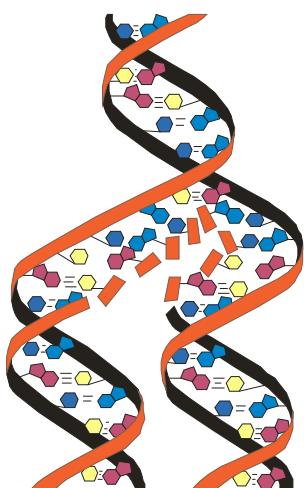


ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”
ДУ “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”

МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*SHEI “I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University MPH of Ukraine”
SI “The Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine”*

MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

1(62) TOM 17
2015

- ❖ *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 ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 2410-681X

Виходить щоквартально
Published 4 times per year

Заснований у січні 2011 р.
Founded in January 2011

Свідоцтво про державну
реєстрацію: серія KB № 17435-6185P
від 18.11.2010 р.

Certificate of state registration:
series KB № 17435-6185P from 18.11.2010

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

Журнал включено до Міжнародної науко-
метричної бази Google Scholar.

Рекомендовано до видання вченою радою
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний
університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ
України" (протокол № 12 від 24 лютого 2015 р.).

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

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

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:

Journal "Medical and Clinical 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>
e-mail: journaltdmu@gmail.com

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

© Науковий журнал "Медична та клінічна хімія", 2015
© Scientific Journal "Medical and Clinical Chemistry", 2015

Зміст

Contents

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Зайцева О. В., Шандренко С. Г., Великий М. М.* (Київ)
ВПЛИВ НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ НА
МІНЕРАЛЬНИЙ МЕТАБОЛІЗМ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ
ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО ОСТЕОПОРОЗУ 5
- Короткий Ю. В., Дудікова Д. М., Вринчану Н. О.,
Смертенко О. А.* (Київ) СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА
АКТИВНІСТЬ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ
1-[4-(1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОКСИ]-3-ДІАЛКІЛАМІНО-
2-ПРОПАНОЛУ 12
- Юрченко П. О., Заїчко Н. В.* (Вінниця) БІОХІМІЧНІ
ЗМІНИ В МОЗКУ ЩУРІВ З ІЗОЛЬОВАНОЮ
ГІПЕРГОМОЦИСТЕІНЕМІЄЮ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ
ОБМІНУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ 17
- Склярів О. Я., Бондарчук Т. І.* (Львів) ВПЛИВ
ВІТАМІНІВ С ТА Е НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗНОЇ
СИСТЕМИ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ НА ТЛІ
БЛОКУВАННЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ-2 ЗА УМОВ
АДРЕНАЛІНІНДУКОВАНОГО СТРЕСУ 22
- Маракушин Д. І.* (Харків) ВПЛИВ ОКСИЕТИЛЬОВАНИХ
НОНІЛФЕНОЛІВ ТА ЇХ ПОХІДНИХ
НА ВМІСТ КОРТИКОТРОПІНУ, КОРТИЗОЛУ ТА
АДРЕНАЛІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ 27
- Покотило О. С., Кухтин М. Д., Покотило О. О.,
Ярошенко Т. Я., Коваль М. І.* (Тернопіль) ЛІПОГЕНЕЗ
У ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН
ПІСЛЯ НАВАНТАЖЕННЯ ХОЛЕСТЕРОЛОМ 31
- Бабець Я. В., Ушакова Г. О., Шевцова А. І.*
(Дніпропетровськ) РОЗПОДІЛ АСТРОЦИТОСПЕЦИ-
ФІЧНИХ БІЛКІВ ПРИ ДІЇ ДОКСОРУБІЦИНУ НА
ЩУРІВ 36
- Михайлюк І. А., Михайлюк В. М.* (Тернопіль)
АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У
ТКАНИНІ ПЕЧІНКИ В ДИНАМІЦІ СКЕЛЕТНОЇ,
ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ У
ПЕРІОД РАННІХ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ
ХВОРОБИ 42
- Волкова Ю. В., Сухова Л. Л., Давидов В. В.* (Харків)
АКТИВНІСТЬ АЛЬДЕГІДДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ЇЇ
МОДУЛЯЦІЯ В СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЯХ ПЕЧІНКИ
ЩУРІВ ПУБЕРТАЛЬНОГО ВІКУ ЗА УМОВ
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ 47
- Турчин М. В.* (Тернопіль) ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ
СИНДРОМУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ КРОВІ ТА
ВОДЯНИСТОЇ ВОЛОГИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИ-
МЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ
РОГІВКИ 51
- Швець І. Є., Дирик В. Т., Слобода М. Т.* (Львів)
ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ
КРОВІ У ТВАРИН З МОДЕЛЬОВАНИМ
ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ
УРАЖЕНЬ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ 57
- Гасюк Н. В.* (Тернопіль) ЦИТОХІМІЧНА ТА
ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕСІВ
ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ БУКАЛЬНОГО ЕПІТЕЛІУ В ОСІБ
ЧОЛОВІЧОЇ СТАТІ МОЛОДОГО ВІКУ В НОРМІ 61
- Ковалишин О. А.* (Львів) СТАН ПРОТЕІНАЗО-
ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ЛЕГЕНЯХ У ДИНАМІЦІ
РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ 66

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Zaitseva O. V., Shandrenko S. G., Veliky M. M.* (Kyiv)
EFFECT OF NITROSATIVE STRESS ON THE BONE
MINERAL METABOLISM OF RATS UNDER
ALIMENTARY OSTEOPOROSIS
- Korotkyi Yu. V., Dudikova D. M., Vrynchanu N. O.,
Smertenko O. A.* (Kyiv) SYNTHESIS AND
ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 1-[4-(1-ADAMANTYL)-
PHENOXY]-3-DIALKYLAMINO-2-PROPANOL
QUATERNARY SALTS
- Yurchenko P. O., Zaichko N. V.* (Vinnytsia) BIOCHEMICAL
CHANGES IN RATS' BRAIN WITH ISOLATED
HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN MODULATION
OF HYDROGEN SULFIDE METABOLISM
- Sklyarov A. Ya., Bondarchuk T. I.* (Lviv) ACTION
OF VITAMINES C AND E ON THE ACTIVITY
OF NO-SYNTHASE SYSTEM IN PANCREAS OF RATS
ON THE BACKGROUND OF CYCLOOXYGENASE-2
BLOCKAGE AND EPINEPHRIE-INDUCED STRESS
- Marakushin D. I.* (Kharkiv) INFLUENCE OF OXYETHYLIZED
NONYLPHENOLS AND THEIR DERIVATIVES
ON THE CONTENT OF CORTICOTROPIN, CORTISOL
AND ADRENALIN IN BLOOD SERUM OF RATS
- Pokotylo O. S., Kuhtyn M. D., Pokotylo O. A.,
Yaroshenko T. Ya., Koval M. I.* (Ternopil) LIPOGENESIS
IN ADIPOSE TISSUE OF THE LABORATORY ANIMALS
AFTER LOADING WITH CHOLESTEROL
- Babets Ya. V., Ushakova G. O., Shevtsova A. I.*
(Dnipropetrovsk) DISTRIBUTION OF ASRTOCYTE AND
SPECIFIC PROTEINS UNDER DOXORUBICIN EFFECT
ON RATS
- Mykhaylyuk I. A., Mykhaylyuk V. M.* (Ternopil)
ANTIOXIDANT-PROOXIDANT BALANCE IN THE LIVER
TISSUE IN THE DYNAMICS OF A SKELETAL,
CRANIAL-CEREBRAL TRAUMAS AND THEIR
COMBINATION IN THE PERIOD OF EARLY SIGNS
OF THE TRAUMATIC DISEASE
- Volkova Yu. V., Sukhova L. L., Davydov V. V.* (Kharkiv)
ALDEHYDE DEHYDROGENASE ACTIVITY AND ITS
MODULATION IN LIVER SUBCELLULAR FRACTIONS
OF RATS OF PUBERTAL AGE UNDER CONDITIONS
OF IMMOBILIZATION STRESS
- Turchyn M. V.* (Ternopil) DYNAMIC PARAMETERS
OF ENDOGENOUS INTOXICATION OF BLOOD
AND AQUEOUS HUMOR IN CASE OF EXPERIMENTAL
CORNEAL MECHANICAL NONPENETRATIVE INJURY
- Shvets I. Ye., Dyryk V. T., Sloboda M. T.* (Lviv)
DYNAMICS OF BIOCHEMICAL PARAMETERS
OF BLOOD SERUM IN ANIMALS WITH SIMULATED
PERIODONTAL DISEASE ON THE BACKGROUND
OF EXPERIMENTAL DEFEATS OF THE DIGESTIVE
TRACT
- Hasyuk N. V.* (Ternopil) CYTOCHEMICAL AND
CYTOLOGICAL OF PROCESSES OF
DIFFERENTIATION OF BUCCAL EPITHELIUM IN
YOUNGER MALES IN THE NORM CHARACTERISTIC
- Kovalyshyn O. A.* (Lviv) STATE OF PROTEINASE-
INHIBITORY SYSTEM IN THE LUNGS UNDER THE
CONDITION OF THE DEVELOPMENT OF
EXPERIMENTAL PNEUMONIA

