону порівняння. Зниження активності сполуки 3, порівняно з речовинами 1, 2, пояснюється введенням залишку піридину.

Пріоритет та наукова новизна дослідження протитуберкульозної активності підтверджено патентом України [5].

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено протитуберкульозну дію ряду нових ацилгідрозидів 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот, що, за результатами комп'ютерного прогнозування, повинні проявляти вищезгадану активність.

2. Встановлено закономірності здатності синтезованих речовин пригнічувати ріст і розмноження мікобактерій туберкульозу залежно від наявності й характеру замісників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Каплаушенко А. Г. Синтез і антиоксидантна активність N-32-35-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіоацетогідрозидів / А. Г. Каплаушенко, Д. С. Кравець, Л. В. Чадова // Мед. хімія. – 2008. – № 3 з10а – С. 50–53.

2. Кныш Е. Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства N- и S-замещенных 1,2,4-

триазола : дис. ... д-ра фармац. наук / Е. Г. Кныш. – Х., 1987. – 350 с.

3. Комп'ютерне прогнозування можливих видів біологічної активності S-похідних 1,2,4-тріазола / А. С. Гоцуля, А. Г. Каплаушенко, В. В. Парченко [та ін.] // Запорозж. мед. журн. – 2008. – № 1. – С. 122–124.

4. Панасенко О. І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості аміно- і тіопхідних 1,2,4-тріазолу : дис. ... д-ра фармац. наук / О. І. Панасенко. – К., 2005. – 396 с.

5. Пат. на корисну модель № 50129 Україна, МПК 2009 C07D 249/08 (2006.01) A61K31/41. Похідні 1,2,4-тріазолу, що виявляють протитуберкульозну активність / Книш Є. Г., Панасенко О. І., Парченко В. В. [та ін.] Заявник та патентовласник Запорізь. держ. мед. ун-т та автори. – № у 2009 12672 Заявл. 07.12.09 Сопубл. 25.05.10, Бюл. № 10.

6. Synthesis, reaction and tuberculostatic activity of N-methyl-N'-(pyrazine-2-carbonyl)-hydrazinecarbo-dithionic acid methyl ester / K. Gobis, H. Foks, Z. Zwolska, E. Augustynowics-Kopec // Phosp., Sulfur and Silicon and Relat. Elem. – 2006. – **181**, N 5. – P. 965–975.

7. Synthesis, reactivity, and tuberculostatic activity of 4-hydroxyalkyl-5-pyrazinyl-4H-[1,2,4]-triazole-3-thiones / H. Foks, M. Janowiec, Z. Zwolska E. Augustynowics-Kopec // Phosp., Sulfur and Silicon and Relat. Elem. – 2004. – **179**, N 12. – P. 2519–2526.

А. Г. Каплаушенко

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ АЦИЛГИДРАЗИДОВ 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО)АЦЕТАТНЫХ КИСЛОТ

Резюме

Проведение первичного фармакологического скрининга впервые синтезированных соединений гетероциклической природы является одним из важнейших этапов в создании оригинальных лекарственных средств. Особого внимания заслуживает исследование противотуберкулезной активности производных 1,2,4-триазола. Целью работы было изучить противотуберкулезную активность новых ацилгидразидов 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатных кислот, которые, по результатам компьютерного прогнозирования, имеют наибольшие показатели данного вида действия, а также установить закономерность между химическим строением исследуемых веществ и показателем их противотуберкулезной активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **1,2,4-триазолы, противотуберкулезная активность.**

А. Н. Kaplaushenko

ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE STUDY OF NEW ANTITUBERCULOSIS ACYLHYDRAZIDES 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-TRIAZOLE-3-YLTIO)ACETIC ACID

Summary

Conducting the initial pharmacological screening of new synthesized heterocyclic compounds is one of the most important steps in the creation of original drugs. The study of anti-TB activity of 1,2,4-triazole derivatives deserves special attention. The purpose of our work is the study of new anti-TB acylhydrazides 2-(5-R-4-R₁-1,2,4-triazoles-3-yltio)acetic acids, which have the highest rates of this type of activity according to the results of computer prediction, and establishing of relationship between chemical structure of these substances and the rate of anti-TB activity.

KEY WORDS: **1,2,4-triazoles, antituberculosis activity.**

Отримано 23.10.13

Адреса для листування: А. Г. Каплаушенко, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна, e-mail: kaplaushenko@ukr.net.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ІОНІВ КАДМІЮ

Вивчено вплив кадмію хлориду на генерацію активних форм кисню. За цих умов підвищуються продукція супероксид-аніон-радикала, швидкість утворення гідроксильного радикала та вміст пероксиду водню. Досліджено стан ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи. Виявлено пригнічення активності супероксиддисмутази та зниження концентрації сечової кислоти. Встановлено, що токсичний вплив іонів кадмію викликає оксидативний стрес.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксидативний стрес, кадмію хлорид, вільні радикали, антиоксидантна система.

ВСТУП. Токсичність важких металів як широко розповсюджених полютантів зумовлює пильну увагу дослідників щодо забруднення ними навколишнього середовища. При цьому кадмій відносять до найбільш небезпечних важких металів, оскільки він володіє високим кумулятивним ефектом, що не піддається біодеградації, і практично не виводиться з організму [4]. Підвищений вміст кадмію в навколишньому середовищі призводить до зміни інтенсивності та спрямованості багатьох метаболічних процесів у клітині [5]. Зокрема, встановлено, що однією з неспецифічних реакцій на іони кадмію є розвиток у клітинах оксидативного стресу, основу якого складає утворення надмірної кількості активних форм кисню (АФК) [1].

У формуванні стійкості до вільнорадикального пошкодження велика роль належить функціонуванню ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантного захисту. Структура ферментів-антиоксидантів передбачає наявність великого числа сульфгідрильних груп, що визначають просторову конформацію протеїнів. Іони кадмію здатні швидко реагувати із SH-групами у водному середовищі, а також заміщувати цинк в активних центрах ферментів, що призводить до порушення їх функціонування. Тому метою даної роботи було виявити вплив іонів кадмію на генерацію активних форм кисню та деякі показники антиоксидантної системи.

© М. В. Кирилів, 2013.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували у віварії на стандартному раціоні. Тварин було поділено на дві групи: 1-ша група – інтактні тварини; 2-га – щури, уражені кадмію хлоридом. Токсичне ураження викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення щурам водного розчину кадмію хлориду в дозі 7 мг/кг маси тіла тварини [2]. Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом на 1-шу, 4-ту, 7-му, 10-ту доби від моменту ураження згідно з правилами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [10]. Дослідженню підлягали плазма крові та печінка.

Продукцію супероксид-аніон-радикала ($O_2^{\cdot-}$) визначали за тестом з нітросинім тетразолієм у печінці зі специфічними індукторами НАДФН і НАДН для оцінки, відповідно, ролі мікросом та мітохондрій у цьому процесі [6]. Швидкість утворення гідроксильного радикала (OH^{\cdot}) вивчали за його здатністю окиснювати 2-дезоксирибозу, що розпадається до малонового діальдегіду. Останній з тіобарбітуровою кислотою дає забарвлений комплекс [9]. Вміст пероксиду водню (H_2O_2) визначали спектрофотометричним методом за знебарвленням перманганату калію при внесенні кислоторозчинної фракції, що містить H_2O_2 [3]. Активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] досліджували методом [7], який

полягає у здатності СОД конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, що утворюються в результаті аеробної взаємодії НАДН з феназинметасульфатом. Концентрацію сечової кислоти визначали із застосуванням стандартної добірки реактивів фірми “Філісит Діагностика” (м. Дніпропетровськ).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Excel (Microsoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У наукових роботах зустрічаються публікації, в яких ідеться про те, що кадмій не може брати безпосередню участь в утворенні вільних радикалів кисню та азоту, але таке продукування з участю даного металу відбувається опосередковано [13]. Деякі автори пояснюють утворення вільних радикалів, ініційоване кадмієм, так: кадмій витісняє іони заліза та міді з цитоплазматичних і мембранних білків, які, у свою чергу, ініціюють продукування вільних радикалів у реакціях Фентона [11, 15]. У ході наших досліджень виявлено збільшення продукції активних форм кисню. Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, утворення всіх досліджуваних АФК підвищилося під впливом кадмію хлориду. Зокрема, загальна (нестимульована) продукція супероксид-аніон-радикала в печінці максимально зросла на 4-ту добу від моменту введення токсиканта і становила 186 % від рівня інтактних тварин. На 7-му та 10-ту доби експерименту швидкість утворення цього радикала знизилася і складала, відповідно, 122 та 103 % від рівня в контрольних щурів. При зміні умов функціонування дихального ланцюга в ньому також можливе одоелектронне відновлення

кисню. Це пояснюється тим, що його спорідненість до убіхінону стає більшою, ніж до цитохромоксидази. Ми досліджували продукцію $O_2^{\cdot-}$ в мітохондріальному та мікросомальному електронно-транспортних ланцюгах при її стимулюванні редукованими НАДФ і НАД. Генерування $O_2^{\cdot-}$ від цих систем було значно вищим в уражених тварин, ніж в інтактних, проте менш вираженим на 4-ту добу порівняно із загальною (нестимульованою) продукцією. Однак у мітохондріальному ланцюгу вона зростала вже з 1-ї доби і тривала до 4-ї.

Зокрема, стимульована за допомогою НАДФН продукція $O_2^{\cdot-}$ від мікросомального електронно-транспортного ланцюга становила на 1-шу добу 105 %, на 4-ту – 117 %, на 7-му – 110 % і на 10-ту – 102 % від рівня в інтактних тварин. Стимульоване за допомогою НАДН генерування $O_2^{\cdot-}$ від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга зростало більшою мірою та становило на 1-шу і 4-ту доби, відповідно, 129 та 126 %, а на 7-му і 10-ту – 114 та 101 % від продукції аналогічного показника в щурів контрольної групи. Отже, найбільша роль в утворенні супероксид-аніон-радикала належить мітохондріям. Ці дані узгоджуються з результатами інших авторів [8].

Пероксид водню в прямому значенні не є вільним радикалом, але має здатність ініціювати вільнорадикальне окиснення, його вважають цитотоксичною сполукою. Зафіксовано значне зростання під впливом $CdCl_2$ концентрації H_2O_2 в плазмі крові, яка становила 159 та 156 %, порівняно зі щурами контрольної групи, на 1-шу і 4-ту доби від моменту введення токсиканта. У пізніші терміни експерименту концентрація H_2O_2 починала повільно знижуватися, проте до 10-ї доби складала 145 % від

Таблиця 1 – Продукція активних форм кисню в печінці та плазмі крові тварин, уражених кадмію хлоридом ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Досліджуваний матеріал	Група тварин				
		інтактні	уражені кадмію хлоридом			
			1-ша доба	4-та доба	7-ма доба	10-та доба
$O_2^{\cdot-}$ (загальна продукція), мкмоль/(с·кг)	Печінка	0,73±0,02	0,75±0,02	1,37±0,10 $p_1 < 0,05$	0,89±0,03 $p_1 < 0,05$	0,75±0,03
$O_2^{\cdot-}$ (продукція від мікросом), мкмоль/(с·кг)	Печінка	15,33±0,33	16,02±0,43	17,97±0,53 $p_1 < 0,05$	16,94±0,53	15,66±0,90
$O_2^{\cdot-}$ (продукція від мітохондрій), мкмоль/(с·кг)	Печінка	16,77±0,46	21,55±0,44 $p_1 < 0,05$	21,16±0,90 $p_1 < 0,05$	19,11±0,44 $p_1 < 0,05$	17,00±0,86
H_2O_2 , г/кг білка	Плазма крові	0,40±0,01	0,63±0,02 $p_1 < 0,05$	0,62±0,03 $p_1 < 0,05$	0,59±0,01 $p_1 < 0,05$	0,58±0,02 $p_1 < 0,05$
ОН [·] ум. од.	Печінка	4,53±0,11	5,75±0,23 $p_1 < 0,05$	6,60±0,17 $p_1 < 0,05$	5,39±0,27 $p_1 < 0,05$	4,89±0,20

Примітка. Тут і в наступній таблиці: p_1 – відмінності вірогідні порівняно з інтактними тваринами.

рівня в інтактних тварин, тобто залишалася вірогідно високою. За звичайних умов H_2O_2 розкладається під дією ферментів каталази й глутатіонпероксидази, тому його концентрація в біологічних рідинах не є високою. Різде зростання вмісту цього метаболіту, можливо, зумовлене взаємодією іонів важких металів із SH-групами ферментів-антиоксидантів і, як наслідок, зниженням їх активності [12]. Пероксид водню не є вільним радикалом, але має здатність ініціювати вільнорадикальне окиснення, тому його вважають цитотоксичною сполукою. Але найбільша шкода від H_2O_2 полягає в тому, що в реакції Хабер-Вейса він, взаємодіючи із супероксид-аніон-радикалом, утворює найнебезпечніший гідроксильний радикал [1]. При інтоксикації кадмієм продукція $OH\cdot$ найбільше зросла на 4-ту добу дослідження і становила 145 % від рівня продукції цього радикала в інтактних тварин. Але в наступні доби експерименту його вміст поступово знижувався і на 7-му добу був вищим від такого в інтактних тварин на 19 %, а на 10-ту – на 8 % й істотно не відрізнявся від контролю.

Ці дані свідчать про те, що кадмій як важкий метал значно змінював рівновагу продукції АФК, але утворення більшості радикалів наблизилося до норми на момент завершення експерименту.

За умов кадміїндукованого оксидативного стресу показники антиоксидантної системи зазнавали змін. Результати досліджень показали пригнічення як ферментативної (СОД), так і неферментативної (сечова кислота) ланок цієї захисної системи (табл. 2).

Одним із головних механізмів захисту є функціонування антиоксидантних ферментів, які розкладають H_2O_2 , зокрема СОД. Активність цього ензиму зазнавала майже однакового пригнічення на 1-шу і 4-ту доби експерименту, що становило приблизно 78 % від активності в інтактних тварин. З наступних 7-ї та 10-ї діб дослідження мало місце незначне підвищен-

ня активності СОД, але рівня неуражених щурів вона не досягала і складала 81 та 86 % відповідно ($p_1 < 0,02$). Отже, впродовж усього експерименту під впливом кадмію хлориду спостерігали зниження активності СОД. Дія важких металів на інгібування супероксиддисмутази, можливо, зумовлена зв'язуванням SH-груп ферменту і денатурацією його молекули. Автор E. Casalino у своїй роботі припускає, що кадмій, імовірно, зв'яже імідазольну групу гістидину-74 в молекулі супероксиддисмутази, що і блокує її діяльність [12]. Інтенсивніше зниження функціонування СОД спричиняє, очевидно, підвищена концентрація пероксиду водню, що, як відомо, є інгібітором реакції дисмутації супероксидних радикалів.

Крім ферментативної ланки антиоксидантної системи, в організмі присутній ряд низькомолекулярних сполук, що проявляють подібну дію. До них належить сечова кислота, яка є "пасткою" для вільних радикалів, оскільки може реагувати з ними, утворюючи малоактивні радикали уратів [14]. Цим сечова кислота інгібує утворення пероксидних радикалів і захищає ліпопротеїни сироватки крові від окиснення. Концентрація сечової кислоти при збільшенні продукції АФК різко знижувалася. Мінімального значення вміст сечової кислоти досягав на 4-ту добу від моменту інтоксикації важким металом і становив 54 % від її рівня в неуражених щурів, але відновлення концентрації цього антиоксиданту було більш позитивним, ніж активності СОД, і на 10-ту добу експерименту складало 97 %, що вірогідно не відрізнялося від рівня в інтактних тварин. Зменшення вмісту сечової кислоти, очевидно, може бути наслідком зниження активності ксантинооксидази в результаті впливу іонів кадмію, що як прооксиданти переводять молекулярний кисень в активні форми, позбавляючи, таким чином, ксантинооксидазу субстрату, необхідного для утворення цього продукту.

Таблиця 2 – Динаміка показників антиоксидантної системи в печінці та плазмі крові тварин з кадмієвою інтоксикацією ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Досліджуваний матеріал	Група тварин				
		інтактні	уражені кадмію хлоридом			
			1-ша доба	4-та доба	7-ма доба	10-та доба
СОД, 10^6 ум. од./кг	Печінка	$1,45 \pm 0,07$	$1,13 \pm 0,07$ $p_1 < 0,05$	$1,12 \pm 0,05$ $p_1 < 0,05$	$1,17 \pm 0,05$ $p_1 < 0,05$	$1,24 \pm 0,03$ $p_1 < 0,05$
Сечова кислота, мкмоль/л	Плазма крові	$345,56 \pm 14,71$	$287,11 \pm 15,28$	$187,49 \pm 16,85$ $p_1 < 0,05$	$262,48 \pm 11,31$ $p_1 < 0,05$	$334,55 \pm 10,53$

ВИСНОВКИ. 1. Іони кадмію діють в організмі як прооксиданти, підвищують інтенсивність

утворення активних форм кисню та викликають оксидативний стрес.

2. Вплив кадмію хлориду пригнічує функціонування антиоксидантної системи, зокрема

знижуються активність супероксиддисмутази та вміст сечової кислоти.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах [Электронный ресурс] / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – **6**, № 12. – С. 13–19. — Режим доступа до журн. : http://window.edu.ru/window_catalog/files/r20568/0012_013.pdf
2. Губский Ю. И. Химические катастрофы и экология / Ю. И. Губский, В. Б. Долго-Сабуров, В. В. Храпак. – К. : Здоров'я, 1993. – 224 с.
3. Данилович Ю. В. Взаимосвязь образования NO та H₂O₂ и их роль в регуляции ионного гомеостаза клеток / Ю. В. Данилович // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 3. – С. 5–18.
4. Киреев Р. А. Влияние ионов кадмия на свободнорадикальные процессы и активность Na⁺, K⁺-АТФ-азы в тканях крыс / Р. А. Киреев // Токсикол. вестник. – 2005. – № 4. – С. 12–15.
5. Окислительный стресс и уровень антиоксидантных ферментов в органах *triticosecale* при действии кадмия / А. Р. Гарифзянов, И. А. Ермакова, Ю. О. Пантюхин, В. В. Иванищев // *Fundamental research*. – 2012. – № 4. – С. 190–195.
6. Почерняева В. Ф. Определение источников активных форм кислорода / В. Ф. Почерняева, О. И. Цебржинский, Н. В. Шиш // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 214–215.
7. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лаб. дело*. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
8. Cadenas E. Mitochondrial Free Radical Generation Oxidative Stress and Aging / E. Cadenas, K. J. A. Davies // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – **29**, № 3–4. – P. 222–230.
9. Chung S.-K. Hydroxy radical scavengers from white mustard (*Sinapis alba*) / S.-K. Chung, T. Osawa // *Food Science and Biotechnology*. – 1998. – **7**, № 4. – P. 209–213.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
11. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis / M. Waisberg, P. Joseph, B. Hale, D. Beyersmann // *Toxicology*. – 2003. – № 192. – P. 95–117.
12. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium / E. Casalino, G. Calzaretto, C. Sblano, C. Landriscina // *Toxicology*. – 2002. – № 30. – P. 37–50.
13. Nedoluzhko A. I. Enzymatic oxidation of cadmium and lead metals photodeposited on cadmium sulphide / A. I. Nedoluzhko, I. A. Shumilin, L. E. Mazhrova // *Bioelectrochemistry*. – 2001. – **53**, № 1. – P. 61–71.
14. Waring W. S. Uric acid: an important antioxidant in acute ischemic stroke / W. S. Waring // *Q J Med.* – 2002. – **95**. – P. 691–693.
15. Watjen W. Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress / W. Watjen, D. Beyersmann // *Biometals*. – 2004. – № 17. – P. 65–78.