Котик А. О. (Тернопіль) ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО ОБМІНУ В ЖІНОК ІЗ ЛЕЙОМІОМОЮ МАТКИ	69	Kotyk A. O. (Ternopil) CHARACTERISTIC OF MARKERS OF PHOSPHORUS – CALCIUM METABOLISM IN WOMEN WITH UTERINE MYOMA	
Пасічник М. А. (Львів) СТАН ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ ТІОТРИАЗОЛІНОМ	72	Pasichnyk M. A. (Lviv) STATE OF PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN LIVER UNDER CONDITIONS OF FORMATION OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS AND CORRECTION OF ITS DISTURBANCES WITH THIOTRIAZOLIN	
Мачоган В. Р. (Тернопіль) ПОКАЗНИКИ КІСТКОВОГО ОБМІНУ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА І СИРОВАТЦІ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ	75	Machogan V. R. (Ternopil) INDICATORS OF BONE METABOLISM IN PARODONTIUM TISSUES AND BLOOD SERUM OF WHITE RATS AT EXPERIMENTAL PARODONTITIS	
Цвинтарна І. Я. (Тернопіль) ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ПРИ ЗМІНЕНІЙ РЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ	79	Tsvyntarna I. Ya. (Ternopil) DYNAMICS OF PARAMETERS OF ANTIOXIDANT DEFENSE OF ORAL MUCOUS MEMBRANE IN EXPERIMENTAL PARODONTITIS WITH MODIFIED REACTIVITY	
Кравець Б. Б., Регада М. С. (Львів) РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО КЕРАТИТУ НА ТЛІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ І ПНЕВМОНІЇ	83	Kravets B. B., Regeda M. S. (Lviv) ROLE OF VIOLATIONS OF PROCESSES OF PEROXIDE LIPIDS OXIDATION AND ANTIRADICAL DEFENCE IN BLOOD IN THE DYNAMICS OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL BACTERIAL KERATITIS ON A BACKGROUND OF BRONCHIAL ASTHMA AND PNEUMONIA	
Лимар Л. Є. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ТА БІЛКОВОУТВОРЮВАЛЬНОЇ ФУНКЦІЙ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ В СТАТЕВОЗРІЛИХ САМОК БІЛИХ ЩУРІВ ТА ЇХ ВПЛИВ НА РЕПРОДУКЦІЮ	88	Lymar L. Ye. (Ternopil) FEATURES OF ENZYMATIC AND PROTEIN- SYNTHESIZING FUNCTION OF THE LIVER IN EXPERIMENTAL CHRONIC TOXIC HEPATITIS IN MATURE FEMALE OF WHITE RATS AND THEIR IMPACT ON REPRODUCTION	
Дем'янчук Н. Р., Белявська Б. М., Лаповець Л. Є., Акімова В. М. (Львів) РІВЕНЬ ІЛ-8 У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ГРУДНОМУ МОЛОЦІ ПРИ ГНІЙНИХ ЛАКТАЦІЙНИХ МАСТИТАХ	92	Demianchuk N. R., Beliavska B. M., Lapovets L. Ye., Akimova V. M. (Lviv) CONCENTRATION OF IL-8 IN BLOOD SERUM AND BREAST MILK WITH PURULENT LACTATION MASTITIS	
Лотоцька С. В. (Тернопіль) ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ	95	Lototska S. V. (Ternopil) CHANGING RATES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE	
Ференц Н. М., Юревич В. Р. (Львів) РОЛЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ У ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ І КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ КОРВІТИНОМ	100	Ferents N. M., Yurevych V. R. (Lviv) ROLE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN LIVER IN THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA AND IMMOBILIZATION STRESS AND CORRECTION OF THEIR VIOLATIONS BY CORVITIN	
Кулянда О. О. (Тернопіль) СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТВАРИН З ПОЛІТРАВМОЮ ПІСЛЯ ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ КОРЕКЦІЇ	104	Kulyanda O. O. (Ternopil) ANTIOXIDANT PROTECTION STATUS OF ANIMALS WITH POLYTRAUMA AFTER COMPREHENSIVE CORRECTION	
ОГЛЯДИ		REVIEWS	
Демкович А. Є. (Тернопіль) ПАТОГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ В МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ І ПЕРЕБІГУ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПАРОДОНТІ	107	Demkovych A. Ye. (Ternopil) PATHOGENETIC FACTORS IN THE MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND COURSE OF PARODONTIUM INFLAMMATORY PROCESSES	
Куліцька М. І., Миронюк Д. Б., Криницька І. Я., Яремчук О. З. (Тернопіль) ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ГЕПАТОРЕНАЛЬНОГО СИНДРОМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	114	Kulitska M. I., Myronyuk D. B., Krynytska I. Ya., Yaremchuk O. Z. (Ternopil) PATHOGENETIC ASPECTS OF HEPATORENAL SYNDROME (LITERATURE REVIEW)	
ЮВІЛЕЇ		JUBILEES	
ДО ЮВІЛЕЮ ПРОФЕСОРА М. М. КОРДИ	121	TO THE JUBILEE OF PROFESSOR M. M. KORDA	
ДО 85-РІЧЧЯ ДОКТОРА МЕДИЧНИХ НАУК, ПРОФЕСОРА Я. І. ГОНСЬКОГО	123	TO THE 85 TH ANNIVERSARY OF DOCTOR OF MEDICAL SCIENCE, PROFESSOR YA. I. HONSKYI	
ДО 75-РІЧЧЯ ВИДАТНОГО НАУКОВЦЯ	124	TO THE 75 TH ANNIVERSARY OF OUTSTANDING SCIENTIST	