М. В. Кирилив

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВЛИЯНИИ ИОНОВ КАДМИЯ

Резюме

Изучено влияние кадмия хлорида на генерацию активных форм кислорода. В этих условиях повышаются продукция супероксид-анион-радикала, скорость образования гидроксильного радикала и содержание пероксида водорода. Исследовано состояние ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы. Обнаружено угнетение активности супероксиддисмутазы и снижение концентрации мочевой кислоты. Установлено, что токсическое воздействие ионов кадмия вызывает оксидативный стресс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксидативный стресс, кадмия хлорид, свободные радикалы, антиоксидантная система.

OXIDATIVE STRESS IN WHITE RATS IN CASE OF CADMIUM IONS TOXIC INFLUENCE

Summary

The effect of cadmium chloride on the generation of reactive oxygen species was studied. In these conditions, production of superoxide anion radical, hydroxyl radical and contents of hydrogen peroxide is increased. The state of enzymatic and non-enzymatic parts of antioxidant system units was investigated. Superoxide dismutase revealed suppression of the activity and reduce the concentration of uric acid. It was found that the toxicity of cadmium ions causes oxidative stress.

KEY WORDS: oxidative stress, cadmium chloride, free radicals, antioxidant system.

Отримано 06.09.13

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

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ОРГАНІЗАЦІЇ АРТЕРІАЛЬНОГО РУСЛА МАТКИ У КЛІМАКТЕРИЧНОМУ ВІЦІ ПРИ ОЖИРІННІ

Розглянуто актуальну проблему дисфункціональних маткових кровотеч у жінок клімактеричного віку, які страждають від надлишкової маси тіла або ожиріння. Проведено експериментальне дослідження морфологічного стану артерій матки як одного з визначальних факторів гемостазу. В ході експерименту було з'ясовано особливості реакції інтра- та екстраорганних маткових артерій, які на тлі гормональної дисфункції, а саме гіперестрогенемії, можуть стати причиною виникнення та суттєвого подовження маткової кровотечі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ожиріння, артерії, матка.

ВСТУП. Роль метаболічних порушень у патогенезі ендокринних гінекологічних захворювань на сучасному етапі не викликає жодних сумнівів [1, 2, 7]. Особливої уваги заслуговує проблема виникнення порушень менструальної функції, а саме надмірних маткових кровотеч, при надлишковій масі тіла та при ожирінні у жінок менопаузального віку. За даними ВООЗ, від 64 до 86 % жінок цієї вікової категорії населення мають проблеми з надлишковою масою, а надмірні кровотечі клімактерію зустрічаються з частотою 10–25 % [4, 8]. Відомо, що з віком м'язова та кісткова маса зменшується і, паралельно, збільшуються жирові відкладення. На фоні поступового згасання функції яєчників деяке накопичення жирової тканини при вихідній низькій або нормальній масі тіла, очевидно, має компенсаторно-захисне значення, оскільки вона містить ферменти, які перетворюють андрогенні попередники в естрогени, і, таким чином, “згладжує” симптоми естрогенного дефіциту [3, 5, 6]. На сьогодні доведеним є той факт, що естрогени здійснюють протекторний вплив на судинний тонус і сприяють нормалізації артеріального тиску в жінок у менопаузальний період. Однак судинний фактор, поряд із коагуляційними механізмами і тромбоутворенням у поверхневих кровоносних судинах, має одне з ключових значень у гемостазі матки [4, 8]. Тому відсутність координації механізмів гемостазу на тлі гормонального

© С. М. Геряк, 2013.

дисбалансу може призводити до нерегулярних і часто надмірних маткових кровотеч. Визначення зв'язку і можливої ролі ожиріння в патогенезі розвитку надмірних маткових кровотеч у жінок менопаузального віку дозволить ефективніше попереджувати і лікувати маткові кровотечі в цей період жінки.

Тому метою даного дослідження було з'ясувати морфологічні особливості ремоделювання інтра- та екстраорганних артерій матки при ожирінні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було обстежено 43 жінки клімактеричного віку з надлишковою масою тіла і надмірними матковими кровотечами, які склали основну групу. Контрольну групу становили 30 здорових жінок менопаузального віку. Головними критеріями для відбору пацієнток до основної групи спостереження були: вік пацієнток від 45 до 53, наявність маткових кровотеч, відсутність тяжкої екстрагенітальної патології (декомпенсованих серцево-судинних захворювань, ниркової і печінкової недостатності, тяжкого цукрового діабету, гострого тромбофлебіту та ін.), відсутність гормональної терапії протягом не менше як півроку до моменту обстеження. Основним показником при оцінюванні об'єктивного статусу пацієнток був індекс маси тіла (ІМТ), при визначенні якого до уваги брали значення росту та маси тіла і який вираховували за формулою G. Brey (1978):

$$IMT = \text{маса тіла (кг)} / \text{ріст}^2 (\text{м}^2)$$

Значення IMT від 18 до 25 кг/м² розцінювали, як показник нормальної маси тіла, більше 25 кг/м², але менше 30 кг/м² – як надлишкову масу, IMT 30 кг/м² і більше – як ожиріння.

Ультразвукове дослідження матки проводили на сканері Aloka SSD 2000 трансабдомінальним та трансвагінальним датчиками з частотою 3,5 і 5 мГц у режимі сірої шкали, кольорового доплерівського картування і спектральної доплерографії з частотним фільтром 100 Гц. УзД проводили в другу фазу менструального циклу. В процесі дослідження аналізували криві швидкості кровотоку (КШК) у маткових судинах із визначенням індексу резистентності (IP) і пульсаційного індексу (PI).

Експериментальну частину дослідження було проведено на 18 самках білих щурів, у яких ожиріння моделювали шляхом застосування натрієвої солі глютамінової амінокислоти. З метою контролю сформованого гормонального фону тварин використовували методику гормональної кольоцитоскопії.

Щодня, протягом 18 днів о 12 год, проводили забір вагінального вмісту з наступним виготовленням мазків, які забарвлювали за методом Романовського–Гімзе. На основі даних, отриманих при мікроскопії мазків, встановлювали середню тривалість естральних циклів за період спостереження та вираховували коефіцієнти кожної стадії естрального циклу.

З експерименту тварин виводили шляхом парентерального введення концентрованого розчину тіопенталу натрію.

Шматочки тканини для гістологічного дослідження експериментального матеріалу фіксували в 10 % розчині формаліну. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином, а також за методом Вейгерта і вивчали під світловим мікроскопом. Функціональний стан судини оцінювали шляхом обчислення індексу Вогенворта за формулою:

$$IB = SM / SPr \times 100 \%,$$

де IB – індекс Вогенворта, %; SM – площа медії, мкм²; SPr – площа просвіту, мкм².

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали методом варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel.

Визначали середнє значення (M), стандартне відхилення (d) та похибку середнього (m).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Середній вік в основній групі складав (48,82±0,40) року. В контрольній групі досліджуваних жінок середній вік становив (47,38±0,40) року, що вірогідно не відрізнялося (p>0,05, n=64). За результатами об'єктивного обстеження, було встановлено, що серед пацієнток основної групи кількість жінок із надмірною масою тіла була у 3,27 раза вищою, ніж жінок контрольної групи (85 проти 26 %). Індекс маси тіла у практично здорових жінок контрольної групи становив 25,36±0,20, тоді як середній IMT у жінок із надмірними матковими кровотечами дисфункціонального генезу складав 28,55±0,34, що на 9,16 % більше (p<0,001, n=64).

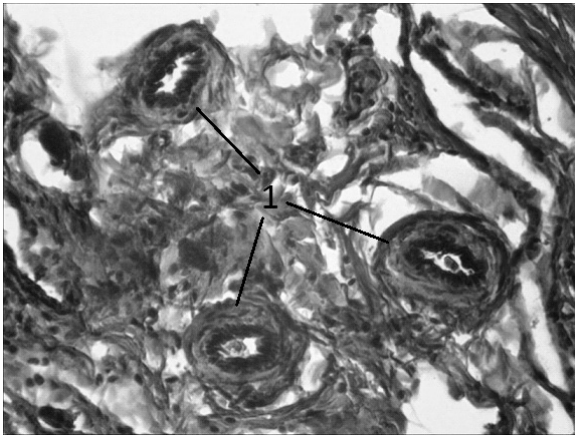
При аналізі КШК в обох групах відмічено зниження кутовонезалежних індексів, які відображають периферичний судинний опір із зменшенням калібру судин у пацієнток основної групи (табл. 1). Проте ці індекси мали вищі значення порівняно з контрольною групою, про що свідчив високий показник пульсаційного індексу. Очевидно, збільшення периферичного судинного опору зумовлене порушенням мікроциркуляції з розвитком мембраногенного набряку строми та гемодинамічних порушень маткового кровотоку внаслідок тромбозу і стазу.

Підвищення кровонаповнення судинного русла підтверджувалось частішою реєстрацією венозного кровотоку в міометрії з ознаками порушення венозного відтоку (збільшення діаметра вен, двофазний характер КШК) у пацієнток основної групи порівняно з контрольною, в якій венозний кровотік завжди мав монофазний характер із низьким значенням максимальної швидкості. Такі порушення стали основою для проведення глибших експериментальних досліджень.

У ході експериментальних досліджень на тваринах при світловій мікроскопії гістологічних мікропрепаратів матки щурів з ожирінням було встановлено переважання ознак підвищеного тону судинної стінки, що супроводжувалося помірним набряком периваскулярних просторів навколо судин змішаного типу, розміщених екстраорганно (рис. 1).

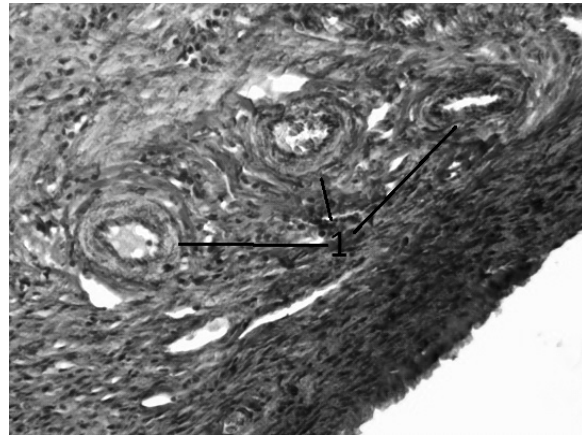
Таблиця 1 – **Доплерометричні показники маткового кровотоку (M±m)**

Група	IP маткових артерій	PI маткових артерій	Діаметр маткових вен	Максимальна швидкість кровотоку в маткових венах
Основна	0,88±0,03	2,66±0,14	6,42±1,12	7,63±1,56
Контрольна	0,78±0,01	2,26±0,05	5,3±0,82	9,8±3,6



1 – поперечний зріз артеріальних судин.

Рис. 1. “Тріади” екстраорганичних маткових артерій самки білого щура з експериментальним ожирінням. Забарвлення за Вейгертом. Зб. $\times 200$.



1 – поперечний зріз артеріальних судин.

Рис. 2. “Тріади” інтраорганичних маткових артерій самки білого щура з експериментальним ожирінням. Забарвлення за Вейгертом. Зб. $\times 200$.

Натомість у дрібних артеріях м'язового типу та артеріолах спостерігали розширення просвіту з явищами повнокров'я. Перераховані зміни підтверджувалися наростанням складчастості еластичних мембран в екстраорганичних судинах м'язово-еластичного типу і частковою втратою звивистості як внутрішньої, так і зовнішньої еластичних мембран в інтраорганичних відділах артерій, в яких вони набували помірно хвилястого вигляду (рис. 2).

Мікроскопічною особливістю інтраорганичних судин матки була також зміна форми їх поперечного перерізу, який переважно набував полігональних або овальних характеристик. Разом із тим, просвіт артерій був розширеним, що супроводжувалося зменшенням товщини судинної стінки інтраорганичних артерій. Виявлена ознака додатково підтверджувала зниження тонуусу судинної стінки. Як і в препаратах групи інтактних тварин, при експериментальному ожирінні було виявлено розміщення судин попарно або трійками, що визначалося особливістю галуження маткової артерії та входження її гілок в стінку матки щурів (рис. 2).

Результати, отримані після завершення дослідження групи тварин з експериментальним ожирінням, відрізнялися рядом особливостей кількісних морфометричних харак-

теристик судинного русла репродуктивних органів самок білих щурів. Як і в контрольній групі тварин, ІВ зі зменшенням калібру інтраорганичних артерій також знижувався (табл. 2). Однак кількісні показники вказували на певні особливості цього процесу.

Так, у судинах змішаного типу зростання ІВ на 53 % ($p < 0,05$) супроводжувалося зменшенням площі судинного просвіту на 30 % ($p < 0,05$), що вказувало на посилення судинного тонуусу, внаслідок чого спазм судин наростав. На противагу екстраорганичним, в інтраорганичних судинах ІВ знижувався. Так, зокрема, в артеріях м'язового типу ІВ зменшувався на 25 % ($p < 0,05$), що супроводжувалося розширенням площі просвіту на 38 % ($p < 0,05$). Зміни аналогічного характеру було виявлено і в артеріолах, де ІВ знижувався на 30 % ($p < 0,05$), а площа їх просвіту збільшувалась на 42 % ($p < 0,05$). Перераховані явища в інтраорганичних судинах асоціювалися зі зникненням ознак підвищеного тонуусу судин, на зміну якому наставала вазодилатація. Мікроскопічно така картина характеризувалася зміною форми поперечного перерізу артерій з округлої на овальну і полігональну. При цьому еластичні волокна внутрішньої еластичної мембрани частково втрачали ознаки звивистості й набували помірно хвилястого вигляду.

Таблиця 2 – Рівень індексу Вогенворта судин матки щурів контрольної групи та при експериментальному ожирінні ($M \pm m$)

Група тварин	Індекс Вогенворта		
	екстраорганичні судини	інтраорганичні судини	артеріоли
КГ	712,00 \pm 19,35	592,32 \pm 35,64	437,43 \pm 36,29
ЕО	1088,06 \pm 139,67*	447,15 \pm 31,45*	306,04 \pm 20,48*

Примітки.

1. * – $p < 0,05$.

2. КГ – контрольна група.

3. ЕО – група з експериментальним ожирінням.

Таким чином, на противагу екстраорганним судинам, в інтраорганичних артеріях ознаки підвищеного тону були відсутніми, індекс Вогенворта у них знижувався, що забезпечувало достатню перфузію гемомікроциркуляторного русла. Цьому також сприяла зміна щільності тканини матки, яка зменшилася в щурів з експериментальним ожирінням на 12 % порівняно з аналогічним показником контрольної групи тварин. Однак за таких умов усувається "фізіологічний" спазм інтраорганичних артеріальних судин, що знижує ефективність першого етапу гемостазу і створює умови для подальшого порушення гемомікроциркуляції та подовження кровотечі.

ВИСНОВКИ. 1. З'ясовано, що серед жінок менопаузального віку з дисфункціональними матковими кровотечами достовірно частіше зустрічаються пацієнтки з надмірною масою тіла та ожирінням.

2. У жінок з ожирінням відмічають порушення в кровотоці матки, які можуть бути достовірно верифіковані доплерометричним дослідженням та проявляються підвищенням периферичного судинного опору на рівні маткових артерій і порушенням венозного кровотоку, що проявляється утрудненням венозного відтоку на фоні гемокоагуляційних порушень.

3. У результаті проведеного комплексного експериментального дослідження було отримано нові дані про стан артеріального русла матки, а саме реакції її інтра- та екстраорганичних артерій у самок щурів на експериментальне ожиріння.

4. Результати, отримані в ході дослідження та експерименту, можуть певною мірою пояснювати можливість виникнення надмірних маткових кровотеч у жінок клімактеричного періоду з ожирінням як наслідок порушення судинного фактора гемостазу матки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антропометрические и гормонально-метаболические показатели при абдоминальном ожирении / А. А. Плохая, А. В. Воронцов, Ю. В. Новолодская [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 2003. – **49**, № 4. – С. 18–22.
2. Бутрова С. А. Висцеральное ожирение – ключевое звено метаболического синдрома / С. А. Бутрова, Ф. Х. Дзгоева // Ожирение и метаболизм. – 2004. – № 1. – С. 10–16.
3. Геворкян М. А. Ожирение и репродуктивное здоровье женщины / М. А. Геворкян // Ожирение и метаболизм. – 2008. – № 3. – С. 12–14.
4. Железов Д. М. Фізіологічні та патологічні маткові кровотечі / Д. М. Железов // Одес. мед. журн. – 2009. – № 2 (112). – С. 73–76.
5. Кан Н. Н. Особенности функционального состояния гипофизарно-яичниковой системы у жен-

щины с различными формами ожирения / Н. Н. Кан, Д. Ф. Каримова // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 5. – С. 35–38.

6. Кобрин В. И. Механизмы действия эстрогенов на сердечно-сосудистую систему / В. И. Кобрин, Е. Е. Порман // Вестник аритмологии. – 2000. – № 19. – С. 72–83.

7. Линева О. И. Восстановление менструальной и репродуктивной функции у пациенток с СПКЯ и ожирением путем коррекции нарушений углеводного обмена / О. И. Линева, М. В. Глухова // Пробл. репродукции. – 2008. – **14**, № 4. – С. 22–26.

8. Юзько О. М. Порушення обміну ліпідів при надмірних маткових кровотечах пременопаузального віку / О. М. Юзько, М. Д. Шипитко // Укр. мед. альманах. – 2008. – **11**, № 1. – С. 9–11.

С. Н. Геряк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОРГАНИЗАЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА МАТКИ В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ ПРИ ОЖИРЕНИИ

Резюме

Рассмотрена актуальная проблема дисфункциональных маточных кровотечений у женщин климактерического возраста, страдающих избыточной массой тела или ожирением. Проведено экспериментальное

исследование морфологического состояния артерий матки как одного из определяющих факторов гемостаза. В ходе эксперимента было выяснено особенности реакции интра- и экстраорганных маточных артерий, которые на фоне гормональной дисфункции, а именно гиперэстрогемии, могут стать причиной возникновения и существенного длительного маточного кровотечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожирение, артерии, матка.

S. N. Heryak

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL MODEL OF ORGANIZATION ARTERIAL BED OF THE UTERUS IN CLIMACTERIC PERIOD IN OBESITY

Summary

Considered important problem of menopause age women with overweight or obesity - dysfunctional uterine bleeding. Was done an experimental study of the morphological condition of uterine arteries as one of the determining factors of haemostasis. During the experiment it was found peculiarities of intraorganic and extraorganic reaction of uterine arteries, as a result of hyperestrogenemia which can cause development and continuous of uterine bleeding.

KEY WORDS: **obesity, artery, uterus.**

Отримано 1.10.13

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

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ ПРИ ЇХ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОМУ ВВЕДЕННІ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Вивчено патогенетичні ланки ураження печінки при гострому парацетамоловому отруєнні. Встановлено вищу гепатопротекторну активність тіотриазоліну порівняно з ацетилцистеїном, що підтверджується більш суттєвим зменшенням продуктів пероксидного окиснення мембранних ліпідів, нормалізацією активності антиоксидантної системи та відновленням енергозабезпечувальних процесів мітохондрій у печінці. Встановлено, що тіотриазолін сприяє зменшенню концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростанню протизапального ІЛ-10 у сироватці крові, підвищенню активності реакцій першої фази системи біотрансформації ксенобіотиків, що є проявом позитивного впливу на структурно-функціональний стан біомембран гепатоцитів, зокрема гладкого ендоплазматичного ретикулула.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: печінка, парацетамол, тіотриазолін, ацетилцистеїн.

ВСТУП. Частота захворювань печінки зростає з кожним роком як в Україні, так і в інших країнах світу. За даними ВООЗ, ураження печінки займає третє місце після серцево-судинної та онкологічної патологій. Це пов'язано з погіршенням екологічного стану навколишнього середовища, зниженням рівня життя людей, якості споживаних харчових продуктів, збільшенням вживання недоброякісного алкоголю, значним розповсюдженням інфекційних та вірусних захворювань [2].

Парацетамол (ПАР) – засіб, який широко використовують у фармакотерапії в ролі активного анальгетика/антипіретика, як самостійно, так і в складі комбінованих препаратів [4]. Аналіз літературних даних свідчить про те, що не лише передозування ПАР, але й застосування його в терапевтичних дозах протягом тривалого часу може призвести до гострого ураження печінки [11]. Однією з причин розвитку гострої печінкової недостатності на тлі застосування ПАР є активація монооксигеназ ендоплазматичного ретикулула печінки, зокрема індукція родини цитохромів Р-450, перш за все його ізоформи Р-450 2Е1, що супроводжується накопиченням токсичних метаболітів ПАР та зниженням антиоксидантного статусу [6].

Як антидот при гострому отруєнні ПАР використовують попередник біосинтезу глутатіону

N-ацетилцистеїн, однак його застосування обмежується наявністю побічної дії, зокрема здатністю провокувати алергічні реакції, бронхоспазм [5]. Це вимагає пошуку засобів, здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів ПАР, сприяти його глутатіонзалежній кон'югації та проявляти антиоксидантну активність і, відповідно, активно впливати на патогенез ураження печінки ПАР [6, 10]. Одним з таких медикаментозних середників є тіотриазолін, що характеризується вираженими антиоксидантними властивостями, що доведено в експерименті та клініці.

Метою даного дослідження було попередити гепатотоксичність парацетамолу, з'ясувати інтенсивність ліпідної пероксидації, стан антиоксидантної системи, активність процесів енергозабезпечення у печінці білих щурів за її ураження парацетамолом та можливість її корекції за допомогою тіотриазоліну й ацетилцистеїну в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 170–200 г, яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів віварію. Тварин було поділено на такі групи (n=6): 1-ша – інтактні; 2-га – тварини, яким вводили внутрішньошлунково ПАР (1250 мг/кг, у вигляді суспензії

у 2 % розчині крохмального гелю, протягом 2 діб) [6]; 3-тя і 4-та – тварини, яким, окрім ПАР, паралельно з його першою ін'єкцією розпочинали вводити (внутрішньочеревно, 1 раз на добу, протягом 7 діб), відповідно, ацетилцистеїн (АЦЦ, 150 мг/кг) та тіотриазолін (ТІО, 100 мг/кг). Через добу після останнього застосування препаратів тварин декапітували під тіопенталовим наркозом, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

У гомогенатах тканин печінки визначали: вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [1], ТБК-активних продуктів (ТБП) [3]; активність супероксиддисмутази (СОД) [12], каталази [7]; вміст відновленого глутатіону (ВГ) [13]; активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5], цитохромоксидази (ЦХО) [8]. У сироватці крові – вміст ІЛ-1 β , ІЛ-10, N-деметилазу, p-гідроксилазу активність. Отримані результати піддавали статистичній обробці у програмі Excel із використанням t-критерію Стьюдента при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Систему цитокинів активно досліджують в останні роки, що пов'язано з її універсальною дією на весь організм та широким залученням до різноманітних патологічних процесів [14]. Важливу роль у запуску каскаду цитокинових реакцій, у тому числі й при ураженні печінки, серед багатьох інших відіграє ІЛ-1 β [14], серед прозапальних цитокинів особливу увагу дослідників викликає інтерлейкін-10 (ІЛ-10) як перс-

пективна мішень при терапії хронічних захворювань печінки [15]. Водночас у літературі відсутні відомості про зміни рівня ІЛ-1 β та ІЛ-10 при медикаментозному ураженні печінки парацетамолом.

У результаті проведених нами досліджень встановлено, що у групі тварин, які отримували парацетамол, збільшувався вміст ІЛ-1 β на 126,6 % з одночасним зниженням вмісту ІЛ-10 на 55,93 % порівняно з контрольною групою щурів (табл. 1).

Встановлено, що при ураженні ПАР у гомогенатах печінки відбувалась активація процесів пероксидного окиснення ліпідів, що підтверджувалось зростанням вмісту ГПЛ і ТБП на 21,4 та 124,1 % відповідно порівняно з контролем. Одночасно зменшувалась активність компонентів антиоксидантної системи: СОД і каталази – на 45,6 та 39,7 % відповідно (табл. 2).

Відомо, що при активації процесів перекиснення мембранних ліпідів знижується енергозабезпечення клітин внаслідок пошкодження мітохондрій. У наших дослідах виявлено порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій у печінці, про що свідчило зменшення активності ЦХО на 50,9 % та СДГ на 62,8 %.

Головним місцем метаболізму ПАР є печінка. Більша частина введеної дози, а саме 40–60 %, метаболізується шляхом кон'югації з глюкуроною кислотою під дією глюкуронілтрансферази до глюкуронату, ще 20–40 % кон'югується із сульфатною кислотою під дією сульфотрансферази до сульфату. Утворені сполуки є нетоксичними і виводяться через нирки

Таблиця 1 – Зміни цитокинового профілю під впливом тіотриазоліну та ацетилцистеїну на тлі ураження печінки парацетамолом ($M \pm m$)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
ІЛ-1 β , нг/л	6,41 \pm 0,16	14,50 \pm 0,34*	10,97 \pm 0,80*#	9,84 \pm 0,54*#
ІЛ-10, нг/л	10,57 \pm 0,27	4,65 \pm 0,24*	8,13 \pm 0,28*	9,16 \pm 0,18*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: різниця достовірна ($p < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно ПАР; ° – відносно ПАР+АЦЦ.

Таблиця 2 – Вплив тіотриазоліну та ацетилцистеїну на показники систем прооксиданти/антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці тварин при гострому парацетамоловому отруєнні ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
ГПЛ, ум. од. 10^3 /кг	5,10 \pm 0,29	6,19 \pm 0,08*	5,47 \pm 0,27*#	5,27 \pm 0,11*#
ТБК-АП, мкмоль/кг	6,73 \pm 0,27	15,08 \pm 0,38*	7,65 \pm 0,23*#	6,96 \pm 0,13*#°
СОД, ум. од./л	5,07 \pm 0,10	2,76 \pm 0,08*	3,56 \pm 0,10*#	4,03 \pm 0,05*#°
Каталаза, кат/л	7,99 \pm 0,08	4,82 \pm 0,18*	7,32 \pm 0,41*#	7,60 \pm 0,23*#
СДГ, ммоль/(кг·хв)	9,29 \pm 0,25	3,46 \pm 0,51*	5,31 \pm 0,22*	5,56 \pm 0,13*#
ЦХО, ммоль/(кг·хв)	12,05 \pm 0,98	7,72 \pm 0,32*	8,61 \pm 0,54*	9,08 \pm 0,14*#°
ВГ, ммоль/кг	2,27 \pm 0,04	1,37 \pm 0,07*	1,53 \pm 0,04*#	1,73 \pm 0,01*#°

[9]. Близько 15 % препарату біотрансформується у дві фази. Реакції першої фази перебігають в ендоплазматичному ретикулумі з участю цитохрому Р-450 (а саме його ізоформи СYP2E1). В результаті прямої двохелектронної оксидації утворюється активний метаболіт ПАР N-ацетил-Р-бензохінонімін (NAPQI), який на етапі другої фази зв'язується із сульфгідрильними групами глутатіону під дією глутатіон-трансферази й утворює нетоксичну меркаптуринову кислоту, що виводиться нирками. Провідну роль у пошкодженні печінки відіграє посилення процесів ліпідної пероксидації, що супроводжується пригніченням другої фази біотрансформації ПАР, з накопиченням високореактивних метаболітів, які ініціюють її пошкодження. У наших дослідах вміст ВГ вірогідно зменшувався в 1,7 раза проти аналогічного показника у контрольних тварин. Спостерігали зниження N-деметилазної активності на 7,5 % та р-гідроксилазної – на 58,4 % відносно здорових тварин (табл. 3).

У групі тварин, яким проводили корекцію ТІО, встановлено зниження вмісту ІЛ-1 β на 32,1 %, зростання рівня прозапального ІЛ-10 на 96,9 % (табл. 1). У щурів, яким проводили корекцію АЦЦ, зменшувався вміст ІЛ-1 β на 24,3 %, зростає рівень прозапального ІЛ-10 на 74,8 % (табл. 1). Тіотриазолін більшою мірою, ніж ацетилцистеїн, сприяв відновленню балансу вивчених цитокінів. Про це свідчили зниження вмісту ІЛ-1 β на 10,3 % та зростання рівня ІЛ-10 на 8,7, %.

При дослідженні гепатозахисної активності ТІО, за умов гострого ураження печінки ПАР, встановлено, що у 4-й групі рівні ГПЛ і ТБП у печінці зменшувались на 14,9 та 53,8 % відповідно порівняно з контрольною патологією (табл. 2). При застосуванні АЦЦ у гомогенатах печінки вміст ГПЛ і ТБП знижувався у 3-й групі, порівняно з 2-ю, на 11,6 та 49,3 % відповідно. Під впливом ТІО вміст ГПЛ і ТБК-активних продуктів зменшувався на 3,6 та 9,2 % відповідно порівняно з групою тварин, які отримували АЦЦ.

Активність СОД і каталази у групі тварин, які одержували як коригувальний чинник ТІО, зростала на 46 та 57,7 %, активність СДГ і ЦХО –

на 60,7 та 17,6 %, рівень ВГ збільшувався на 26,3 % (табл. 2). У щурів, які отримували АЦЦ, активність СОД та каталази підвищувалась на 28,9 і 51,9 %, рівень ВГ збільшувався на 11,7 %, активність мітохондріальних СДГ і ЦХО зростала на 53,5 та 11,5 % відповідно порівняно з 2-ю групою (табл. 2). При застосуванні ТІО активність СОД і каталази у цій серії дослідів перевищувала відповідний показник у групі тварин, в яких здійснювали корекцію ацетилцистеїном, на 13,2 та 3,8 %, СДГ і ЦХО – 4,7 та 5,5 % відповідно.

Під впливом ТІО спостерігали підвищення N-деметилазної активності на 4,5 % та р-гідроксилазної – на 97,0 % (табл. 3). Під впливом АЦЦ відзначали зростання N-деметилазної активності у печінці на 4,1 % та р-гідроксилазної активності реакції – на 89,5 % (табл. 3). При порівнянні впливу тіотриазоліну й ацетилцистеїну на активність реакцій першої фази біотрансформації ксенобіотиків в ураженій парацетамолом печінці не було відмічено достовірної різниці між цими групами.

ВИСНОВКИ. 1. Гостре парацетамолове ураження печінки супроводжується зростанням інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів зі зменшенням активності супероксиддисмутази, каталази та вмісту відновленого глутатіону, порушенням функціонування мітохондріального ланцюга транспорту електронів, що супроводжується погіршенням функціональної здатності органа.

2. При застосуванні тіотриазоліну більшою мірою, ніж при введенні ацетилцистеїну, за умов гострого парацетамолового ураження печінки, відбуваються зменшення концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростання протизапального ІЛ-10 у сироватці крові.

3. Тіотриазолін при його лікувально-профілактичному введенні тваринам з гострим ураженням печінки, спричиненим парацетамолом, знижує інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (зменшення кількості гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів), збільшує активність та вміст компонентів антиоксидантної системи (підвищення активності супероксиддисмутази, каталази,

Таблиця 3 – Вплив тіотриазоліну та ацетилцистеїну на активність N-деметилазної та р-гідроксилазної реакцій у печінці щурів при гострому парацетамоловому отруєнні (M \pm m)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
N-деметилазна активність, ммоль/(кг·хв)	2,14 \pm 0,04	1,98 \pm 0,03*	2,06 \pm 0,06**	2,07 \pm 0,06**
р-гідроксилазна активність, ммоль/(кг·хв)	0,322 \pm 0,009	0,13 \pm 0,006*	0,25 \pm 0,08**	0,26 \pm 0,08**

вмісту відновленого глутатіону), покращує функціонування мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (збільшення активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази).

4. Тіотриазолін та ацетилцистеїн при їх лікувально-профілактичному введенні тваринам

з гострим ураженням печінки, викликаним парацетамолом, сприяють підвищенню активності реакцій першої фази системи біотрансформації ксенобіотиків (N-деметилазної та р-гідроксилазної), що є проявом їх позитивного впливу на структурно-функціональний стан біомембран гепатоцитів, зокрема гладкого ендоплазматичного ретикулула.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Буеверов А. О. Общие представления о лекарственных поражениях печени / А. О. Буеверов // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. – № 4. – С. 7–11.
3. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
4. Гепатопротекторы-антиоксиданты в терапии больных с хроническими диффузными заболеваниями печени / И. И. Дегтярева, И. Н. Скрыпник, А. В. Невойт [и др.] // Новые медицинские технологии. – 2002. – № 6. – С. 18–23.
5. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.
6. Комплексная оценка эффективности эссенциале Н при хронических гепатитах и циррозах печени по результатам динамической межфазной тензиометрии крови / Н. Б. Губергриц, О. Ю. Череватская, К. В. Иванова [и др.] // Укр. мед. часопис. – 2000. – № 1/15. – С. 21–49.
7. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
8. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии / Р. С. Кривченкова Отд ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
9. Мазур И. А. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / И. А. Мазур, И. А. Волошин, И. С. Чекман. – Запорожье, 2005. – 146 с.
10. Минушкин О. Н. Некоторые гепатопротекторы в лечении заболеваний печени / О. Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2002. – № 6. – С. 55–58.
11. Роль антиоксидантной системы в патогенезе токсического гепатита / Я. И. Гонский, М. М. Корда, И. Н. Клищ, Л. С. Фира // Пат. физ. и эксперим. тер. – 1996. – № 2. – С. 43–45.
12. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.
14. Neutralization of IL-10 Exacerbates Cycloheximide-Induced Hepatocellular Apoptosis and Necrosis / K. Kumagai, K. Ito, Y. Ando [et al.] // Toxicologic Pathology. – 2009. – 37, № 4. – P. 536–546.
15. Sennikov S. Production of IL-10, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta1 by different populations of erythroid cells derived from human embryonal liver / S. Sennikov, S. Krysov, A. Silkov // Cytokine. – 2002. – 17, № 4. – P. 221–225.

ВЛИЯНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА И АЦЕТИЛЦИСТЕИНА ПРИ ИХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Резюме

Изучены патогенетические звенья поражения печени при остром отравлении парацетамолом. Установлена более высокая гепатопротекторная активность тиотриазолина по сравнению с ацетилцистеином, что подтверждается более существенным уменьшением продуктов пероксидного окисления мембранных липидов, нормализацией активности антиоксидантной системы и восстановлением энергоснабжающих процессов митохондрий в печени. Установлено, что тиотриазолин способствует уменьшению концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и возрастанию противовоспалительного ИЛ-10 в сыворотке крови, повышению активности реакций первой фазы системы биотрансформации ксенобиотиков, что является проявлением положительного влияния на структурно-функциональное состояние биомембран гепатоцитов, в частности гладкого эндоплазматического ретикула.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: печень, парацетамол, тиотриазолин, ацетилцистеин.

A. S. Volska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE THIOTRIAZOLINE AND ACETYLCYSTEINE ON THE STATE OF THE LIVER IN ACUTE POISONING WITH PARACETAMOL

Summary

Study of pathogenetic links of liver damage in acute poisoning with paracetamol. The installed higher hepatoprotective activity Thiotriazoline than acetylcysteine which is confirmed by a significant reduction product of membrane lipid peroxidation, normalization of antioxidant activity and recovery utility processes in liver mitochondria. Established that thiotriazolin reduces the concentration of proinflammatory cytokine IL-1 β and increased anti-inflammatory IL-10 in serum, increased activity of phase 1 reactions of biotransformation of xenobiotics, which is a manifestation of a positive impact on the structural and functional state of biological membranes of hepatocytes, such as smooth endoplasmic reticulum.