О. В. Зайцева, С. Г. Шандренко, М. М. Великий
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМЕНІ О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

ВПЛИВ НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ НА МІНЕРАЛЬНИЙ МЕТАБОЛІЗМ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО ОСТЕОПОРОЗУ

На моделі аліментарного остеопорозу дослідили вплив індукованого нітрозативного стресу на метаболізм кісткової тканини щурів. Як індуктор нітрозативного стресу використовували вакцину БЦЖ. Показано, що вітамін D₃-дефіцитний остеопороз за введення вакцини БЦЖ призводить до оксидативно-нітрозативного стресу в щурів, розвиток якого реєстрували за накопиченням NO в лейкоцитах, зміною вмісту альдегідів, продуктів пероксидного окиснення ліпідів, SH-груп низькомолекулярних сполук та карбонільних груп протеїнів. Встановлено, що інтенсифікація синтезу NO на тлі остеопорозу викликає зміни інтенсивності мінерального обміну кісткової тканини. Стабілізується рівень кальцію та знижується активність лужної фосфатази. Отримані результати свідчать про те, що високі концентрації NO впливають на функціонування клітин кісткової тканини та гальмують процес резорбції кістки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: остеопороз, вітамін D₃, БЦЖ, нітрозативний стрес, кісткова тканина.

ВСТУП. На сьогодні відомо, що NO має поліфункціональну фізіологічну дію [11]. Цей вільний радикал здатен проявляти як активуючу, так і інгібуючу дії різних метаболічних процесів, що перебігають в організмі [8]. Генерація NO зумовлюється різними типами NO-синтаз: нейрональною (nNOS, тип I), індучибельною (iNOS, тип II) та ендотеліальною (eNOS, тип III). Ензими як субстрат використовують L-аргінін та молекулярний кисень [2].

В останні роки стало очевидним, що NO регулює функціонування клітин кісткової тканини [20]. Ізоформа eNOS постійно експресується в кістковій тканині, й невеликі концентрації NO, що утворюються при цьому, є необхідними для нормального функціонування остеокластів. Ізоформа iNOS експресується в клітинах кісткової тканини у відповідь на розвиток патологічних процесів, зокрема запалення. Прозапальні цитокіни, такі, як IL-1 та TNF (фактор некрозу пухлини), інтерферони [18] або введення бактеріального ліпополісахариду (вакцина БЦЖ) [10] зумовлюють активацію гена iNOS, що призводить до гіперпродукування NO і розвитку нітрозативного стресу. Утворений NO може мати як прямий вплив на клітини організму, так і опосередкований, який реалізується через дію продуктів реакції NO з

© О. В. Зайцева, С. Г. Шандренко, М. М. Великий, 2015.

іншими молекулами, такими, як кисень чи супероксид, відіграючи, таким чином, провідну роль у патофізіології запалення та оксидативно-нітрозативного стресу [15]. Оксид азоту, що утворюється в результаті індукції iNOS, сприяє ядерній транслокації фактора транскрипції NFκB у попередниках остеокластів та є причиною NO-індукованого апоптозу останніх [18]. Високі концентрації NO здатні безпосередньо інгібувати формування та активність клітин кісткової тканини [14, 23].

Незважаючи на численні дослідження, значення NO в системній регуляції гомеостазу кісткової тканини за умов різних патологій, у тому числі й остеопорозу, не цілком зрозуміле. Тому метою даної роботи було дослідити вплив індукованого нітрозативного стресу на зміну основних показників мінерального обміну кісткової тканини при аліментарному (вітамін D₃-дефіцитному) остеопорозі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих щурах-самицях лінії Вістар масою 80 г. Експериментальну модель D-гіповітамінозу викликали, утримуючи тварин на синтетичному раціоні без вітаміну D₃ зі збалансованим вмістом кальцію (1,2 %) та фосфору (0,7 %) протягом 45 днів. Щурів поділили на три групи по п'ять тварин у кожній. Контрольних

тварин протягом місяця утримували на вітамін D₃-збалансованій дієті. Щурів 2-ї та 3-ї груп протягом 45 днів утримували на D₃-гіповітамінному раціоні. Додатково тваринам 3-ї групи на 30 день експерименту для індукції нітрозативного стресу інтраперитонеально ввели 0,5 мг/кг мікобактерій вакцинного штаму БЦЖ-1. Встановленим фактом є те, що ін'єкція щурам вакцини БЦЖ суттєво посилює ендогенний синтез NO. Це посилення досить суттєве вже через 6 год та максимальне на 10-й день після введення БЦЖ, далі воно поступово зменшується і до 20-го дня зникає [10]. Тому тварин виводили з експерименту на 15 день після введення вакцини БЦЖ.

Для аналізу використовували кров, печінку та стегнову кістку піддослідних тварин.

Остеометричні дослідження стегнової кістки щурів проводили згідно з В. П. Олексєвим [1]. Рівень кальцію, фосфату та загальну активність лужної фосфатази визначали у плазмі крові за допомогою стандартних наборів фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна).

Рівень NO в лейкоцитах щурів визначали за використанням діамінофлуоресцеїну діацетату (DAF-2DA) ("Sigma", США). До 1 мл виділеної суспензії лейкоцитів додавали 2 мкл DAF-2DA (5 mM) та інкубували 30 хв при 37 °C у темряві. Продукцію NO оцінювали на протоковому цитометрі COULTER EPICS XL ("Beckman Coulter", США).

Загальний вміст альдегідів у зразках печінки та крові визначали пурпалдним методом [19]. Осадження протеїнів проводили шляхом додавання насиченого розчину Ba(OH)₂ та 20 % розчину ZnSO₄. Після цього центрифугували 10 хв при 4000 g, 4 °C. До 1 мл супернатанту додавали 0,5 мл розчину 0,1 % пурпалду ("Sigma", США) в 2 N NaOH. Через 15 хв додавали 0,5 мл 0,07 % періодату натрію ("Альфа-рус", Україна). Оптичну густину забарвленого розчину визначали при довжині хвилі 550 нм за допомогою спектрофотометра "μQuant" ("Biotek", США). Як стандарт використовували розчин формальдегіду.

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у плазмі крові визначали за накопиченням тіобарбітуратреагуючих (ТБК-реагуючих) продуктів [17]. Протеїни плазми осаджували 20 % трихлороцтовою кислотою (ТХО). Центрифугували зразки 15 хв при 2200 g, 4 °C. До 200 мкл супернатанту додавали 250 мкл 0,67 % розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) ("Альфа-рус", Україна). Зразки витримували 20 хв на водяній бані, що кипить, охолоджували та вимірювали оптичну густину при

довжині хвилі 532 нм за допомогою спектрофотометра "μQuant" ("Biotek", США).

Вміст SH-груп низькомолекулярних сполук визначали в печінці за реакцією з о-фталевим альдегідом [13]. Протеїни осаджували 6 % розчином ТХО. Центрифугували 10 хв при 2200 g, 4 °C. До 10 мкл надосаду додавали 180 мкл натрій-фосфатного буфера та 10 мкл 1 % розчину о-фталевого альдегіду ("Fluka", Австрія). Інкубували 15 хв при 37 °C у темряві. Вимірювання проводили при λ_{ex} 360 нм та λ_{em} 420 нм за допомогою флуориметра FLx800 ("Biotek", США).