KEY WORDS: liver, paracetamol, thiotriazolin, acetylcysteine.

Отримано 29.10.13

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

ДОСЛІДЖЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ НІТРИТ-АНІОНА ТА ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАНКРЕАТИТІ ТА ЗА ДІЇ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ

В експериментах на нелінійних білих щурах-самцях при моделюванні гострого панкреатиту (1-ша, 2-га та 7-ма доби) встановлено підвищення концентрації інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлин-альфа в сироватці крові та стабільного метаболіту оксиду азоту нітрит-аніона в сироватці крові, печінці, нирках. Максимальне зростання концентрації нітрит-аніона відзначено на 7-му добу, інтерлейкіну-6 – на 1-шу добу, фактора некрозу пухлин-альфа – на 7-му добу порівняно із показниками тварин контрольної групи, яким було проведено серединну лапаротомію). На основі аналізу результатів вивчення особливостей впливу L-аргініну та аміногуанідину на рівень інтерлейкіну-6 і фактора некрозу пухлин-альфа за умов гострого панкреатиту відсутність змін концентрації фактора некрозу пухлин-альфа можна пояснити вторинністю патобіохімічних та патофізіологічних ефектів оксиду азоту відносно системи прозапальних цитокінів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний гострий панкреатит, інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлин-альфа, нітрит-аніон.

ВСТУП. Захворюваність на гострий панкреатит (ГП) в Україні має тенденцію до зростання, становлячи в деяких регіонах 12 осіб на 10 000 населення. У світі цей показник у середньому коливається від 5 до 80 випадків захворювання на 100 000 осіб на рік [7]. Факторами розвитку ГП вважають порушення харчування, гіподинамію, зловживання алкоголем, рідше зустрічаються панкреатити, викликані лікарськими засобами, виразками дванадцятипалої кишки, хронічною нирковою недостатністю, ускладненнями після отруєння хімічними речовинами. Мають значення пряма травма залози, у тому числі й операційна, недостатні заходи профілактики захворювань підшлункової залози (ПЗ). Соціальне значення проблеми полягає в тому, що більшість пацієнтів – це люди працездатного віку. Незважаючи на застосування сучасних технологій у діагностиці та лікуванні ГП з використанням консервативних та оперативних методів лікування, смертність залишається незмінно високою, становить 13–15 %, а при панкреонекрозі досягає 85 % [6].

В останні роки велику увагу дослідники приділяють ролі системи NO у механізмах розвитку ГП [2, 14, 20]. NO вважають одним із

універсальних регуляторів клітинного і тканинного метаболізму. Кількість відомостей про роль NO у фізіологічних функціях і патофізіологічних процесах з кожним роком збільшується. Баланс між фізіологічними, регуляторними і цитотоксичними властивостями NO зумовлений його локальною концентрацією, а також антиоксидантним статусом тканин, в яких синтезується і реалізує свої ефекти NO [5, 9].

Залежно від типу і фази запального процесу, а також судинних та клітинних реакцій NO володіє як про-, так і протизапальними властивостями [5]. Проте дані про властивості NO, отримані на різних експериментальних моделях ГП, є суперечливими [2, 4, 13].

Роль NO в патогенезі ГП зумовлена як прямою, так і опосередкованою діями. Важливим аспектом є вплив системи NO на секреторну активність ПЗ [20]. Встановлено, що ендотеліальні клітини шляхом секреції NO підвищують внутрішньоклітинний рівень цГМФ у тромбоцитах, що сприяє інгібуванню їх агрегації та адгезії до ендотеліального шару. NO, активуючи гуанілатциклазу, підвищує активність Ca^{2+} -АТФази і сприяє виходу Ca^{2+} в цитоплазму. Вільний Ca^{2+} активує ряд протеаз і викликає вивільнення з тромбоцитів фібриногену. Це призводить до збільшення судинної проник-

ності, змін рН і активації фосфоліпази A_2 , яка запускає каскад протеолітичних реакцій у ПЗ. NO посилює обмін арахідонової кислоти за ліпооксигеназним шляхом [5, 22]. Таким чином, за умов підвищення концентрації NO при ГП простежується зростання активності фосфоліпази A_2 , а отже, і вмісту вільних ненасичених жирних кислот, які здатні окиснюватись шляхом пероксидації [9]. В патогенезі розвитку ГП особливу увагу приділяють надлишковому утворенню вільнорадикальних сполук. АФК, які беруть участь в адаптації організму на початковому етапі захворювання, проявляють виражений токсичний і прямий пошкоджувальний вплив відповідно до ступеня розвитку ГП [11].

Гальмувати синтез NO через вплив на NOS здатні деякі аналоги L-аргініну, такі, як N-мометил-L-аргінін, N-нітро-L-аргінін-метиловий ефір, N-нітро-L-аргінін. При цьому N-омега-циклопорил-L-аргінін є селективним інгібітором cNOS, а аміногуанідин, L-N(6)-(1-іміноетил)-лізин – iNOS. Синтез NO також може зменшуватись під впливом гемопротейнів, метиленового синього, етанолу, глюкокортикоїдів, індометацину [2, 13].

Проте результати досліджень з використанням інгібіторів NOS є суперечливими, встановлено [4], що дефіцит NO, який синтезує eNOS, обтяжує перебіг ГП.

В патогенезі ГП важливу роль відіграє активація лейкоцитів, здатних виділяти різні біологічно активні речовини, зокрема цитокіни, і експресувати молекули адгезії. Встановлено, що активація імунної системи, реалізована через цитокіни, в основному через фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), може відігравати роль у патогенезі ГП, а надмірна стимуляція нейтрофілів здатна призвести до прогресування пошкодження ПЗ із викидом у кров інтерлейкінів-6, -8 (ІЛ-6, ІЛ-8). При прогресуванні процесів деструкції у ПЗ тварин, з розвитком гнійно-септичних ускладнень, у крові різко підвищується значення ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α вже через декілька годин від початку експерименту, що зумовлено цитокініндукою дією на нейтрофіли [3, 16].

Стимуляторами синтезу ІЛ-1 та індукції його виходу з клітин є протеолітичні ферменти, ендотоксини, також продукування ІЛ-1 може бути стимульоване різними факторами: цитокінами, мікроорганізмами й антигенними подразниками [16]. Під впливом ІЛ-1 стимулюються клітинні й гуморальні імунні реакції, активуються Т-лімфоцити, які починають синтезувати інші цитокіни. У хворих на ГП ІЛ-1 і ФНП- α є первинними системними індукторами

ІЛ-6 та ІЛ-8 [18, 22]. ІЛ-8 викликає хемотаксис нейтрофільних гранулоцитів з вивільненням з них $O_2^{\cdot -}$ і лізосомальних ферментів, активує нейтрофільні гранулоцити з генерацією метаболітів арахідонової кислоти і O_2 , що збільшує інфільтрацію ними тканин і їх пошкодження. Надмірне продукування прозапальних цитокинів спричиняє порушення функціонування внутрішніх органів при ГП [12, 18].

Обмежене використання визначення концентрації цитокинів при діагностиці панкреонекрозу в клінічній практиці зумовлене високою вартістю дослідження, а також швидким зниженням концентрації ІЛ-6, ІЛ-8 через 24 год від початку захворювання [3].

У результаті аналізу наукових публікацій, які висвітлюють роль NO у патогенезі ГП, стає зрозумілим, що система NO є однією з важливих ланок розвитку мікроциркуляторних порушень, активації вільнорадикальних процесів і експресії цитокинової відповіді при даній патології [9, 20].

Таким чином, з'ясування ролі системи NO в патогенезі ГП, пошук серед модуляторів його синтезу ефективних засобів корекції змін, що виникають, є актуальним завданням, оскільки, незважаючи на велику кількість публікацій, немає єдиної точки зору щодо ролі системи NO у розвитку даної патології.

Метою даного дослідження було встановити зв'язок між змінами рівня синтезу NO та концентрацією ІЛ-6 і ФНП- α в експериментальних тварин з ГП та при введенні модуляторів синтезу NO (L-аргініну та аміногуанідину).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконували на білих статевозрілих щурах-самцях масою 170–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Усі експериментальні процедури проводили відповідно до національних та міжнародних рекомендацій щодо гуманного поводження з лабораторними тваринами (Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986); Закон України № 3447–IV, 2006).

В ході роботи було використано такі речовини: попередник синтезу оксиду азоту L-аргініну гідрохлорид (“Sigma Chemical Co.”, США), селективний інгібітор iNOS – аміногуанідин (ООО “Хімлабораторреактив”, Україна), реактиви виробництва “Sigma Chemical Co.” (США), “Reaxim” (Росія) та вітчизняного виробництва класу не нижче ч.д.а.

Піддослідних тварин поділили на 4 групи: 1-ша (контроль) – несправжньооперовані щури, яким проводили серединну лапарото-

мію; 2-га – тварини з експериментальним ГП, який викликали шляхом локального охолодження поверхні підшлункової залози хлоретиллом протягом 10 с [8] за умов загального знеболювання (кетаміну гідрохлорид, внутрішньом'язове введення в дозі 100 мг/кг маси тварини); 3–4 – тварини з ГП, яким вводили, відповідно, аміногуанідин (10 мг/кг), L-аргінін (25 мг/кг). Модулятори синтезу NO вводили внутрішньочеревно один раз на день, повторно впродовж 7 діб перед моделюванням гострого панкреатиту та одноразово через 12 год після охолодження ПЗ. По 6 щурів із кожної групи, за умов тіопентал-натрієвого наркозу (внутрішньочеревне введення 1 % розчину з розрахунку 50 мг/кг маси тварини), виводили з експерименту через 1, 2 та 7 діб після моделювання ГП. Для дослідження використовували гомогенати печінки, нирок та сироватку крові. Сироватку одержували шляхом центрифугування крові при 3000 об./хв протягом 15 хв. Печінку та нирки охолоджували у середовищі виділення, яке містило 0,25 М сахарози, 1 мМ ЕДТА та 10 мМ трис-НСІ-буфер (рН 7,4). Гомогенати органів готували у співвідношенні 1:10, охолоджену наважку (1 г) гомогенізували в скляному гомогенізаторі зі слабопритертим тefлоновим поршнем.

У сироватці крові визначали концентрацію прозапальних цитокінів – інтерлейкіну-6 та фактора некрозу пухлин- α методом імуноферментного аналізу із застосуванням стандартних наборів реактивів відповідно до інструкції.

Про вміст NO в гомогенатах органів робили висновок за кількістю його стабільного метаболіту нітрит-аніона (NO_2^-), який визначали за даними кольорової реакції з реактивом Гріса [10].

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програм Origin 7.5 (Origin Lab Corp., США) та Microsoft Excel XP. Порівняння отриманих величин проводили з використанням t-критерію Стьюдента та методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень встановлено максимальне зростання концентрації ІЛ-6 через 24 год з моменту моделювання ГП – у 102 рази порівняно з контрольною групою. На 2-гу та 7-му доби експерименту цей показник знижувався, але залишався вищим у 6 та 5 разів порівняно з контролем (рис. 1).

ІЛ-6 посилює цитотоксичну дію Т-лімфоцитів щодо ацинарних клітин підшлункової залози, є медіатором, відповідальним за синтез білків гострої фази запалення, продукує макрофаги у відповідь на пошкодження тканини, водночас активація макрофагів при ГП зумовлює підвищення рівня синтезу NO [11]. ІЛ-6 не стимулює синтез таких медіаторів запалення, як простагландини і матричні металопротеїнази. В моноцитах проявляється пригнічувальна дія ІЛ-6 на синтез ФНП- α [12].

Відзначали максимальне зростання концентрації ФНП- α у сироватці тварин з ГП вже на 7-му добу експерименту – в 37 разів (рис. 1). Спостерігали підвищення концентрації ФНП- α у 27 та 34 рази, відповідно, на 1-шу та 2-гу доби експерименту порівняно з несправжньооперованими тваринами.

Встановлено, що мембрана ацинарних клітин ПЗ має спеціальні рецептори до ФНП- α , який стимулює апоптоз клітин ПЗ, що є цілеспрямовано вигідною відповіддю при розвитку

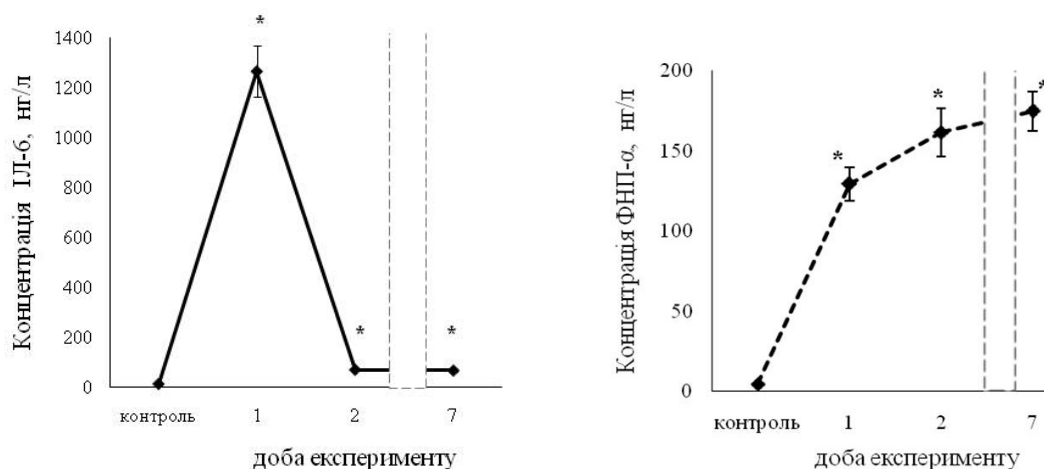


Рис. 1. Концентрація ІЛ-6 та ФНП- α у сироватці крові щурів при гострому експериментальному панкреатиті ($M \pm m$, $n=6$).

Примітка. * – достовірно відрізняється від відповідних значень у контрольній групі ($p < 0,001$).

ГП. Експресія цитокінів не обмежується тільки ПЗ, а поширюється на інші органи і системи. ІЛ-1 і ФНП- α при ГП продукуються в селезінці, печінці, легенях на ранніх стадіях розвитку ГП залежно від факторів, які викликають ГП, проте їх не виявляють у нирках, серці, скелетних м'язах. ФНП- α активує макрофаги, індукує утворення білків гострої фази запалення, АФК у нейтрофільних гранулоцитах, NO, які зумовлюють пошкодження навколишніх тканин [3, 17, 22].

Під впливом ФНП- α та ІЛ-1 зростає утворення АФК у мітохондріях клітин. Водночас відомо, що цитокіни, зокрема ФНП- α , прискорюють синтез NO. Це відбувається через активацію макрофагів, які продукують NO, що поєднується із зростанням кількості білків гострої фази запалення та призводить до пошкодження тканин [1, 11].

На основі даних літератури можна стверджувати, що об'єктивним, хоча й опосередкованим, показником інтенсивності синтезу NO в організмі може бути вміст його стабільного метаболіту NO_2^- [2, 10].

У результаті виконаних досліджень встановлено збільшення концентрації NO_2^- у сироватці крові (на 57, 67 і 144 %), печінці (на 21, 12 і 62 %), нирках (на 110, 123 і 162 %), відповідно, через 1, 2 та 7 діб після моделювання ГП порівняно з контролем (рис. 2).

Синтезований NO за умов гострого запалення підсилює розвиток локального ураження паренхіми та наступної ішемії. За даними літератури, підвищення рівня NO при ГП є одним з факторів активації процесів вільнорадикального окиснення [5, 7, 11]. У механізмах пошкоджувальної дії NO при ГП може відігравати роль утворення високоагресивного

ONOO^- в результаті взаємодії NO з активним радикалом кисню $\text{O}_2^{\cdot -}$ [9, 14].

Підтвердженням участі ONOO^- в патогенезі ГП є робота британських дослідників, які використали модель церулеїніндукованого ГП у щурів-самців лінії Вістар. На тлі збільшення вмісту в плазмі метаболітів NO було відмічено значне підвищення активності iNOS в групі з ГП, тоді як активність cNOS, порівняно з контролем, була знижена на 33 %, що свідчить про ключову роль iNOS в гіперпродукуванні NO. Периваскулярне накопичення нітротирозину підтверджує ймовірність участі ONOO^- в генезі оксидативного стресу при ГП [19]. Інші автори показали пряму пошкоджувальну дію ONOO^- на тканину ПЗ [4].

Результати дослідження показали, що на фоні введення аміногуанідину відмічено зниження концентрації ІЛ-6 на 14 % (1-ша доба) порівняно з показниками тварин 2-ї групи. Концентрація ФНП- α (7-ма доба) достовірно не змінювалась відносно тварин з ГП. Отримані результати можна пояснити тим, що аміногуанідин безпосередньо впливає на каталітичні центри NO-синтаз. Зазначені зміни узгоджуються з результатами дослідників [3], які відмічали відсутність змін концентрації ФНП- α при введенні блокаторів синтезу NO.

На фоні застосування інгібітора iNOS аміногуанідину встановлено зниження вмісту NO_2^- у сироватці крові (на 25, 31 і 33 %), печінці (на 15, 7 та 29 %) та нирках (на 37, 30 та 42 %) відповідно до термінів дослідження (рис. 3).

На фоні застосування L-аргініну спостерігали зростання концентрації ІЛ-6 в 1,3 раза (1-ша доба), а рівень ФНП- α (7-ма доба) достовірно не змінювався порівняно із показниками тварин із ГП.

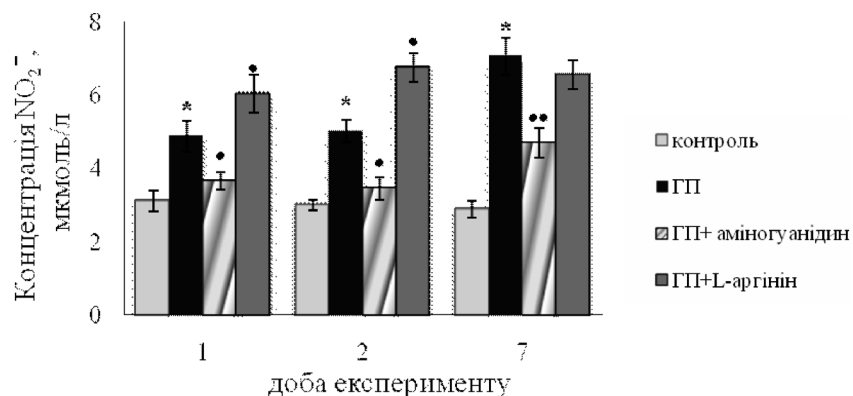


Рис. 2. Вміст NO_2^- у сироватці крові при гострому експериментальному панкреатиті та введенні аміногуанідину і L-аргініну ($M \pm m$, $n=6$).

Примітки. Тут і на рисунку 3:

1. * – достовірно відрізняється від відповідних значень у контрольній групі ($p < 0,001$).

2. • – достовірно відрізняється від відповідних значень у групі тварин з ГП ($p < 0,01$, •• $p < 0,001$).

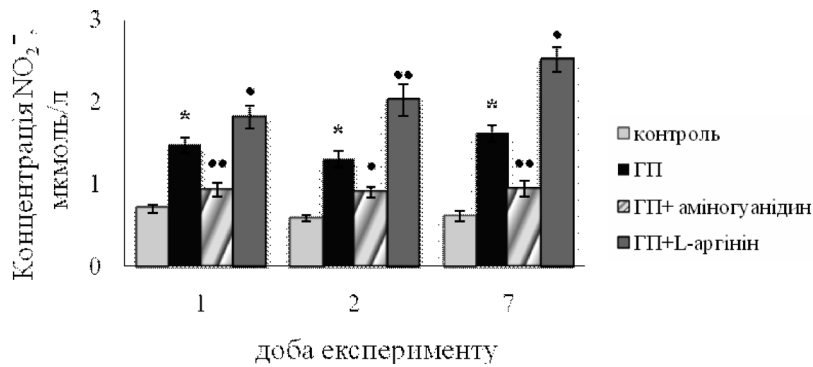


Рис. 3. Вміст NO₂⁻ у нирках при гострому експериментальному панкреатиті та введенні аміногуанідину і L-аргініну (M±m, n=6).

При визначенні рівня NO₂⁻ на тлі введення попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну відмічено достовірне зростання цього показника: у печінці – на 14, 31 та 18 %, у нирках – на 23, 56 та 60 % відповідно до термінів експерименту, в сироватці крові – на 24 і 34 %, відповідно, на 1-шу і 2-гу доби експерименту порівняно з аналогічними показниками групи щурів з ГП.

Отже, підвищення концентрації нітрит-аніона у сироватці крові, печінці та нирках при гострому панкреатиті свідчить про активацію синтезу NO та участь останнього в механізмах розвитку гострого панкреатиту.

На основі аналізу результатів вивчення особливостей впливу модуляторів синтезу NO на рівень ІЛ-6 та ФНП-α за умов гострого панкреатиту відсутність змін концентрації ФНП-α можна пояснити вторинністю патобіохімічних та патофізіологічних ефектів NO відносно системи прозапальних цитокінів.

ВИСНОВКИ. 1. У сироватці крові тварин з гострим панкреатитом встановлено активацію

синтезу прозапальних цитокінів. Максимальне підвищення концентрації ІЛ-6 відзначено через 24 год після моделювання ГП, ФНП-α – на 7-му добу експерименту порівняно з показниками тварин контрольної групи.

2. При гострому експериментальному панкреатиті на різних стадіях його розвитку (1-ша, 2-га та 7-ма доби) встановлено зростання рівня стабільного метаболіту оксиду азоту нітрит-аніона у сироватці крові, печінці, нирках. Максимальне підвищення концентрації нітрит-аніона відмічено на 7-му добу відносно тварин з гострим панкреатитом.

3. Застосування попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну при гострому панкреатиті супроводжується зростанням концентрації ІЛ-6 в 1,3 раза (1-ша доба) та відбувається на тлі активації синтезу NO.

4. Селективний інгібітор індукційної NO-синтази аміногуанідин сприяє зниженню концентрації ІЛ-6 на 14 % (1-ша доба), рівня нітрит-аніона у сироватці крові, печінці, нирках (1-ша, 2-га та 7-ма доби). Концентрація ФНП-α (7-ма доба) достовірно не змінювалась відносно тварин з гострим панкреатитом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка [та ін.] // Біологія тварин. – 2009. – **11**, № 1–2. – С. 41–43.

2. Криворучко І. А. Роль оксида азота и перекисного окислення липидов в патогенезе експериментального гострого панкреатита / І. А. Криворучко, А. А. Федорович // Клін. хірургія. – 2005. – № 1. – С. 58–62.

3. Лобенко А. О. NO-опосередковані механізми розвитку експериментального панкреатиту / А. О. Лобенко, В. М. Демидов, С. М. Демидов // Журнал АМН України. – 2002. – **8**, № 2. – С. 385–393.

4. Попик М. П. Патогенетическое значение системы оксида азота при остром панкреатите / М. П. Попик, А. А. Федорович, Ю. П. Гниденко // Врач. практика. – 2005. – № 6. – С. 57–61.

5. Сомова Л. М. Оксид азота как медиатор воспаления / Л. М. Сомова, Н. Г. Плехова // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 2. – С. 77–80.
6. Хомяк І. В. Хірургічне лікування гострого некротичного панкреатиту. Сучасний стан проблеми / І. В. Хомяк // Клін. хірургія. – 2009. – № 3. – С. 57–59.
7. Чорномидз А. В. Роль вільних радикалів у прогресуванні перебігу гострого панкреатиту / А. В. Чорномидз // Укр. журн. хірургії. – 2013. – № 1 (20). – С. 38–43.
8. Шалимов С. А. Руководство по экспериментальной хирургии / С. А. Шалимов, Ф. П. Радзиховский, Л. В. Кейсевич. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
9. Яремчук О. З. Зміни біохімічних показників печінки та нирок при експериментальному панкреатиті та за дії модуляторів синтезу оксиду азоту і рекомбінантної супероксиддисмутази / О. З. Яремчук, К. А. Посохова // Укр. біохім. журн. – 2011. – **83**, № 4. – С. 57–66.
10. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. Davie, J. Golawski [et al.] // Anal. biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
11. Chvanov M. Free radicals and the pancreatic acinar cells: role in physiology and pathology / M. Chvanov, O. H. Petersen, A. Tepikin // Philosophical transactions of the royal society biological sciences. – 2005. – Vol. 360. – P. 2273–2284.
12. Diagnostic accuracy of interleukin-6 and interleukin-8 in predicting severe acute pancreatitis: a meta-analysis / E. Aoun, J. Chen, D. Reighard [et al.] // Pancreatol. – 2010. – Vol. 9, № 6. – P. 777–785.
13. Effect of inducible nitric oxide synthase on pancreas islet apoptosis in rats / B. F. Li, Y. F. Liu, Y. Cheng [et al.] // Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. – 2010. – Vol. 26, № 1. – P. 9–12.
14. Hypertonic saline and reduced peroxynitrite formation in experimental pancreatitis / E. C. S. Rios, A. S. Moretti, I.T. Velasco [et al.] // Clinics. – 2011. – Vol. 66, № 3. – P. 469–476.
15. Protective effect of inducible nitric oxide synthase inhibitor on pancreas transplantation in rats / B. F. Li, Y. F. Liu, Y. Cheng [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2007. – Vol. 13, № 45. – P. 6066–6071.
16. Rau B. M. Anti-cytokine strategies in acute pancreatitis: pathophysiological insights and clinical implications / B. M. Rau, C. M. Kruger, M. K. Schilling // Annales Academiae Medicae Bialostocensis. – 2005. – Vol. 50. – P. 106–115.
17. Serum TNF- α levels in acute and chronic pancreatitis / A. Kiyici, M. Ibis, S. Akbulut [et al.] // European Journal of General Medicine. – 2009. – Vol. 6, № 2. – P. 103–107.
18. Significance of trypsinogen activation peptides and interleukin-6 in experimental acute pancreatitis / G. Jun, T. Zhi-jun, Q. Bao-liang [et al.]. – 2011. – Vol. 33, № 2. – P. 205–209.
19. Stimulation of perivascular nitric oxide synthesis by oxygen / S. Thom, D. Fisher, J. Zhang [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284, № 4. – P. 1230–1239.
20. The role of nitric oxide in edema formation in L-arginine-induced acute pancreatitis / T. Takacs, L. Czako, E. Morschl [et al.] // Pancreas. – 2002. – Vol. 25, № 3. – P. 277–282.
21. Yasar M. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition modulates experimental acute necrotizing pancreatitis-induced oxidative stress, bacterial translocation and neopterin concentrations in rats / M. Yasar, B. Uysal, U. Kaldirim // Experimental Biology and Medicine. – 2010. – Vol. 290. – P. 583–589.
22. Zhang T. Nitric oxide and calcium signaling regulate myocardial tumor necrosis factor- α expression and cardiac function in sepsis / T. Zhang, Q. Feng, J. Can // Physiol. Pharmacol. – 2010. – Vol. 88, № 2. – P. 92–104.

О. З. Яремчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НИТРИТ-АНИОНА И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ДЕЙСТВИИ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА

Резюме

В экспериментах на нелинейных белых крысах-самцах при моделировании острого панкреатита (1-е, 2-е и 7-е сутки) установлено повышение концентрации интерлейкина-6, фактора некроза опухолей-альфа в сыворотке крови и стабильного метаболита оксида азота нитрит-аниона в сыворотке крови, печени, почках. Максимальное возрастание концентрации нитрит-аниона отмечено на 7-е сутки, интерлейкина-6 – на 1-е сутки, фактора некроза опухолей-альфа – на 7-е сутки по сравнению с показателями животных контрольной группы, которым было проведено срединную лапаротомию. На основании анализа результатов

изучения особенностей влияния L-аргинина и амингуанидина на уровень интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей-альфа в условиях острого панкреатита отсутствие изменений концентрации фактора некроза опухолей-альфа можно объяснить вторичностью патобioхимических и патофизиологических эффектов оксида азота относительно системы провоспалительных цитокинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный острый панкреатит, интерлейкин-6, фактор некроза опухолей-альфа, нитрит-анион.

O. Z. Yaremchuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CONCENTRATION OF NITRITE ANION AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES AT THE EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS IN CASE OF THE ADMINISTRATION OF NITRIC OXIDE MODULATORS

Summary

The course of acute experimental pancreatitis (1st, 2nd and 7th days) was studied on white inbred rats-males. It was found the increasing of concentration of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and stabile metabolite of nitric oxide - nitrite anion in the blood serum, liver and kidneys. The maximum rising of nitrite anion quantity was found on 7th day, interleukin-6 – on 1st day, tumor necrosis factor-alpha – on 7th day of experiment comparatively with control group (rats with median laparotomy). The absence of changes of concentration of tumor necrosis factor-alpha we can explain by analysis of peculiarities of the influence of L-arginine and aminoguanidine on the levels of tumor necrosis factor-alpha. In case of acute experimental pancreatitis the activation of synthesis of nitric oxyde is secondary fenomen due to its pathobiochemical and pathophysiological effects on levels of proinflammatory cytokines.

KEY WORDS: experimental acute pancreatitis, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, nitrite anion.

Отримано 03.10.13

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

ЕНДОТЕЛІЙ ЯК РЕГУЛЯТОР ІМУННИХ, ЗАПАЛЬНИХ ТА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, ОПОСЕРЕДКОВАНИХ СИСТЕМОЮ L-АРГІНІН-ОКСИД АЗОТУ

Роль NO в організмі людини пов'язана з вазодилатацією, пригніченням агрегації та адгезії тромбоцитів, а також із цитопротекторною дією. NO розслабляє гладкі м'язи судин, сприяє діастолічному розслабленню міокарда, покращує реологічні властивості крові, запобігає розвитку атеросклеротичних бляшок. Також обговорюється питання щодо важливої ролі порушень синтезу та метаболізму оксиду азоту в розвитку ендотеліальної дисфункції, захисних та пошкоджувальних властивостей NO і його метаболітів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту, NO-синтази, ендотеліоцит, ендотеліальна дисфункція, запалення, вільні радикали.

Відкриття властивостей оксиду азоту (NO) як поліфункціонального фізіологічного регулятора стало одним із багатьох видатних досягнень кінця ХХ століття. Наукова зацікавленість унікальними і різнополярними властивостями NO була настільки великою, що в 1992 р. NO проголосили Молекулою Року. Часто захисну і токсичну дії NO можна спостерігати одночасно [17].

СИСТЕМА L-АРГІНІН-ОКСИД АЗОТУ ТА ЕНДОТЕЛІЙ. Основною біохімічною ланкою реалізації всіх фізіологічних функцій ендотелію в організмі є система L-аргінін-оксид-азоту [8, 12]. Утворення NO ендотеліальними клітинами – важливий компонент регуляції тонуусу кровоносних і лімфатичних судин. Утворюючись в ендотелії, NO дифундує в гладеньком'язові клітини і викликає дилатацію судин через цГМФ-залежні механізми [14, 19]. Судини малого калібру синтезують NO в більшій кількості, ніж великі, за рахунок чого забезпечуються регуляція периферичного опору й артеріального тиску і розподілення крові у судинах. Базальний рівень продукції NO є вищим в артеріях, ніж у венах [8]. Вплив NO на регуляцію ремоделювання судинної стінки пов'язують з його антимітогенними й антипроліферативними властивостями. Ендотеліальна ізоформа NOS забезпечує контрактильну функцію міо-

карда, збільшуючи релаксацію шлуночків і діастолі, а синтезований кардіоміоцитами NO контролює ізотропну та хронотропну відповіді на адренергічні й холінергічні стимули [9, 11, 12].

Загальновідомо, що основою пошкодження різної етіології є запальний процес [24, 28]. Активованій за цих умов ендотелій виділяє медіатори запалення, що призводить до припливу молекул клітинної адгезії [29]. Багатоетапний етап адгезії є можливим завдяки експресії на ендотеліальних клітинах рецепторів для селективних та інтегринів, які присутні у всіх імунокомпетентних клітинах [16]. Саме ця здатність ендотеліальних клітин під впливом їх активованого рецепторного апарату спричиняє посилення експресії молекул клітинної адгезії і забезпечує процес міграції імунокомпетентних клітин через ендотеліальний бар'єр у тканини, в яких розвивається запальний процес [19, 32]. При надмірно тривалій та інтенсивній активації ендотеліоцити втрачають антиагрегаційні й протизапальні властивості, створюють протромбогенну поверхню і сприяють прогресуванню запалення, що в подальшому призводить до розвитку дистрофічних і некротичних змін [26]. Дефіцит ендотеліальної NOS за умов запального процесу пригнічує здатність протизапальних медіаторів послаблювати експресію прозапальних генів, що

унеможлиблює протистояння розвитку запалення [25]. Хронічне пригнічення синтезу NO (в експерименті) провокує ранні прояви запальних змін у судинній стінці з різним ступенем пошкодження [5, 15]. Основним фактором впливу на eNOS при запаленні є розвиток оксидативного стресу [23, 32]. Збільшення за цих умов продукції вільних радикалів призводить до зниження синтезу NO і формування ендотеліальної дисфункції [7, 15]. Вільні радикали, особливо пероксиди, збільшуючи вміст внутрішньоклітинного кальцію, тим самим активують NOS, що викликає синтез високого рівня NO і, як наслідок, утворення ONOO⁻ та здатність індукувати апоптоз. Високі концентрації ONOO⁻, активуючи окиснення ліпопротеїнів низької щільності, тим самим запускають ще один механізм пошкодження ендотелію [6, 27].

Стосовно індукційної ізоформи NOS, то наявність її в клітинах ендотелію є непостійною і лише за умов патології її синтез значно зростає [1, 4, 10]. Так, гіпоксія стимулює синтез iNOS у гладеньком'язових клітинах дрібних судин, де в нормі вона не визначається, тому як гостра, так і хронічна форми гіпоксії пригнічують синтез NO в ендотелії, сприяючи низці судинних порушень [33]. Такі ж явища спостерігають і в патогенезі ранніх проявів артеріальної гіпертонії, легеневої гіпертензії, атеросклерозу, цукрового діабету, серцевої недостатності й дилатаційної кардіоміопатії [2, 7, 12, 13].

У процесі біотрансформації продуктів метаболізму NO (нітритів, нітратів, нітрозотіолів та ін.) посилено синтезується оксид азоту, тому суттєві зміни їх концентрації свідчать про значні порушення мікроциркуляції в ділянці патологічного процесу [31]. Встановлено, що з віком значно зменшується вміст нітрит-аніона, очевидно, це пов'язано зі зниженням активності eNOS, а от активність iNOS зростає, що може бути результатом надлишкового продукування та накопичення у тканинах пероксинітриту в процесі старіння [20]. Також у судинній стінці з віком спостерігають зниження як окисного (NO-синтази), так і неокисного (аргінази) шляхів перетворення аргініну, підвищується активність аргінази та сечовини [3, 4]. Причинами цих змін можуть бути вікові порушення і в самих ендотеліоцитах, зменшення експресії генів, накопичення кальцію, оксидативний стрес, перебудова ліпідного складу мембран. Такі порушення вважають первинним чинником вікозалежної патології серцево-судинної системи [3, 9, 12, 20, 30].

РОЛЬ NO ПРИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ТА ГІПОКСИЧНИХ ПРОЦЕСАХ У КЛІТИНІ. Активні форми кисню, в тому числі й вільні радикали, відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних реакціях, які відбуваються в клітині, – від регуляції тиску крові, за який несе відповідальність оксид азоту [1, 18], до участі в лізисі мікроорганізмів фагоцитуючими клітинами (супероксид, гіпохлорид, синглетний кисень) [10]. Пошкоджувальний ефект активних форм кисню може бути реалізований безпосередньо ними або ж проміжними чи кінцевими продуктами радикальних реакцій, ініційованих вільними радикалами. Продукти пероксидного окиснення ліпідів здатні викликати порушення синтезу білків, зміни судинної проникності й характеру запальної реакції [16, 31].