Вміст карбонільних груп, модифікованих 2,4-динітрофенілгідразиним, у протеїнах плазми крові визначали специфічними антитілами Rabbit Anti-DNP (2,4-динітрофенілгідразон) Antibody ("Sigma", США) у твердофазному імуноферментному аналізі (т-ІФА) за стандартною методикою [12]. Оптичну густину визначали при довжині хвилі 490 нм за допомогою спектрофотометра "μQuant" ("Biotek", США).

Активність супероксиддисмутази (СОД) детектували хемілюмінесцентним методом за інгібуванням швидкості утворення супероксидного радикала системою ксантин-ксантиоксидаза в бікарбонатному буфері (рН 10,2). За одиницю активності ензиму брали інгібування швидкості утворення O₂ на 50 %.

Активність каталази визначали за швидкістю розкладання пероксиду гідрогену та виражали у мкмольях розкладеного пероксиду за 1 хв на 1 мг протеїну.

Вміст протеїнів визначали методом Бредфорд.

Усі маніпуляції з тваринами проводили, дотримуючись вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001).

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента у програмі Excel (вірогідними вважали відмінності за p<0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як уже було показано в попередніх роботах, за умов аліментарної форми остеопорозу знижується вміст 25ОНD₃ у сироватці крові, порушуються метаболічні процеси в кістковій тканині [7]. Розвиток остеопорозу підтверджено результатами остеометричних та біохімічних досліджень [3, 5].

У проведеній експериментальній роботі в щурів, яких утримували на D-гіповітамінному

раціоні протягом двох місяців для моделювання остеопорозу, відбулися зниження загальної маси тіла на 57 %, зменшення маси і вертикального діаметра головки стегнової кістки на 47 та 14 % відповідно, а також скорочення довжини стегнової кістки на 32 % відносно контрольних тварин. Дефіцит вітаміну D₃ або порушення його обміну зумовили розвиток гіпокальціємії, яка супроводжувалася яскраво вираженою гіпофосфатемією. Так, у плазмі крові щурів з розвиненим аліментарним остеопорозом загальний вміст кальцію знизився на 23 %, а вміст неорганічного фосфату – на 79 %. Важливо також відмітити, що активність лужної фосфатази в щурів з аліментарним остеопорозом підвищилася більше ніж у 2 рази. Отримані дані підтверджують адекватність обраної моделі для розвитку остеопорозу.

Відомо, що NO, залежно від його концентрації, може як стимулювати, так і інгібувати метаболізм кісткової тканини [18, 23]. Тому головним завданням даного дослідження було визначити вплив гіперпродукування NO в результаті посиленої експресії гена iNOS на зміну основних показників мінерального обміну кісткової тканини.

Високі (понад 1 мкмоль [21]) концентрації NO сприяють розвитку оксидативно-нітрозативного стресу, за якого виснажуються антиоксидантні й репаруючі ДНК системи та посилюється реалізація дії NO [11]. На сьогодні безпосереднє визначення рівня NO в біологічних зразках є проблемним. Це пов'язано з методичними труднощами, що виникають при дослідженні обміну NO і його властивостей, зокрема: радикальна природа, обмежений термін життя (декілька секунд) та радіус дії, взаємодія із залізом, O₂, а особливо із супероксидом (O₂⁻) [16]. Тому для більш точного визначення NO було обрано чуттєвий метод з використанням барвника DAF-2DA. Проникаючи через мембрану клітини, DAF-2DA деацилюється неспецифічними цитозольними естеразами до DAF-2, який вступає в реакцію з N₂O₃ (продукт реакції NO з киснем) та утворює високофлуоресцентне похідне триазолофлуоресцеїн [22]. Аналіз цитофлуорограм (рис. 1, А I, II, III; Б) показав, що в щурів із розвиненим остеопорозом відбулося достовірне підвищення рівня NO в лейкоцитах у 2,5 рази відповідно до контрольного значення.

Отримані результати можна пояснити тим, що недостатнє забезпечення організму вітаміном D₃ супроводжується розвитком оксидативного стресу, за якого прооксидантні процеси переважають над активністю антиоксидантних систем із посиленням утворенням активних

форм кисню та азоту [7]. Індукція нітрозативного стресу після введення вакцини БЦЖ призвела до зростання рівня NO майже в 2 рази порівняно з групою щурів із розвиненим D-гіповітамінозом (рис. 1, В), що підтвердило посилення продукування NO в організмі тварин.

Додатково визначали маркери, які характеризують розвиток оксидативно-нітрозативних процесів в організмі щурів з аліментарним остеопорозом та індукованим нітрозативним стресом. Активні форми кисню та азоту можуть проявляти в організмі регуляторну або пошкоджувальну дію. Токсична дія активних форм кисню та азоту реалізується при станах оксидативно-нітрозативного стресу, які супроводжуються значною інтенсифікацією вільнорадикальних процесів та зниженням активності антиоксидантних систем. За умов аліментарного остеопорозу розвиток оксидативно-нітрозативного стресу підтверджується значними змінами вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів [4] та ПОЛ. За різних патологічних станів, зокрема остеопорозу, окисна модифікація протеїнів є одним із маркерів оксидативно-нітрозативного стресу [6]. Окисній модифікації піддаються майже всі амінокислотні залишки, що може викликати утворення додаткових внутрішньо- та міжмолекулярних зшивок, агрегацію і фрагментацію протеїнів, зміну їх властивостей тощо [4, 7]. Результати, наведені в таблиці 1, вказують на те, що за умов D-гіповітамінозу вміст карбонільних груп протеїнів у плазмі крові щурів збільшився на 36 % порівняно з контрольними тваринами.

Спостерігали підвищення загального рівня альдегідів у плазмі крові та печінці тварин на 33 і 37 % відповідно (табл. 1), а також збільшення рівня ТБК-реагуючих продуктів у плазмі крові на 60 %, що свідчило про суттєве посилення процесів ПОЛ. Також відбулося зниження на 77 % вмісту SH-груп низькомолекулярних сполук у печінці щурів із розвиненим аліментарним остеопорозом. Активність основних ензимів антиоксидантного захисту, таких, як СОД і каталаза, зросла за умов аліментарного остеопорозу в 4 та 1,6 рази відповідно (табл. 1), що вказувало на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу.

У щурів із додатково індукованим нітрозативним стресом досліджувані показники залишилися майже на тому ж рівні, що й у щурів з аліментарним остеопорозом. Отримані результати можна пояснити тим, що високі концентрації NO, які утворюються в результаті індукції нітрозативного стресу, здатні пригнічувати подальшу експресію iNOS. У роботі [9] показано, що NO ендогенного походження,

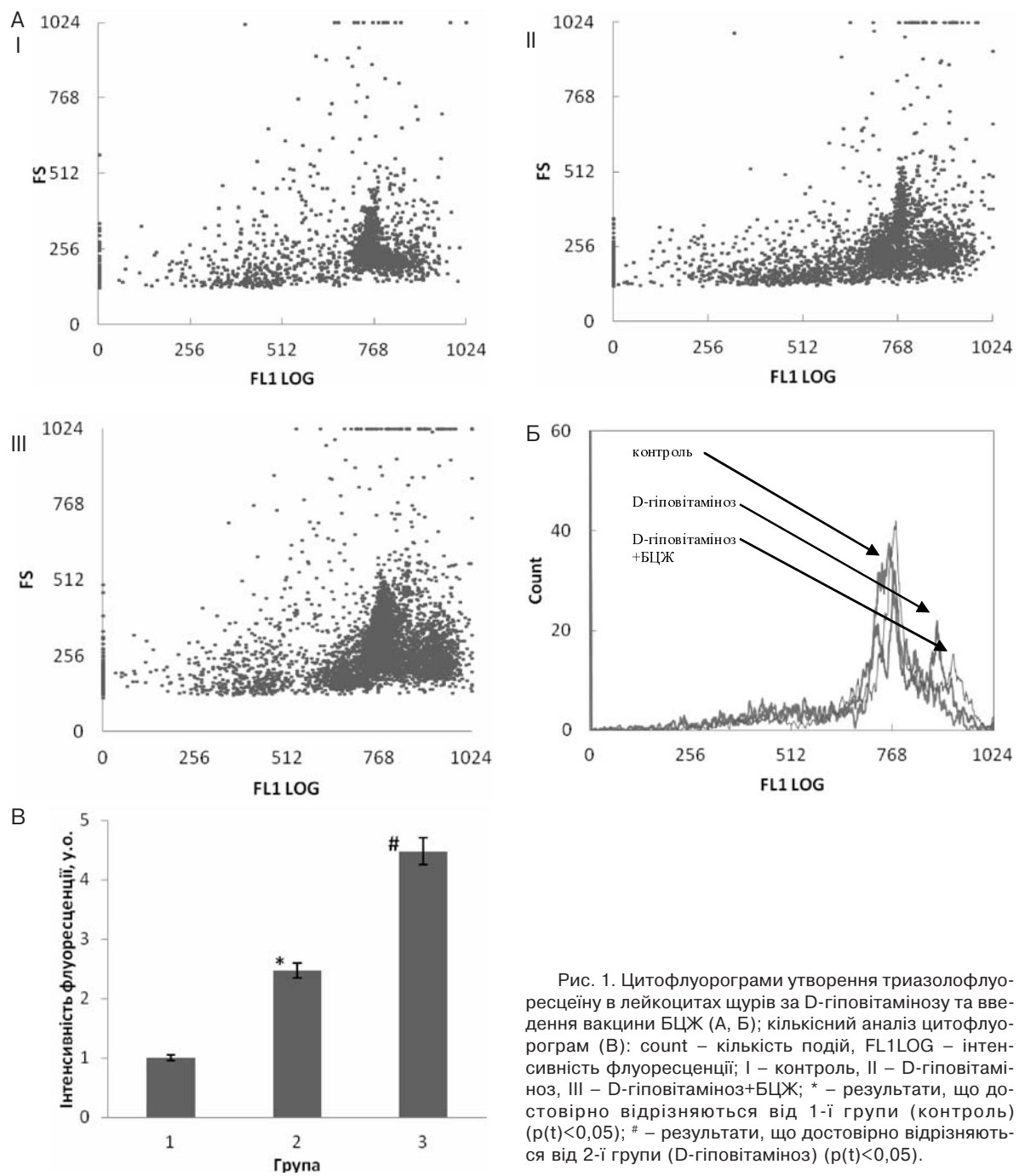


Рис. 1. Цитофлуорограми утворення триазолофлуоресцеїну в лейкоцитах щурів за D-гіповітамінозу та введення вакцини БЦЖ (А, Б); кількісний аналіз цитофлуорограм (В): count – кількість подій, FL1LOG – інтенсивність флуоресценції; I – контроль, II – D-гіповітаміноз, III – D-гіповітаміноз+БЦЖ; * – результати, що достовірно відрізняються від 1-ї групи (контроль) ($p(t)<0,05$); # – результати, що достовірно відрізняються від 2-ї групи (D-гіповітаміноз) ($p(t)<0,05$).

або такий, що продукується за рахунок S-нітросо-N-ацетилпеніциламіну, послаблює як синтез NO, так і експресію мРНК iNOS та синтез самого ензиму. В міру підвищення рівня NO включається система зворотного зв'язку, що негативно впливає на активність ензиму та здатність NFκB зв'язуватися з ДНК. Цим досягається жорстка регуляція синтезу NO. Наявність цього негативного зворотного зв'язку забезпечує зниження накопичення NO в гепатоцитах, попереджуючи, тим самим, пошкоджувальну дію NO на тканину [9]. Таким чином, можна припустити, що в разі додаткової

індукції нітрозативного стресу на фоні аліментарного остеопорозу після суттєвого підвищення рівня NO відбувається послаблення експресії гена iNOS за рахунок активації системи негативного зворотного зв'язку високими концентраціями NO. Це призводить до гальмування окисних процесів та активації систем захисту клітин організму від пошкоджувальної дії NO.

Аналіз результатів остеометрії стегнової кістки свідчить про те, що введення вакцини БЦЖ не призвело до достовірних змін показників остеометрії порівняно з тваринами з

Таблиця 1 – Вміст компонентів оксидативно-нітрозативного стресу в плазмі крові та печінці щурів за експериментального остеопорозу і при ін'єкції вакцини БЦЖ ($M \pm m$, $n=5$)

Показник		Контроль	D-гіповітаміноз	D-гіповітаміноз+БЦЖ
Протеїнові карбонільні групи, ум. од.	плазма	1,0±0,04	1,36±0,07*	1,28±0,04*
Загальний вміст альдегідів, нмоль/мг протеїну	плазма	0,6±0,1	0,8±0,1*	0,9±0,1*
	печінка	0,8±0,2	1,1±0,2*	0,7±0,1
ТБК-реагуючі продукти, нмоль/мг протеїну	плазма	0,5±0,1	0,8±0,1*	0,7±0,2*
SH-групи низькомолекулярних сполук, мкмоль/г тканини	печінка	9,0±2,0	6,9±1,3*	7,6±1,0*
Супероксиддисмутаза, Од/мг протеїну	кров	70±11	273±44*	199±45*
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /хв·мг протеїну	кров	160±13	263±26*	337±14*#

Примітки. Тут і в таблиці 3:

1. * – результати, що достовірно відрізняються від 1-ї групи (контроль) ($p(t)<0,05$).

2. # – результати, що достовірно відрізняються від 2-ї групи (D-гіповітаміноз) ($p(t)<0,05$).

розвиненим аліментарним остеопорозом (табл. 2).

Незміненими залишилися маса кістки, найбільша довжина та вертикальний діаметр головки стегнової кістки. Але відбулися досить суттєві зміни рівня показників мінерального обміну після індукції нітрозативного стресу (табл. 3). Загальний рівень кальцію та неорганічного фосфату, порівняно зі значеннями за аліментарного остеопорозу, підвищився на 22 та 25 % відповідно. Зростання показників мінерального обміну під дією ендогенного синтезу NO на тлі остеопорозу корелювало зі зниженням загальної активності лужної фосфатази (на 40 %). Однак це значення залишилося вищим порівняно з контролем (табл. 3).