Дефіцит кисню за цих умов підштовхує клітину до переходу на інший тип дихання, який пов'язаний із гемовмісними білками – гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою та є промотором гіперпродукування стабільних метаболітів NO, шляхом надмірної експресії iNOS [6, 19]. Гемовмісні білки, які, взаємодіючи з киснем, відповідно, першими починають реагувати на його відсутність, відіграють роль так званих тригерів, що переводять клітини на нітритредуктазне (нітратно-нітритне) дихання. Літературні дані [21] вказують на те, що нітритредуктазна компонента набагато потужніша, ніж NO-синтазна. Є підстави вважати, що активація цього типу дихання за умов ішемії/гіпоксії може бути додатковим фактором і однією з основних складових ішемічного пошкодження кардіоміоцитів у період реоксигенації. Проте, враховуючи той факт, що фізіологічні та патологічні ефекти оксиду азоту здатні реалізуватися одночасно, має місце гіпотеза, яка розглядає даний тип дихання як компенсаторний механізм цитозахисту від гіпоксії [22]. Саме за цих умов клітини міокарда включають свою “генетичну пам'ять” про нітратно-нітритний тип дихання як попередника кисневого дихання. Тому гіперпродукування нітритів і нітратів при дефіциті кисню за всяку ціну (навіть за рахунок втрати частини клітин для спасіння цілого органа) стає життєво необхідним завданням [22, 25, 31]. Розуміння ролі нітритредуктазної системи в організмі ссавців і механізму циклічного перетворення нітратів, нітритів і NO може пояснити не тільки фізіологічну роль індукційної NO-синтази в міокарді, але і високу ефективність нітрогліцерину, а також інших нітропохідних при серцево-судинній патології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Братусь В. В. Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В. В. Братусь // Укр. ревматол. журн. – 2003. – **4**, 314. – С. 3–11.
2. Ванин А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях / А. Ф. Ванин // Вестн. Рос. АМН. – 2000. – № 4. – С. 5–10.
3. Вміст L-аргініну і амінокислот, що утворюються за його метаболізму по окисному і неокисному шляхах у крові пацієнтів з еректильною дисфункцією / І. І. Горпинченко, Н. М. Гула, Я. О. Мірошніков [та ін.] // Урологія. – 2002. – № 3. – С. 85–90.
4. Граник В. А. Метаболизм L-аргинина (обзор) / В. А. Граник // Химико-фарм. журн. – 2003. – **37**, № 3. – С. 3–20.
5. Дубинина В. Г. Оксид азота и дисрегуляционная патология организма человека / В. Г. Дубинина // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 4. – С. 23–26.
6. Зенков Н. К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Менщикова. – М. : МАИК "Наука/Интерпериодика", 2001. – 343 с.
7. Зенков Н. К. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза / Н. К. Зенков, Е. Б. Менщикова, В. П. Реутов // Вестн. Рос. АМН. – 2000. – № 4. – С. 30–34.
8. Корж А. Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия / А. Н. Корж // Междунар. мед. журн. – 2003. – № 1. – С. 130–134.
9. Кульчицкий О. К. Система оксиду азоту та вік / О. К. Кульчицкий // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 143–144.
10. Маеда Х. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке / Х. Маеда, Т. Акайке // Биохимия. – 1998. – **63**, № 7. – С. 1007–1019.
11. Манухина Е. Б. Роль оксида азота в сердечно-сосудистой патологии: взгляд патофизиолога / Е. Б. Манухина, Н. Ю. Малишев // Рос. кардиол. журн. – 2000. – № 5. – С. 55–63.
12. Марков Х. М. О регуляции деятельности сердца системой L-аргинин-оксид азота / Х. М. Марков, С. А. Надирашвили // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 2003. – № 4. – С. 9–13.
13. Менщикова Е. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающихся при различных функциональных состояниях / Е. Менщикова, Н. Зенков, В. Реутов // Биохимия. – 2000. – **65**, № 4. – С. 485–503.
14. Покровский В. И. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства / В. И. Покровский, Н. А. Виноградов // Тер. архив. – 2005. – № 1. – С. 82–87.
15. Порушення ендотеліязалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії / В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк, А. В. Коцюруб, О. М. Буханевич // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 3. – С. 3–12.
16. Роль оксида азота в механізмах запалення (обзор) / А. И. Гоженко, В. П. Бабий, С. Г. Котюжинская, И. В. Николаевская // Теоретична і експериментальна медицина. – 2001. – № 3. – С. 13–17.
17. Соловьев А. И. Метаморфозы в "семействе" оксида азота. От зарождения жизни на земле до апоптоза и регуляции клеточных функций и коммуникаций / А. И. Соловьев // Лікування та діагностика. – 2003. – № 3. – С. 8–14.
18. Сосунов А. А. Оксид азота как межклеточный посредник / А. А. Сосунов // Сорос. образ. журн. – 2000. – **6**, № 12. – С. 27–34.
19. Талаева Т. В. Механизмы взаимодействия клеток крови и сосудистой стенки в реализации воспалительного и иммунного ответов / Т. В. Талаева // Укр. ревматол. журн. – 2001. – № 3–4 (5–6). – С. 45–52.
20. Ткаченко М. М. Вікові зміни NO-залежного механізму регуляції судинної реактивності / М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач // Клін. та експерим. патологія. – 2004. – **3**, № 2. – С. 74–75.
21. Турпаев К. Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К. Т. Турпаев // Биохимия. – 2002. – **67**, № 3. – С. 35–39.
22. Цикл оксида азота и NO-синтазные системы в миокарде / В. П. Реутов, А. И. Гоженко, В. Е. Охотина [и др.]. – Одесса, 2007. – 37 с.
23. Ahsa H. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity / H. Ahsa, A. AH, R. Ali // Clin. Exp. Immunol. – 2003. – **131**, № 3. – P. 398–404.
24. Cell-cell interactions:leukocyte-endothelial interactions / T. M. McIntyre, S. M. Prescott, A. S. Weyrich, G. A. Zimmerman // Cur. Opinion in Hemat. – 2003. – **10** – P. 150–158.
25. Endothelial cell activation by endotoxin involves superoxide/NO-mediated nitration of prostacyclin synthase and thromboxane receptor stimulation / M. Bachschmid, S. Thureau, M. H. Zou, V. Ullrich // FASEB J. – 2003. – **17**. – P. 914–916.
26. Endothelial nitric oxide synthase activation is critical for vascular leakage during acute inflammation in vivo / M. Bucci, F. Roviezzo, I. Posadas [et al.] // PNAS. – 2005. – **102**. – P. 904–908.
27. Forstermann U. Endotelial NO synthase as a source of NO and superoxide / U. Forstermann // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – **62** (Suppl 13). – P. 5–12.
28. Jancar S. Immune complex-mediated tissue injuri: a multistep paradigm / S. Jancar, S. Crespo // Trends. Immunol. – 2005. – **26**, № 1. – P. 48–55.
29. Kawana S. The membrane attack complex of complement alters the membrane integrity of cultured endothelial cells:a possible patophysiology for immune complex vasculitis / S. Kawana // Acta Dermatovenerologica. – 1996. – **76**, № 1. – P. 13–21.
30. L-arginine chlorination products inhibit endothelial nitric oxide production / C. Zhang, C. Reiters, J. P. Eiserich [et al.] // J. of Biol. Chem. – 2001. – **276**, № 29. – P. 27159–27165.
31. Li H. Nitric oxide in pathogenesis of vascular disease / H. Li, U. Forstermann // J. Pathol. – 2000. – **90**. – P. 244–245.
32. Roebuck K. Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation

and binding of transcription factors AP-1 and NF- κ B / K. Roebuck // Int. J. Med. – 1999. – 4. – P. 223–230.

33. Tesfamariam B. Endothelial injury in the initiation and progression of vascular disorders. / B. Tesfamariam, A. F. DeFelice // Vascular Pharmacology. – 2007. – № 46. – P. 229–237.

О. В. Садляк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ЭНДОТЕЛИЙ КАК РЕГУЛЯТОР ИММУННЫХ, ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ, ОПОСРЕДОВАННЫХ СИСТЕМОЙ L-АРГИНИН–ОКСИД АЗОТА

Резюме

Роль NO в человеческом организме связана с вазодилатацией, угнетением агрегации и адгезии тромбоцитов, а также с цитопротекторным действием. NO расслабляет гладкие мышцы сосудов, способствует диастолическому расслаблению миокарда, улучшает реологические свойства крови, предупреждает развитие атеросклеротических бляшек. Также обсуждается вопрос, касающийся важной роли нарушений синтеза и метаболизма оксида азота в развитии эндотелиальной дисфункции, защитных и повреждающих свойств NO и его метаболитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксид азота, NO-синтазы, эндотелиоцит, эндотелиальная дисфункция, воспаление, свободные радикалы.

O. V. Sadlyak

DANILO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ENDOTHELIUM AS REGULATOR IMMUNE, INFLAMMATORY AND FREE RADICALS PROCESSES MEDIATED L-ARGININI SYSTEM–NITRIC OXIDE

Summary

NO role is connected with vasodilatation, inhibition of platelet aggregation and adhesion, cytoprotective effect in human body. NO facilitates relaxation of vascular smooth muscles, promotes diastolic myocardial relaxation improves blood rheological properties, prevents development of atherosclerotic plaques. The possible role of malfunction of nitric oxide synthesis and metabolism in the development of endothelial dysfunction as well as the defence and deleterious properties of NO and it's metabolites are considered.

KEY WORDS: nitric oxide, nitric oxide synthase, endotelicyte, endothelial dysfunction, inflammation, free radicals.

Отримано 04.10.13

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

РОЛЬ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ МАТРИКСУ В ПРОЦЕСАХ ЗАГОЄННЯ РАН

Однією з проблем при лікуванні ран є недостатнє вивчення процесів загоєння на молекулярному та клітинному рівнях. Ключовими факторами, які не лише здійснюють ремоделювання базальних мембран і розщеплення екстрацелюлярного матриксу, але й регулюють процеси проліферації та міграції клітин під час загоєння, є металопротеїнази. В огляді узагальнено сучасні дані про молекулярну будову та особливості регуляції ензиматичної активності, а також роль матричних металопротеїназ у фізіологічних і патологічних процесах, пов'язаних з репарацією пошкоджень епітелію. Окремо розглянуто методи дослідження активності металопротеїназ, зокрема зимографію, та перспективи їх використання у клінічній діагностиці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: матриксні металопротеїнази, загоєння ран, зимографія.

Загоєння ран реалізується через взаємодію медіаторів, які синтезуються клітинами запального інфільтрату (нейтрофілами, моноцитами, лімфоцитами, тромбоцитами), резидентними клітинами (фібробластами, гісціоцитами, епітеліальними клітинами, ендотелієм судин) та компонентами екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ). Міжклітинна та клітинно-матриксна взаємодія в ділянці рани формує складний каскад процесів, які тісно пов'язані між собою і включають коагуляцію, запальну реакцію, синтез та накопичення компонентів ЕЦМ, неоваскуляризацію, контракцію, ремоделювання ЕЦМ і реепітелізацію [5]. Ключову роль у процесах міграції та проліферації клітин ранової поверхні відіграють ензими суперродни матриксних металопротеїназ (ММП), до якої належать Zn-залежні ендопептидази (ЕС 3.4.24.*; ММП-1 – ЕС 3.4.21.32). Традиційно вважалося, що головною функцією ММП є деградація компонентів ЕЦМ [24]. Новим поштовхом до більш детальних досліджень функцій ММП стали відомості про те, що, крім руйнівної, ММП виконують також регуляторну функцію, здійснюючи процесинг біологічно активних речовин. Наразі відомо, що ММП залучаються та контролюють цілу низку клітинних процесів, а саме: проліферацію, адгезію, міграцію, диференціацію та апоптоз [1, 13, 29]. Саме ММП належить провідна роль у забезпеченні реепітелізації в ході загоєння шкірних ран. Проте слід відзначити, що інформація стосовно ролі

ММП у процесах загоєння ран є розрізною та не позбавлена певних протиріч. Зокрема, практично не розв'язаним є питання щодо ролі ММП у двох основних варіантах патологічного загоєння: рани, загоєння яких супроводжується надмірним накопиченням сполучної тканини та формуванням рубця, і рани, що тривалий час не загоюються. Припускають, що однією з причин, які сприяють надлишковій фіброплазії, є недостатня активність ензиматичних систем, що відповідають за деградацію ЕЦМ, перш за все ММП. На противагу цьому, аномально високу активність ММП спостерігають у проблемних ранах [8, 15]. Враховуючи комплексність організації молекулярного і субклітинного ансамблю, з участю компонентів якого здійснюються процеси загоєння ран, надзвичайно складно ідентифікувати причини порушень активності протеїназ, що, у свою чергу, практично унеможливує ефективну корекцію патологічного загоєння. З цього приводу можна окреслити коло питань, висвітлення яких дозволить наблизитися до розуміння значення ММП у репаративних процесах з метою розробки методів регуляції протеолітичних процесів медикаментозними методами: 1) визначення кореляції між активністю різних ММП і станом ранової поверхні на різних етапах загоєння; 2) причини ензиматичного дисбалансу під час загоєння; 3) розробка чітких критеріїв оцінки ефективності роботи протеїназ у ранах різного типу (варикозні виразки, діабетичні рани, пролежні, рани, що

© О. М. Петренко, А. О. Тихомиров, 2013.

тривало не загоюються, тощо); 4) вплив індивідуальних особливостей пацієнтів (вік, наявність супутньої патології, гормональний статус тощо) на стан протеолітичних систем при загоєнні; 5) синергічні зв'язки між функціонуванням ММП та протеїназами інших типів, зокрема ензимів системи плазміноген/плазміну.

Отже, метою цього огляду є систематизація та критичний аналіз сучасних даних щодо ролі ММП у загоєнні епідермальних ран і значення даних протеїназ у хронічному запальному рановому процесі.

КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ. Усі ММП характеризуються наявністю іонів Zn^{2+} в активному центрі та потребують іонів Ca^{2+} для стабілізації молекули. ММП мають мультидоменну структуру, кожний з доменів відповідає за певну функцію: збереження у латентному стані, секрецію, субстратну специфічність і каталіз. Окрім того, усі ММП характеризуються структурним консерватизмом. Про-домен, що містить консервативну послідовність *PRCGXPD*, є необхідним для збереження ММП у латентній формі. Він відщеплюється лише у процесі активації проензиму. Каталітичний домен включає три консервативні залишки гістидину в комплексі з іонами Zn^{2+} . С-кінцева частина молекули містить гемопексиноподібний домен, який відповідає за субстратну специфічність та взаємодію з рецепторами на поверхні клітин [9, 10, 29]. Доменну структуру ММП наведено на рисунку 1.

На сьогодні описано 28 ММП, серед яких 24 синтезуються у тканинах ссавців. Класифікація ММП є достатньо складною. Раніше ММП класифікували на основі субстратної специфічності. Однак, оскільки ММП проявляють перехресну протеолітичну активність відносно багатьох субстратів, наведену класифікацію вважають досить умовною. Згідно з нею, всі ММП поділяють на 13 класів: ММП-1 (колагеназа, колагеназа фібробластів, міжтканинна

ММП), ММП-2 (желатиназа А, 72 кДа желатинази, желатиназа нейтрофілів, колагеназа типу IV), ММП-3 (стромелізин-1, транзин), ММП-7 (матрилізин, PUMP), ММП-8 (нейтрофільна колагеназа, колагеназа-1), ММП-9 (92 кДа желатинази, желатиназа В), ММП-10 (стромелізин-2), ММП-11 (стромелізин-3), ММП-12 (металоеластаза макрофагів), ММП-13 (колагеназа-3) [4, 40].

Оскільки ММП здійснюють деградацію ЕЦМ та ремоделювання тканин, то у здоровій тканині дані ензими присутні у слідовій кількості, за винятком ММП-7, яку конститутивно синтезують епітеліальні клітини. Натомість, активація експресії ММП відбувається при пошкодженнях шкіри, загоєванні ран та деяких хворобах. Крім кератиноцитів, певні ММП синтезуються широким спектром клітин: фібробластами, ендотеліоцитами, макрофагами, гепатоцитами, хондроцитами, остеобластами й остеокластами, лейкоцитами, клітинами гладеньких м'язів, моноцитами, трофобластами, клітинами багатьох залоз внутрішньої секреції тощо. ММП секретуються в неактивній формі (за винятком ММП-11 та ММП-28). Кількість ММП, що синтезуються *de novo*, регулюється, головним чином, на рівні транскрипції. Активація ММП відбувається парацелюлярно шляхом відщеплення про-домена, дисоціації зв'язків $Cys-Zn^{2+}$ та формування активного центру в каталітичному домені. В активації проензимів важлива роль належить плазміну. Показано активацію плазміном про-колагенази-1, про-колагенази-3, про-желатинази В та про-стромелізину. Про-желатиназа А активується на поверхні клітини шляхом протеолізу мембраноасоційованою MMP-1. ММП-14 активує про-колагеназу-3 (ММП-13). Активація мембранних ММП також здійснюється плазміном [7, 15].

Інгібування активних ММП здійснюється α_2 -макроглобуліном і тканинними інгібіторами ММП (TIMP, або TIMP – Tissue Inhibitor of Metallo-

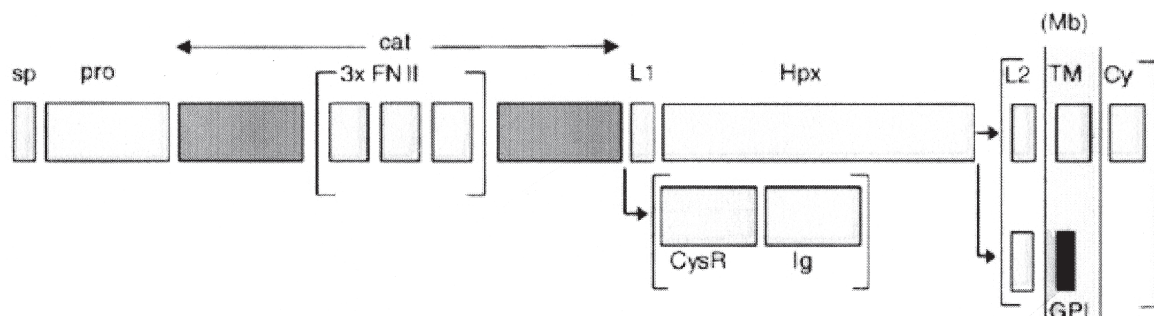


Рис. 1. Схема доменної будови матричних металопротеїназ (sp – NH₂-кінцева сигнальна послідовність, pro – про-домен, cat – каталітичний домен, FNII – фібронектиновий мотив зв'язування колагену II типу; L1 – лінкер 1, Hpx – гемопексиновий домен, L2 – лінкер 2, Mb – плазматична мембрана, TM – трансмембранний домен, Cy – цитоплазматичний хвіст, CysR – цистеїнзбагачена ділянка (Zn^{2+} -зв'язаний домен), Ig – імуноглобуліновий домен, GPI – глікозилфосфатидилінозитоловий якор) [31].

Proteinases). Останні являють собою глікопротеїни з молекулярною масою близько 28кДа та є найголовнішими негативними ефекторами ММП. ТІМП-1 зв'язується переважно з колагеназами, але також меншою мірою здатний блокувати й інші ММП. ТІМП-2 – специфічний інгібітор колагеназ (ММП-1, -8 та -13). Усі ТІМП реагують з ММП у стехіометричному відношенні 1:1. ТІМП-1 та ТІМП-2 також утворюють стабільні комплекси з про-желатиназами А і В. Окрім ТІМП-1 та ТІМП-2, на сьогодні охарактеризовано ТІМП-3 і ТІМП-4 [14, 31].

РОЛЬ ММП У НОРМАЛЬНОМУ ЗАГОЄННІ РАН. Процес загоєння ран включає такі етапи, як міграція клітин, деградація ЕЦМ та реорганізація тканин. При реепітелізації ранової поверхні спостерігають міграцію кератиноцитів, видалення фібринового згустку, який закриває просвіт рани. Здатність епідермісу до скорочення сприяє затягуванню рани. Досліді з використанням тварин та клітинних культур показали, що цілий набір ММП бере участь у регуляції міграції кератиноцитів та скорочення епідермісу [17, 21]. Цілком очікуваними виявилися дані про те, що інгібітори ММП гальмують процеси міграції кератиноцитів та затримують загоєння ран у мишей [35]. Протягом загоєння ММП функціонують у синергізмі з компонентами системи плазміноген/плазміну. Даний факт підтверджується в експериментах на трансгенних мишах, нокаутуваних за геном плазміногену. Відсутність активної протеїнази (плазміну) також негативно впливає на процеси клітинної міграції [40].

Функціонування ММП при нормальному загоєнні ран активно вивчають. У динаміці загоєння секретуються, активуються та функціонують різні види ММП. Дані ензими локалізуються в певних зонах ран, а їх активація припадає на різні періоди процесу загоєння [36]. Предметом досліджень найчастіше стають рани після опіків, післяопераційні рани та рановий ексудат (частіше після мастектомії). Нещодавно проведено дослідження витяжок з пошкоджених тканин, взятих перед накладанням пов'язок [39, 42]. Дані дослідження дозволили встановити, що пік активності ММП-8 припадає на 4-ту добу захворювання та залишається сталим протягом тижня. Активність ММП-1 не зафіксовано протягом кількох діб з моменту поранення. Рівень ММП-1 починає зростати приблизно через тиждень після активації ММП-8. Встановлено, що активність ММП-8 переважає даний показник для ММП-1. Це пов'язано з особливостями профілю синтезу даних протеїназ. У перші години

після пошкодження нейтрофіли починають інфільтрувати до рани, що триває протягом усієї стадії запалення. Як відомо, ці клітини продукують численні цитокіни та білкові фактори, в тому числі й деякі протеїнази, зокрема ММП-8 [28]. Дана обставина може слугувати поясненням більш значної кількості ММП-8 у рані порівняно з кількістю ММП-1. У подальшому, на стадії проліферації, починає стрімко зростати рівень колагену III типу [35]. Даний тип колагену є необхідним для процесів ремоделювання. Рівень колагеназної активності достатньо стабільний (ММП-1), при цьому проникність матриксу не перешкоджає міграції кератоцитів, необхідній для загоєння рани шляхом епітелізації [26].

Високі концентрації ММП-2 і ММП-9, порівняно з плазмою крові, відзначають у рідинах після мастектомії та міопластичних операцій. Частіше рівень ММП-9 перевищує такий для ММП-2. Однак різниця в активності двох желатиназ залежить від наповнення рани клітинами запалення [8, 13], оскільки ММП-9 секретується нейтрофілами, тоді як ММП-2 є продуктом синтезу фібробластів [40].

Arumugam і колеги [34] встановили, що активність ММП-2 і ММП-9 зберігається на достатньо високому рівні навіть після закриття рани, що свідчить про важливу роль желатиназ, яку вони відіграють у процесах ремоделювання матриксу та, можливо, рубця. В експериментах з дослідження динаміки активності ММП у ранах слизової оболонки ротової порожнини було показано, що даний показник для ММП-2 залишався сталим протягом усього періоду загоєння, тоді як пік активності ММП-9 припадав на 2–4 доби. Це спостереження дає підстави припустити, що ММП-9 не лише первинно секретується під час розвитку запалення, але й може відігравати певну роль на більш пізніх етапах загоєння і синтезуватися кератиноцитами. Важливо зазначити, що ММП-9 бере участь у таких ключових процесах при загоєнні, як відокремлення кератиноцитів від базальної мембрани та ремоделювання ЕЦМ, що сприяє більш ефективній міграції клітин [19, 27]. На противагу цьому, результати, отримані *in vitro* на культурі клітин ранової поверхні, вказують на те, що кератиноцити мають здатність до росту та міграції навіть за умов інгібування ММП-9. Проте істотне зниження швидкості росту культури кератиноцитів спостерігали при інгібуванні ММП-2 [32, 34, 37]. На основі отриманих, певною мірою суперечливих, результатів можна зробити висновок, що ММП-2 є важливою для забезпечення вивільнення та міграції кератиноцитів через

ЕЦМ. Можливо, певна неузгодженість результатів щодо поведінки клітин пов'язана з відмінностями процесів, які відбуваються в рані під час загоєння та за умов культивування тих самих клітин *in vitro*. Отже, процеси, що відбуваються в рані з участю різних ММП, потребують більш детальних досліджень. Крім того, необхідно зазначити, що матеріалом в описаних дослідженнях були рідини, взяті з ран (ексудат, трансудат, промивні води під час перев'язок). Однак активність ММП у власне рановому субстраті не вивчали на жодному з етапів загоєння.

Як відомо, важливою стадією загоєння ран є ангиогенез – процес формування нової капілярної сітки, що включає стадії руйнування базальної мембрани, міграцію ендотеліоцитів до периваскулярного матриксу, їх проліферацію та формування нових капілярів [16]. Важлива роль у процесі ангиогенезу належить протеолізу. Міграції ендотеліальних клітин передують їх проліферація та протеоліз білків ЕЦМ. Мігруючі ендотеліальні клітини формують “бруньку” (capillary bud) вторинного кровоносного капіляра, який поступово збільшується з утворенням нового капіляра [12]. Як ММП-2, так і ММП-9 належить також важлива роль у підтримці ангиогенного балансу, регуляція якого реалізується шляхом активації ангиогенних цитокінів (TNF- α та VEGF) або генерації антиангиогенних пептидів через обмежений протеоліз інших білків. Так, внаслідок розщеплення колагену XVIII типу утворюються ендостатини, продуктом протеолізу білка фібринолітичної системи плазміногену є ангиостатини [18, 25].

ММП ПРИ ХРОНІЧНИХ РАНАХ. Хронічні рани характеризуються високою колагеназною активністю і за цим показником істотно відрізняються від гострих ран [2, 3, 6, 9, 30]. Аналіз колагеназної активності при загоєнні хронічних ран показав, що ММП-8 з'являється у більшій кількості за ММП-1. Хронічні виразки містять значну кількість як ММП-1, так і ММП-8. Також у проблемних ранах відмічено низьку активність TIMP-1 порівняно з нормальними ранами. Рівень ММП-1 та ММП-8 широко варіює у хронічних ранах, причому ММП-8 як домінуюча колагеназа завжди наявна у даних типах ран [20]. У ході досліджень Nwomen та колеги [30] встановили, що при загоєнні неускладнених епідермальних ран колагенази були присутні у неактивних формах. Водночас протеїназам у ранах, що не загоювалися тривалий час, був притаманний високий рівень активності. Однак статистично достовірної різниці між активностями ММП при дослідженні

добре загоюваних та погано загоюваних хронічних виразок нижніх кінцівок не встановлено [28]. Підсумовуючи результати наведених досліджень, можна вивести постулат, що ММП-8 нейтрофільного походження в нормальних ранах є ключовою колагеназою, натомість підвищення рівня та гіперактивність даної колагенази можуть бути однією з ланок патогенезу хронічних виразок. Також слід враховувати, що колагенолітична активність у хронічних виразках може бути зумовлена низьким рівнем продукції інгібіторів, зокрема TIMP-1 [38].

При дослідженні зразків тканин, взятих у хворих із діабетичними виразками, венозними виразками нижніх кінцівок, шкіри хворих на діабет і шкіри здорових людей встановлено активацію експресії ММП-2 та ММП-8 в усіх хронічних ранах діабетиків, а активність ММП-9 була особливо виражена у венозних виразках [15, 40, 41]. ММП-1 та ММП-8 були достатньо активними в нормальній шкірі та епідермальних клітинах за умов діабету, а непошкоджені тканини характеризувалися повною відсутністю інгібіторів ММП. Дані дослідження показали, що рівні ММП та їх інгібіторів з'являються і зростають саме у хронічних ранах. Більш того, дані молекули можуть відіграти провідну роль у хронізації ран. В інших дослідженнях встановлено зростання рівня желатинази ММП-2 у хворих з діабетичними виразками порівняно з травматичними ранами [22].

Отже, активність протеїназ можна розглядати як одну з ключових ланок процесу загоєння ран. Однак порушення регуляції функціонування літичних ензимів у рановому середовищі як на рівні експресії відповідних генів, так і завдяки дисбалансу активаторно-інгібіторної рівноваги можуть не лише спричинювати значні аберантні явища в ЕЦМ та порушення метаболізму факторів росту і клітинних рецепторів, але й призводити до деградації нормальної тканини. Слід також зважати на те, що, тоді, коли набувають розвитку нові прогресивні технології лікування ран, агресивний вплив навколишнього середовища може робити негативний внесок і знижувати ефективність терапії.

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ. Методи аналізу різних ММП можна поділити на такі групи: 1) методи імунохімічної детекції; 2) ензиматичні методи аналізу; 3) зимографія [11].

На сьогодні найбільш оптимальним методом визначення активності ММП вважають желатинову зимографію. Даний метод широко

застосовують у сучасній науково-дослідній роботі [23, 33]. Суть методу полягає в тому, що зразки біологічного матеріалу, які містять ММП, вносять до поліакриламідного гелю, що містить желатин, і розділяють електрофоретично. Після проведення електрофорезу гель інкубують, при цьому желатинази, що містяться в ньому, деградує субстрат. При цьому в місці, де субстрат був розщеплений ензимом (у зоні, що відповідає його молекулярній масі), проявляються ділянки розщеплення у вигляді чітких світлих смуг на темнозбарвленому тлі (рис. 2). Інтенсивність забарвлення смуг пропорційна активності даних протеїназ. Результати аналізу інтерпретують напівкількісно (наприклад, у відносних одиницях порівняно з контрольним зразком) або кількісно при наявності очищеного ензиму-стандарту. Чутливість методу коли-

вається від 80 до 95 %, специфічність – від 92 до 75 %. Метод желатинової зимографії характеризується відносною простотою виконання, високою відтворюваністю, ілюстративністю та економічністю.

Отже, ММП є інтегральною складовою частиною системи загоєння ран шкіри. Вони забезпечують розщеплення компонентів базальних мембран та ЕЦМ, модулюють процеси клітинної міграції, проліферації та диференціації, беруть участь в обміні цитокінів і регуляторів ангиогенезу. Зсув активаторно-інгібіторного балансу протеїназ у рановій поверхні призводить до різних патологій загоєння. Подальше дослідження біохімічних процесів з участю ММП на кожному етапі загоєння може бути корисним для створення ефективних підходів лікування ран різної етіології.

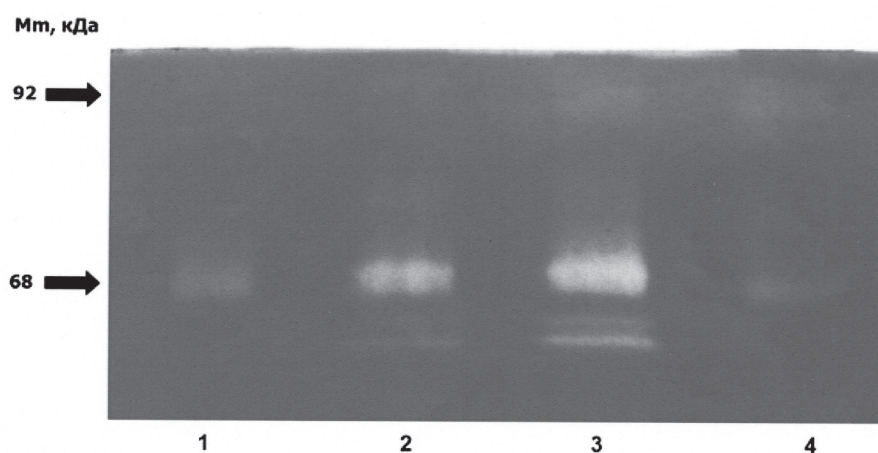


Рис. 2. Желатинова зимографія білкових екстрактів тканинного матеріалу, взятого з рани ступні пацієнта з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах загоєння (власні дослідження, не опубліковано). Електрофоретичне розділення білків проведено у сополімері поліакриламідного гелю (8 %) з желатином (5 мг/мл): 1 – 1-ша доба, 2 – 2-га доба, 3 – 4-та доба, 4 – 6-та доба. Відзначають відносно низьку активність ММП-9 (92 кДа) та високу активність ізоформ ММП-2 (68 кДа), максимум активності обох желатиназ припадає на 4-ту добу загоєння.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Активність матриксних металопротеїназ у тканинах щурів за введення доксорубіцину та дії комплексу попередників і модуляторів біосинтезу убіхінону / А. П. Бурлака, І. І. Ганусевич, Є. П. Сидорик [та ін.] // Мед. хімія. – 2011. – **13**, № 2. – С. 10–14.
2. Александрова А. В. Влияние доксицилина на общую протеолитическую активность при экспериментальном лечении термического ожога / А. В. Александрова // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – **15**, № 3 (ч. 1). – С. 15–17.
3. Александрова А. В. Фармакотерапевтические эффекты ингибитора матричных металлопротеиназ на этапах репарации ожоговой раны: влияние на общую протеолитическую активность в очаге повреждения и в периферической крови / А. В. Александрова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – **2**, № 3. – С. 41–43.
4. Андрищенко П. И. Объект изучения клеточной трансплантологии: металлопротеиназы / П. И. Андрищенко // Трансплантология. – 2005. – **8**, № 1. – С. 38–45.
5. Дерматоластика раневых дефектов / [В. И. Хрупкин, В. Ф. Зубрицкий, А. Н. Ивашкин и др.]. – М. : ГЭОТАР, 2009. – 192 с.
6. Изучение действия низкоинтенсивного лазерного излучения на экспрессию генов матричных металлопротеаз в культуре клеток кератиноцитов человека / И. М. Корсунская, А. Г. Соболева, В. В. Соболев [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2011. – № 4. – С. 101–104.

7. Потеряева О. Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) / О. Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири (электронный научный журнал). – 2010. – № 5.
8. Протасов М. В. Возможность прогнозирования эпителизации ран у крыс по изменению активности матриксных металлопротеиназ в раневом экссудате / М. В. Протасов, Л. В. Смагина, Н. М. Юдинцева // Цитология. – 2009. – **51**, № 4. – С. 311–314.
9. Рогова Л. Н. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) / Л. Н. Рогова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – **18**, № 2. – С. 86–89.
10. Соболева Г. М. Семейство матриксных металлопротеиназ: общая характеристика и физиологическая роль / Г. М. Соболева, Г. Т. Сухих // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 1. – С. 5–8.
11. Соловьева Н. И. Методы определения активности матриксных металлопротеиназ / Н. И. Соловьева, О. С. Рыжакова // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2010. – № 2. – С. 17–21.
12. Angiogenesis: vascular remodeling of the extracellular matrix involves metalloproteinases / B. Hensing, K. Hattori, M. Friedrich [et al.] // *Curr. Opin. Hematol.* – 2003. – **10**, № 2. – P. 136–141.
13. Armstrong G. The role of matrix metalloproteinases in wound healing / G. Armstrong, E. Jude // *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* – 2002. – **92**, № 1. – P. 12–18.
14. Baker A. H. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities / A. H. Baker, D. R. Edwards, G. Murphy // *J. Cell Sci.* – 2002. – **115**. – P. 3719–3727.
15. Expression of gelatinase (MMP-2) in diabetic and non-diabetic wounds / R. Lobman, A. Ambrosch, G. Schultz [et al.] // *Diabetologia.* – 2001. – **44** (Supple 1). – P. 4.
16. Folkman J. Angiogenesis / J. Folkman // *Annu. Rev. Med.* – 2006. – **57**. – P. 1–18.
17. Functional overlap between two classes of matrix-degrading proteases in wound healing / L. R. Lund, J. Romer, T. H. Bugge [et al.] // *EMBO J.* – 1999. – **18**. – P. 4645–4656.
18. Generation of endostatin by matrix metalloproteinase and cathepsin from human limboconal epithelial cells cultivated on amniotic membrane / D. H. Ma, J. Y. Yao, M. T. Kuo [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – **48**, № 2. – P. 644–651.
19. Hypoxia induces epidermal keratinocyte matrix metalloproteinase-9 secretion via the protein kinase C pathway / E. A. O'Toole, R. van Koningsveld, M. Chen [et al.] // *J. Cell Physiol.* – 2008. – **214**. – P. 47–55.
20. Induction of apoptotic cell death in vascular endothelial cells cultured in three-dimensional collagen lattice / M. Kuzuya, S. Satake, M. Ramos [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1999. – **248**. – P. 498–508.
21. Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and their inhibitors / G. Sawicki, Y. Marcoux, K. Sarkhosh [et al.] // *Mol. Cell Biochem.* – 2005. – **269**. – P. 209–216.
22. Johnson S. Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation / S. Johnson, A. Knox // *Am. J. Physiol.* – 1999. – **227**. – P. 1109–1117.
23. Kupai K. Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography / K. J. Kupai // *Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 2010. – **61**, № 2. – P. 205–209.
24. Martins V. L. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair / V. L. Martins, M. Caley, E. A. O'Toole // *Cell Tissue Res.* – 2013. – **351**. – P. 255–268.
25. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization / L. A. Cornelius, L. C. Nehring, E. Harding [et al.] // *J. Immunol.* – 1998. – **161**, № 12. – P. 6845–6852.
26. Mauviel A. Cytokine regulation of metalloproteinase gene expression / A. Mauviel // *J. Cell Biochem.* – 1993. – **53**. – P. 288–295.
27. Metalloproteinase 2 (gelatinase A) is related to migration of keratocytes / M. Makela, H. Larjava, E. Pirila [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1999. – **251**. – P. 67–78.
28. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and non healing ulcers / B. C. Nwomeh, H. X. Liang, I. K. Cohen [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1999. – **81**. – P. 189–195.
29. Nagase H. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs / H. Nagase, R. Visse, G. Murphy // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – **69**. – P. 562–573.
30. Nwomeh B. C. Physiology of chronic wound / B. C. Nwomeh, D. R. Yager // *Clin. Plast. Surg.* – 1998. – **25**. – P. 341–350.
31. Overall C. M. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era / C. M. Overall, C. Lopez-Otin // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – **2**. – P. 657–672.
32. Progress in the development of matrix metalloproteinase inhibitors / G. Tu, W. Xu, H. Huang [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2008. – **15**. – P. 1388–1395.
33. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature / A. W. Chung, Y. N. Hsiang, L. A. Matzke [et al.] // *Circ. Res.* – 2006. – **99**, № 2. – P. 140–148.
34. Temporal activity of plasminogen activators and matrix metalloproteinases during cutaneous wound repair / S. Arumugam, Y. C. Jang, C. Chen-Jensen [et al.] // *Surgery.* – 1999. – **125**. – P. 587–593.
35. Tissue inhibitors of metalloproteinase 2 inhibits endothelial cell migration through increased expression of RECK / J. Oh, D. W. Seo, T. Diaz [et al.] // *Cancer Res.* – 2004. – **64**. – P. 9062–9069.
36. Toriseva M. Proteinases in cutaneous wound healing / M. Toriseva, V. M. Kahari // *Cell Mol. Life Sci.* – 2009. – **66**. – P. 203–224.
37. Trengove N.J. Analysis of acute and chronic wound environments: the role of proteinases and their inhibitors / N. J. Trengove, M. C. Stacey, S. MacAuley // *Wound Repair Res.* – 1999. – **7**. – P. 442.
38. Van Wart H. E. The cystein switch: a principle of regulation of metalloproteinases activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family / H. E. Van Wart, H. Birkedal-Hansen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – **87**. – P. 5578–5587.