Отримані результати свідчать про позитивний вплив NO на мінеральний обмін кісткової тканини за умов аліментарного остеопорозу в щурів. Як уже зазначалося, високі концентрації NO можуть призводити до NO-індукованого

апоптозу попередників остеокластів або інгібувати їх формування та активність [18]. Одним із механізмів інгібування остеокластної активності оксидом азоту є модифікація катепсину К, який експресується остеокластами у великій кількості та відіграє ключову роль у кістковій резорбції, беручи безпосередню участь в деградації колагену кісткової тканини. Оксид азоту та деякі його донори інгібують активність катепсину К за рахунок окиснення тіолових залишків цього протеїну, що, у свою чергу, призводить до інгібування процесів резорбції кістки [23]. Також, за нашими припущеннями, позитивний ефект NO може бути пов'язаний зі стабілізацією колагену кісткової тканини, оскільки нітрозативний стрес, який виникає після введення вакцини БЦЖ, може посилювати утворення постсинтетичних зшивок за рахунок утворення додаткових внутрішньо- та міжмолекулярних зшивок у молекулі колагену і, таким чином, стабілізувати структуру остеона.

Таблиця 2 – Остеометричні показники стегнової кістки щурів за аліментарної форми остеопорозу і при ін'єкції вакцини БЦЖ ($M \pm m$, $n=5$)

Група тварин	Маса тварини, г	Маса кістки, г	Найбільша довжина стегнової кістки, мм	Вертикальний діаметр головки стегнової кістки, мм
Контроль	231±29	0,68±0,06	30,4±0,3	3,6±0,3
D-гіповітаміноз	99±14*	0,36±0,02*	20,6±0,6*	3,1±0,0*
D-гіповітаміноз+БЦЖ	97±21*	0,36±0,04*	20,7±0,1*	3,5±0,4

Примітка. * – результати, що достовірно відрізняються від 1-ї групи (контроль) ($p(t)<0,05$).

Таблиця 3 – Мінеральний обмін та активність лужної фосфатази в плазмі крові щурів за аліментарної форми остеопорозу і при ін'єкції вакцини БЦЖ ($M \pm m$, $n=5$)

Група тварин	Загальна лужна фосфатаза, Од/л	Загальний кальцій, ммоль/л	Неорганічний фосфат, ммоль/л
Контроль	134±22	3,0±0,3	1,9±0,2
D-гіповітаміноз	291±50*	2,3±0,2*	0,4±0,1*
D-гіповітаміноз+БЦЖ	173±17*#	2,8±0,1#	0,5±0,1*

ВИСНОВКИ. Результати проведених досліджень свідчать про те, що утримування щурів на D-гіповітамінозному раціоні призводить до розвитку остеопорозу, який характеризується зменшенням маси тіла та маси стегнової кістки. Знижується рівень кальцію, фосфату та підвищується активність загальної лужної фосфатази у плазмі крові. За

недостатньої забезпеченості вітаміном D₃ та після введення вакцини БЦЖ достовірно зростає рівень NO в лейкоцитах тварин та індукується оксидативно-нітрозативний стрес. Індукований нітрозативний стрес призводить до змін інтенсивності мінерального обміну кісткової тканини щурів з аліментарним остеопорозом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев В. П. Остеометрия. Методика антропологических исследований / В. П. Алексеев. – М. : Наука, 1966. – 251 с.
2. Дмитренко Н. П. Роль взаимодействия путей метаболизма формальдегида и оксида азота в механизме их токсического действия. I. Экзо- и эндогенные источники формальдегида и оксида азота. Токсическое действие формальдегида / Н. П. Дмитренко, А. Холиан // Укр. биохим. журн. – 2005. – **77**, № 1. – С. 22–31.
3. Ефективність біофармацевтичного препарату “Мебівід” у попередженні порушень обміну вітаміну D₃ та кальцію за аліментарного остеопорозу / С. В. Комісаренко, Л. І. Апуховська, В. М. Рясний [та ін.] // Біотехнологія. – 2011. – **4**, № 1. – С. 74–81.
4. Зайцева О. В. Модифікація спектрофотометричного методу визначення карбонільних груп протеїнів / О. В. Зайцева, С. Г. Шандренко // Укр. біохім. журн. – 2012. – **84**, № 5. – С. 112–116.
5. Імуномодулююча дія вітаміну D₃ та бісфосфонатів при аліментарному остеопорозі в щурів / В. М. Рясний, Л. І. Апуховська, М. М. Великий [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2012. – **84**, № 2. – С. 73–80.
6. Луцка В. И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В. И. Луцка // Биохимия. – 2007. – **72**, № 8. – С. 995–1017.
7. Особливості перебігу процесів пероксидного окислення біомолекул у печінці щурів за недостатньої забезпеченості вітаміном D₃ / М. М. Великий, О. В. Зайцева, І. О. Шиманський [та ін.] // Біологічні системи. Науковий вісник Чернівецького університету (Біологія). – 2013. – **5**, № 4. – С. 287–294.
8. Серая И. П. Современные представления о биологической роли оксида азота / И. П. Серая, Я. Р. Нарциссов // Усп. совр. биологии. – 2002. – **122**, № 3. – С. 249–258.
9. Тейлор Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б. С. Тейлор, Л. Х. Аларсон, Т. Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – **63**, № 7. – С. 905–923.
10. Шандренко С. Г. Синтез оксида азота у крыс при инъекции вакцины БЦЖ / С. Г. Шандренко, Н. П. Дмитренко // Укр. биохим. журн. – 2001. – **73**, № 3. – С. 55–60.
11. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation / F. Aktan // Life Science. – 2004. – **75**. – P. 639–653.
12. High sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for measuring protein carbonyl in samples with low amounts of protein / D. H. Alamdari, E. Kostidou, K. Paletas [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – **39**, № 10. – P. 1362–1367.
13. Hu M. L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma / M. L. Hu // Methods Enzymol. – 1994. – **233**. – P. 380–385.
14. Inducible nitric oxide synthase mediates bone development and P. gingivalis-induced alveolar bone loss / R. Gyurko, H. Shoji, R. A. Battaglini [et al.] // Bone. – 2005. – **36**. – P. 472–479.
15. Inducible nitric oxide synthase mediates bone loss in ovariectomized mice / S. Cuzzocrea, E. Mazzon, L. Dugo [et al.] // Endocrinology. – 2003. – **144**, № 3. – P. 1098–1107.
16. Intracellular nitric oxide assessment in whole blood leukocytes by flow cytometry: Optimization and applicability to monitor patients with chronic graft nephropathy / N. C. C. Schachnik, V. Peruhype-Magalhaes, G. M. M. Paula [et al.] // Journal of Immunological Methods. – 2009. – **343**. – P. 103–111.
17. Janero D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury / D. R. Janero // Free Rad. Biol. Med. – 1990. – **9**, № 6. – P. 515–540.
18. Kim P. K. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis / P. K. Kim, R. Zamora, P. Petrosko // International Immunopharmacology. – 2001. – **1**, № 8. – P. 1421–1441.
19. Lee C. H. Quantification of bacterial lipopolysaccharides by the purpald assay: Measuring formaldehyde generated from 2-keto-3-deoxyoctonate and heptose at the inner core by periodate oxidation / C. H. Lee, C. M. Tsai // Anal. Biochem. – 1999. – **267**. – P. 161–168.
20. Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis / S. Ozgocmen, H. Kaya, E. Fadillioglu [et al.] // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2007. – **295**. – P. 45–52.

21. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling / D. D. Thomas, L. A. Ridnour, J. S. Isenberg [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2008. – **45**. – P. 18–31.

22. Use of diaminofluoresceins to detect and measure nitric oxide in low level generating human

immune cells / A. Tiscornia, E. Cairoli, M. Marquez [et al.] // Journal of Immunological Methods. – 2009. – **342**. – P. 49–57.

23. Van't Hof R. J. Nitric oxide and bone / R. J. Van't Hof, S. H. Ralston // Immunology. – 2001. – **103**. – P. 255–261.

О. В. Зайцева, С. Г. Шандренко, Н. Н. Великий
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНИ, КИЕВ

ВЛИЯНИЕ НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА НА МИНЕРАЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

Резюме

На модели алиментарного остеопороза исследовали влияние индуцированного нитрозативного стресса на метаболизм костной ткани крыс. В качестве индуктора нитрозативного стресса использовали вакцину БЦЖ. Показано, что витамин D₃-дефицитный остеопороз при введении вакцины БЦЖ приводит к развитию оксидативно-нитрозативного стресса у крыс, интенсивность которого регистрировали по накоплению NO в лейкоцитах, изменению содержания альдегидов, продуктов пероксидного окисления липидов, SH-групп низкомолекулярных соединений и карбонильных групп протеинов. Установлено, что интенсификация синтеза NO на фоне остеопороза вызывает изменения интенсивности минерального обмена костной ткани. Стабилизируется уровень кальция и снижается активность щелочной фосфатазы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что высокие концентрации NO влияют на функционирование клеток костной ткани и тормозят процесс резорбции кости.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: остеопороз, витамин D₃, БЦЖ, нитрозативный стресс, костная ткань.

O. V. Zaitseva, S. G. Shandrenko, M. M. Veliky
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE, KYIV

EFFECT OF NITROSATIVE STRESS ON THE BONE MINERAL METABOLISM OF RATS UNDER ALIMENTARY OSTEOPOROSIS

Summary

On the alimentary osteoporosis model it was investigated the effect of induced nitrosative stress on bone metabolism in rats. As nitrosative stress inducer BCG vaccine was used. It was shown that the vitamin D₃-osteoporosis under BCG vaccine administration leads to the oxidative-nitrosative stress development. In this condition the level of NO in leukocytes, total content of aldehydes, products of lipid peroxidation, low-molecular weight SH-groups and protein carbonyl groups was determined. It was established that the intensification of NO synthesis under alimentary osteoporosis led to the changes in the bone mineral metabolism intensity. It was stabilized the calcium level and reduced the alkaline phosphatase activity. Obtained results indicated that NO high concentrations influence on the bone cells functioning and inhibition of bone resorption process.

KEY WORDS: osteoporosis, vitamin D₃, BCG, nitrosative stress, bone tissue.

Отримано 16.10.14

Адреса для листування: О. В. Зайцева, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01610, Україна, e-mail: Zaitseva_OV@ukr.net.

СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ 1-[4-(1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОКСИ]-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛУ

Здійснено синтез, вивчено фізико-хімічні властивості та антимікробну активність четвертинних солей 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу.

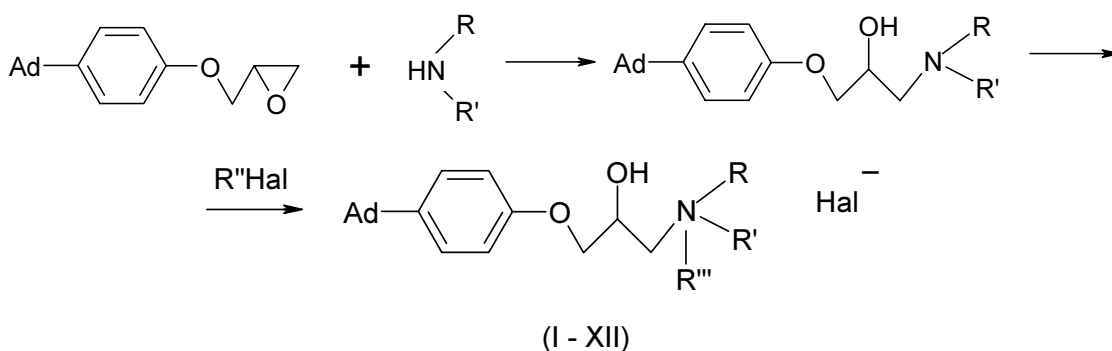
КЛЮЧОВІ СЛОВА: адамантан, діалкіламінопропаноли, антибактеріальна активність, антифунгальна дія.

ВСТУП. У клінічній практиці для лікування та профілактики захворювань, зумовлених патогенними мікроорганізмами, застосовують близько 30 груп антимікробних засобів. Незважаючи на своєчасне їх використання, кількість інфекційних захворювань не зменшується. Однією з причин недостатньої ефективності терапії є зниження чутливості збудників до антимікробних препаратів, що сприяє хронізації процесу та збільшує матеріальні витрати на лікування пацієнтів [5, 6]. Зменшення ефективності препаратів, зростання кількості антибіотикорезистентних штамів потребують пошуку активних сполук та розробки на їх основі нових антимікробних препаратів. Пошук активних речовин здійснюють як серед відомих класів, так і серед нових структур. У роботах [7, 8] раніше було показано, що похідні 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу, а також деякі їх четвертинні солі проявляють значні антибактеріальні та антифунгальні ефекти.

З метою пошуку нових протимікробних сполук було синтезовано четвертинні солі 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Синтез вихідного 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-2,3-епоксипропану описано в роботі [7].

Об'єкти дослідження – похідні 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу (I–XII) синтезовано шляхом взаємодії 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-2,3-епоксипропану з 50 % надлишком вторинних амінів при нагріванні в ізопропанолі. Отримані адамантановмісні аміноспирти без виділення обробляли 5 % надлишком галоїдних алкілів (CH₃I, C₆H₅CH₂Cl, 4-NO₂-C₆H₄CH₂Cl, 4-CH₃O-C₆H₄CH₂Cl, CH₂=CH-CH₂I) в ацетоні чи ацетонітрилі, реакційну суміш гріли протягом 10 год, у результаті чого одержували четвертинні солі 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу за такою схемою:



© Ю. В. Короткий, Д. М. Дудікова, Н. О. Вринчану, О. А. Смертенко, 2015.

Отримані сполуки являли собою білі чи злегка жовтуваті речовини, малорозчинні у воді, добре – в етанолі, ДМСО (табл. 1). Будову та індивідуальність доведено ходом синтезу, даними елементного аналізу, ІЧ- та ПМР-спектроскопії. Дані елементного аналізу (С, N, H) відповідали обчисленим. В ІЧ-спектрах (KBr, плівка, см^{-1}) синтезованих сполук виявляли характерні смуги поглинання гідроксильної групи 3500–3200, 2975–2840 см^{-1} (CH_2 , CH_3), коливання простого етерного зв'язку 1150–1100 см^{-1} ; смуги поглинання NO_2 -групи 1540–1510 та 1360–1340 см^{-1} . У ПМР-спектрах спостерігали характерні сигнали адамантильного замісника (1,71–2,05 м.д.), дублет дублетів CH_2 -групи бензильних фрагментів (4,70–5,24 м.д.), групу сигналів ароматичних протонів (6,86–8,32 м.д.).