39. Widgerow A. D. Chronic wound fluid – thinking outside the box / A. D. Widgerow // Wound Repair Regen. – 2011. – **19**. – P. 287–291.

40. Woessner G. F. The family of matrix metalloproteinases / G. F. Woessner // M. Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1994. – **732**. – P. 11.

41. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity

compared to surgical wound fluids / D. R. Yager, L. Y. Zhang, H. X. Liang [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 1996. – **107**. – P. 743–748.

42. Wysocki A. B. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 / A. B. Wysocki, L. Staiano-Coico, F. Grinnell // J. Invest. Dermatol. – 1993. – **101**. – P. 64–68.

О. М. Петренко¹, А. О. Тихомиров²

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА НАМН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ², КИЕВ

РОЛЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ МАТРИКСА В ПРОЦЕССАХ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН

Резюме

Одной из проблем при лечении ран является недостаточная изученность процессов заживления на молекулярном и клеточном уровнях. Ключевыми факторами, которые не только осуществляют ремоделирование базальных мембран и расщепление экстрацеллюлярного матрикса, но и регулируют процессы пролиферации и миграции клеток в ходе заживления, являются металлопротеиназы. В обзоре обобщены современные данные, касающиеся молекулярного строения и особенностей регуляции ферментативной активности, а также роли матричных металлопротеиназ в физиологических и патологических процессах, связанных с репарацией повреждения эпителия. Отдельно рассмотрены методы исследования активности металлопротеиназ, в частности зимография, и перспективы их использования в клинической диагностике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: матричные металлопротеиназы, заживление ран, зимография

О. М. Petrenko¹, А. О. Tykhomyrov²

O. O. BOHOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY OF NAMS OF UKRAINE¹, KYIV
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE², KYIV

ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN WOUND HEALING PROCESSES

Summary

One of the problems in the treatment of wounds is insufficient level of knowledge about healing processes at both molecular and cellular levels. Metalloproteinases are considered to be the key factors that provide not only remodeling of the basal membrane and cleavage of extracellular matrix, but also regulate the processes of cell proliferation and migration during wound healing. This review summarizes recent data on the molecular structure and the peculiarities of regulation of enzymatic activity, and the role of matrix metalloproteinases in physiological and pathological processes associated with reparation of damaged epithelium. Particular attention is focused on the methods of study of metalloproteinase activity, in particular, zymography, and the perspectives of their implement in clinical diagnostics.

KEY WORDS: matrix metalloproteinases, wound healing, zymography.

Отримано 30.07.13

Адреса для листування: О. М. Петренко, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, бульвар Т. Шевченка, 13, Київ–601, 01601, Україна, e-mail: olegnretrenko@ukr.net.

ДО ЮБІЛЕЮ АКАДЕМІКА І. М. ТРАХТЕНБЕРГА

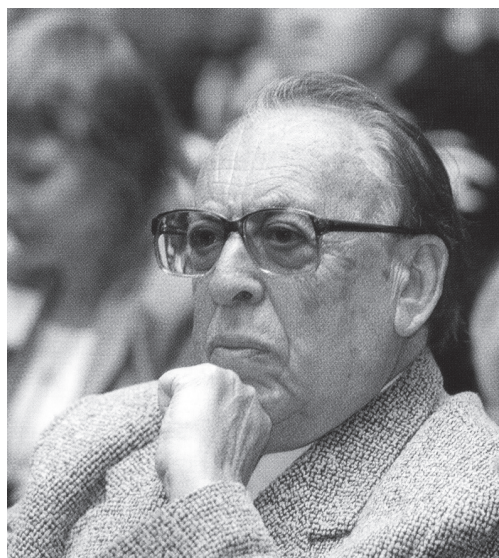
11 листопада 1923 р. виповнюється 90 років з дня народження видатного українського вченого – гігієніста і токсиколога, громадського діяча, літератора, академіка Ісаака Михайловича Трахтенберга.

І. М. Трахтенберг – доктор медичних наук (1964), професор (1967), член-кореспондент НАН України, обраний у 1992 р. за фахом “Медична екологія”, заслужений діяч науки і техніки України (1995), академік НАМН України, обраний у 1997 р. за фахом “Гігієна”.

Ісаак Михайлович Трахтенберг є одним із провідних учених нашої країни та світового рівня в галузі медицини праці, профілактичної токсикології, медичної екології. Наукова діяльність академіка, основні напрямки якої – експериментальна токсикологія, гігієна промислового середовища та довкілля, лікарська токсикологія, спрямована на обґрунтування сучасних принципів і методів встановлення гранично допустимих концентрацій хімічних речовин, проблему токсичної дії малої інтенсивності, токсикологію сполук важких металів, вивчення механізмів та проявів кардіовазотоксичної дії екзогенних хімічних подразників промислового і навколишнього середовища, методологію наукових досліджень у галузі медичної екології, нанотоксикології. Ісаак Михайлович відомий як автор принципово нового положення про взаємозв'язок загального та специфічного в реакції організму на екзогенну дію хімічних факторів, розробник наукових проблем “норми”, адаптації, передпатології хімічної етіології, вікової токсикології.

Академік І. М. Трахтенберг проводить велику науково-організаційну роботу. Він є головою експертної комісії з лікарської токсикології Державного фармакологічного центру МОЗ України, головою комісії з науки правління Наукового товариства гігієністів, членом наукових товариств гігієністів, токсикологів, фармакологів України, членом редколегій і рад низки наукових періодичних видань, серед яких “Український журнал з проблем медицини праці”, “Проблеми сучасної токсикології”, “Фармакологія та лікарська токсикологія”, “Довкілля та здоров'я”, “Токсикологический вестник”, “Международный медицинский журнал” тощо.

І. М. Трахтенберг – автор понад 400 наукових праць, з них 25 монографій, підручників, довідників. Як глава визначної та унікальної науково-педагогічної школи він підготував 53



кандидатів і 13 докторів наук. Серед учнів Ісаака Михайловича такі відомі вчені-гігієністи, токсикологи, профпатологи і фармакологи, як доктори наук В. О. Шефтель, Ю. М. Талакін, Г. Є. Верич, Г. П. Рожковська, В. Я. Витрищак, Ю. О. Терещенко, І. Я. Квятковська, С. М. Рашман, Н. Р. Шепельська, С. Е. Дейнека, Б. П. Кузьминов, С. П. Луговський, Л. М. Сокурєнко.

Великим надбанням вітчизняної та світової науки стали такі наукові праці І. М. Трахтенберга, як: “Хроническое воздействие ртути на организм” (1969), “Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнений” (1987), “Ртуть и ее соединения в окружающей среде” (1990), “Проблемы нормы в токсикологии” (1991), “Тяжелые металлы во внешней среде” (1994), “Книга о ядах и отравлениях. Очерки токсикологии” (2000), “Основные показатели физиологической нормы у человека” (2001), “Нариси вікової токсикології” (2005), “Химическая безопасность в Украине” (2007), “Книга про отрути та отруєння. Нариси токсикології” (2008), “Альтернативні методи і тест-системи” (2008), “Профілактична токсикологія та медична екологія” (2010), “Яды. Популярная энциклопедия” (2011).

Особливо слід відзначити багаторічні й вельми продуктивні контакти Ісаака Михайловича з колегами з республік колишнього Радянського Союзу. Він постійний і активний учасник всесоюзних наукових форумів у галузі гігієни й токсикології, автор низки спільних доповідей та друкованих праць, що завоювали визнання міжнародного співробітництва вчених, які розробляють проблеми профілактичної

медицини. Відомі його наукові монографії з токсикології та гігієни, видані разом із дослідниками Росії, Білорусі, Вірменії, Латвії. І. М. Трахтенберг протягом понад двох десятиліть був одним із найбільш діяльних членів Всесоюзної комісії, яка працювала під егідою МОЗ та Академії медичних наук СРСР щодо встановлення гранично допустимих концентрацій хімічних речовин у повітрі робочої зони. В її координуючій та експертній місії з регламентації гігієнічних нормативів шкідливих речовин у виробничому середовищі брали участь провідні гігієністи і токсикологи країни, серед яких Ісаака Михайловича визнали одним із провідних фахівців. Одночасно він брав безпосередню участь у встановленні гранично допустимих концентрацій міжнародного реєстру потенційно токсичних хімічних речовин, керував проведенням низки форумів, що відбулися під егідою цієї європейської структури.

Наукові та громадські досягнення академіка І. М. Трахтенберга удостоєні високих наукових звань і відзнак та урядових нагород: лауреат трьох академічних премій з профілактичної медицини АМН України (1995, 2002, 2009 рр.), лауреат Державної премії України в галузі науки та техніки (2002), премії імені О. О. Богомольця НАН України (2010), завідувач лабораторії промислової токсикології та гігієни праці при використанні хімічних речовин Державної установи "Інститут медицини праці НАМН України". І. М. Трахтенберга нагороджено орденом "За заслуги" III ступеня та одинадцятьма медалями, серед яких "За оборону Києва" і "За доблесну працю у період Великої Вітчизняної війни 1941–1945 рр.", та почесними грамотами АМН і МОЗ України.

Широкій громадськості Ісаак Михайлович Трахтенберг добре відомий ще і як талановитий літератор та публіцист, член Редакційної колегії двомовної газети Конгресу літераторів України "Література і життя"/"Література и жизнь", автор численних книг мемуарного, публіцистичного та історико-медичного спрямування, серед яких такі широко відомі та визнані читачем видання, як трилогія "Запоздалые заметки" (2000, 2001, 2002), "Из записных книжек и не только" (2003, 2005), блискучі сторінки двотомника "Остановиться, оглядеться" (2008), унікальна для нашого часу збірка епістолярного жанру "Письма друзей, единомышленников, коллег" (2010), збірки есе та мемуарів "Пятьдесят эскизов времени" (2011). На сторінках мемуарів, спогадів про видатних сучасників – академіків Л. І. Медведя, М. М. Амосова, П. Г. Костюка, В. В. Фролькіса та в істо-

рико-філософських есе І. М. Трахтенберга читач зустрічається з визначними діячами вітчизняної медицини і письменницької творчості, може відчувати не тільки подих минулого, а й гостроту соціальних та духовних проблем сучасності, витоки яких – у втраті суспільством значної частини людяності й духовності. Суттєву за змістом і важливу для всіх нас частину публіцистико-літературного наробку Ісаака Михайловича Трахтенберга становлять його спогади та роздуми про війну, що минула, сторінки про долю друзів-киян з вулиці Тарасівської, трагедію Бабиного Яру – події, які для сьогоднішнього молодого покоління поринули в давнину, проте "стукають у серця" всіх, хто буде сьогодні живе життя на цій землі.

У своїх виданнях і публіцистичних нарисах академік І. М. Трахтенберг неодноразово посиляється на праці та думки визначного світового гуманіста, лікаря, вченого і філософа Альберта Швейцера, один із життєвих афоризмів якого звучить так: "Для людей, яким вже за 60, у мене є тільки один рецепт: багато працювати і ще більше працювати". Здається, таку мудру пораду сприйняв на своєму життєвому шляху Ісаак Михайлович і продовжує незмінно її дотримуватись. Саме ця життєва позиція дозволяє йому плідно співробітничати з токсикологами та фармакологами, гігієністами й екологами, успішно готувати наукові кадри, займатися літературною творчістю, читати лекції для студентів та лікарів.

Унікальним творчим та особистісним проектом Ісаака Михайловича Трахтенберга є створення ним Клубу творчої інтелігенції м. Києва імені академіка В. В. Фролькіса. Його діяльність як голови цього громадського зібрання – данина своєму другові видатному вченому-фізіологу і геронтологу. Творча наукова близькість з Володимиром Веніаміновичем свого часу була реалізована в спільних публікаціях, а потім і в книгах, присвячених фізіології і гігієні розумової праці та віковим аспектам токсикології. Клуб, який носить ім'я В. В. Фролькіса і про який згадувалося вище, успішно займається творчою діяльністю ось уже протягом десяти років. Ця співпраця київської інтелігенції – вчених, лікарів, представників мистецтва – завоювала широке і заслужене визнання та сприяє створенню настільки необхідної нині духовної аури.

Як видатну для нашого прагматичного часу, непересічну особистість ювіляра вирізняють безкомпромісна громадянська позиція та громадська активність. Ці риси І. М. Трахтенберга з особливою яскравістю прояв-

ляються в його сьогоднішніх виступах у різних наукових і громадських аудиторіях та в друкованому вигляді – в газетах “Дзеркало тижня” і “2000” (перечитаймо лише натхненні й водночас по-філософськи глибокі сторінки його останньої публікації академіка “Камо Грядеши?” – роздуми про історичну долю нашої країни та й людської цивілізації в цілому), у доповідях з питань розвитку вітчизняної медичної науки і підготовки наукових кадрів... Саме завдяки людській та громадській небайдужості Ісааку Михайловичу доручено організувати й очолити Комісію при Президії

НАМН України з питань боротьби з лженаукою та фальсифікацією наукових досліджень.

Редакційна колегія журналу “Медична хімія”, Проблемна комісія МОЗ та НАМН України “Біологічна та медична хімія”, колеги і друзі академіка І. М. Трахтенберга знають та глибоко цінують його як чудову і доброзичливу, високоінтелегентну людину, особистість із життєвою мудрістю, справжнього Вчителя, щиро вітають його з ювілеєм і зичать високоповажному Ісааку Михайловичу здоров’я, подальших років плідної праці на благо нашої держави та медичної науки.

ДО ЮВІЛЕЮ ПРОФЕСОРА М. І. КАЛИНСЬКОГО

21 листопада 2013 р. виповнюється 70 років професорові Михайлу Івановичу Калинському – завідувачу кафедри прикладних наук здоров'я Коледжу здоров'я у Мейрінському університеті в Кентакі (Сполучені Штати Америки), члену редакційної ради журналу “Медична хімія” з 2000 р. Михайло Іванович понад 20 років працював професором в Україні, обіймав адміністративні посади, а саме завідувача кафедри біохімії спорту (19 років) та проректора з наукової роботи Київського державного інституту фізичної культури.

М. І. Калинський отримав вищу біохімічну освіту на кафедрі біохімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Аспірантуру закінчив у лабораторії “Метаболізм” в Науково-дослідному інституті ендокринології і фізіології (м. Київ) під керівництвом професора В'ячеслава Кононенка, докторантуру – в лабораторії “Біохімія м'язів” у Інституті біохімії імені О. В. Палладіна (керівник лабораторії і науковий співробітник – професор Михайло Курський). Тематами дослідження Михайла Івановича були гормони і сигнальна трансдукція під час фізичних навантажень, він також вивчав вплив фізичних навантажень на метаболізм, а саме ц-АМФ-залежної кінрази білка в скелетних м'язах і серцевому м'язі. У його наукових працях встановлено нові механізми внутрішньоклітинної регуляції (зміни активності аденілатциклази та ц-АМФ-залежної кінрази білка) в скелетних м'язах і серцевому м'язі під час фізичних навантажень.

З 1990 р. М. І. Калинський працює професором в університетах Нью-Йорка, у Кенському університеті в Огайо. У 2007 р. він здобув престижну премію в галузі біохімічних наук.

М. І. Калинський – автор понад 200 наукових праць, це, зокрема, “Спортивне харчування” (1985), “Біохімічні механізми адаптації до фізичних вправ” (1986), “Спортивна біохімія” (1989), “Харчування, здоров'я і фізичні вправи” (1990) тощо. Його монографію “Exercise and Intracellular Regulation of Cardiac and Skeletal Muscle” (1995) було опубліковано у видавництві “Human Kinetics Publishers”, що є



лідером в Америці у галузі спортивних наук. Остання монографія Михайла Івановича “Клітинні механізми м'язових травм” (2011), опублікована в Нью-Йорку, отримала позитивні відгуки. Крім цього, М. І. Калинський є співавтором чотирьох підручників.

В Україні та Сполучених Штатах Америки М. І. Калинський підготував багатьох кандидатів наук у галузі спортивної біохімії і спортивної фізіології. Варто підкреслити й те, що професор визнаний міжнародними організаціями як один із лідерів у спортивній науці. Йому було доручено організувати такі міжнародні симпозиуми, як American College of Sport Medicine Exchange Symposium на European Congress of Sport Science; the Exercise Biochemistry Symposium на International Convention on Science; Education and Medicine in Sport (ICSEMIS); United Kingdom; the Exercise Physiology Symposium на 14my Commonwealth International Sport Congress. Михайло Іванович був пленарним доповідачем на міжнародних симпозиумах у Литві (2010), Великій Британії (2012), Індії (2012), Болгарії (2012) та Іспанії (2013).

Редакційна колегія журналу “Медична хімія” щиро вітає професора М. І. Калинського з ювілеєм і бажає йому міцного здоров'я та подальших творчих успіхів.