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА. ПМР-спектри синтезованих речовин знято на приладі VARIAN VXP, робоча частота складала 299,945 МГц, розчинник – ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт – ТМС. ІЧ-спектри знято на приладі UR-20 в таблетках KBr.

1-[4-(1-Адамантил)фенокси]-3-(N-бензил морфоліній)-2-пропанол хлорид (I). Загальна методика одержання. Суміш 1,42 г (0,05 моль) 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-2,3-епокси-пропану, 0,65 г (0,075 моль) морфоліну в 5 мл ізопропанолу кип'ятили 6–8 год. Надлишок аміну та спирту випаровували у вакуумі, залишок розчиняли в 10 мл ацетону, додавали 0,055 моль хлористого бензилу, кип'ятили впродовж 10 год. Після охолодження до реакційної суміші додавали 5 мл сухого діетилового етеру, витримували 4–6 год при температурі +5–+8 °С. Осад, який випав, фільтрували, промивали діетиловим етером, перекристалізували із суміші ацетон – діетиловий етер 6:4. Вихід – 2,12 г (72 %). $T_{\text{топл.}}$ – 211–213 °С (I).

Аналогічно було отримано інші четвертинні солі (II–XII).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Анти-мікробну активність синтезованих речовин (I–XII) визначали методом двократних серійних розведень [1, 9] у рідких поживних середовищах відносно грам-позитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грам-негативних (*Escherichia coli* ATCC 25922) бактерій та грибів (*Candida albicans* NCTC 885/653). Мікробне навантаження складало: $1-2 \times 10^5$ КУО/мл (бактерії), $1-2 \times 10^4$ грибних елементів/мл (гриби). Для досліджень використовували рідкі середовища: Мюллера–Хінтона та Сабуро. Культури

інкубували в термостаті 18–24 год при 35–37 °С (бактерії) або 24–48 год при 30–32 °С (гриби). В експериментах препаратом порівняння слугував мірамістин. Антимікробну активність оцінювали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК), який визначали як максимальне розведення речовин, при яких ріст візуально був відсутній упродовж визначеного експериментами часу. Результати наведено в таблиці 2.

Активність відносно грам-позитивних бактерій (*S. aureus*) проявили практично всі досліджені сполуки (за винятком сполуки IX), МІК – у діапазоні концентрацій 0,6–15,0 мкг/мл. Найбільш виражену антистафілококову дію спостерігали у сполук II, VII, XI, XII. За вираженням інгібуючого ефекту (МІК) усі сполуки мали переваги або не поступались препарату порівняння – мірамістину (крім сполук IV та VIII).

Відносно грам-негативних бактерій (*E. coli*) активність проявили сполуки I–VII. За ступенем вираження інгібуючого ефекту сполуки III, VI та VII переважали мірамістин.

Дослідження антифунгальних властивостей сполук показало, що усі вперше синтезовані речовини порушували ріст та розмноження грибів *C. albicans*, МІК – у діапазоні концентрацій 0,3–15,0 мкг/мл. Сполуки II, IV–VII, X за показником МІК переважали дію мірамістину.

На найбільш активні сполуки II, VI та VII отримано патенти України [2–4].

Таким чином, четвертинні солі 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу проявили полівалентну дію, інгібували ріст та розмноження як бактерій, так і грибів, що свідчить про перспективність створення на основі цих сполук препаратів для лікування захворювань, зумовлених мікст-збудниками.

ВИСНОВКИ. 1. Синтезовано 12 нових четвертинних солей 1-[4-(1-адамантил)фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу, будову яких підтверджено елементним аналізом, ІЧ- та ПМР-спектроскопією.

2. Встановлено, що вперше синтезовані сполуки проявляють як мононаправлену дію (сполука IV), так і широкий спектр антимікробної активності (сполуки I–III, V–VII, X–XII), пригнічуючи ріст та розмноження бактерій і грибів.

3. Доцільним є подальше вивчення властивостей найбільш активних сполук II, VI та VII з метою оцінки перспективності створення на їх основі нових ефективних антимікробних препаратів.

Таблиця 1 – Фізико-хімічні властивості сполук (I–XII)

Сполука	T _{топл.} , °С	Вихід, %	Брутто-формула	ПМР-спектр, δ, м.д.			Сигнали протонів інших груп
				Ad	ОН	Ar	
I	211–213	72	C ₃₀ H ₄₀ NO ₃ Cl	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,83 с (6H, 3xCH ₂) 2,04 с (3H, 3xCH)	6,24 д	6,92 д (2H), 7,27 д (2H), 7,54 м, 7,67 м (5H, C ₆ H ₅)	3,56 м, 3,78 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,99 м, 4,05 м (6H, OCH ₂ , (CH ₂) ₂ O), 4,71 м (1H, CH), 4,90 д, 4,97 д (2H, CH ₂ Ph)
II	194–196	68	C ₃₃ H ₄₆ NO ₂ Cl	1,71 с (6H, 3xCH ₂) 1,82 с (6H, 3xCH ₂) 2,04 с (3H, 3xCH)	6,02 д 6,19 д	6,86дд (2H), 7,26 дд (2H), 7,51 м, 7,64 м (5H, C ₆ H ₅)	1,29 (6H, м, 3xCH ₂ , циклогексил), 1,70–2,04 м (4H, 2xCH ₂ , циклогексил), 2,93 с, 3,04 с (3H, NCH ₃), 3,66 м (3H, CH ₂ N; NCH), 3,96 м (2H, OCH ₂), 4,40 (1H, CH), 4,60 м (2H, CH ₂ Ph)
III	225–227	58,5	C ₂₆ H ₄₀ NO ₂ I	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,83 с (6H, 3xCH ₂) 2,05 с (3H, 3xCH)	5,90 д	6,88 д (2H), 7,28 д (2H)	0,86 м (3H, CH ₃), 1,5–2,05 м (5H, (CH ₂) ₂ CH пиперидин), 3,07 с, 3,14 с (3H, NCH ₃), 2,83–3,30 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,95 м (2H, OCH ₂), 4,17 м (1H, CH)
IV	126–128	64	C ₃₀ H ₄₀ NO ₂ Cl	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,04 с (3H, 3xCH)	6,25 д	6,90 д (2H), 7,27 д (2H), 7,53 м, 7,66 м (5H, C ₆ H ₅)	2,1 м (4H, 2xCH ₂ пиролид.), 3,4–3,7 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,91 м, 4,00 м (2H, OCH ₂), 4,64 м (1H, CH), 4,76 дд (2H, CH ₂ Ph)
V	189–192	71,5	C ₃₂ H ₄₄ NO ₃ I	1,71 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,05 с (3H, 3xCH)	5,79 д	6,88 д (2H), 7,29 д (2H)	1,11 д (6H, 2xCH ₃), 3,10 м, 3,59 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,23 с, 3,29 с (3H, NCH ₃), 3,90–3,95 м (2H, OCH ₂), 4,16 м, 4,53 м (3H, 3xCH)
VI	187–189	69	C ₂₆ H ₄₀ NO ₂ I	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,03 с (3H, 3xCH)	5,77 д	6,87 д (2H), 7,30 д (2H)	1,50–2,0 (8H, (CH ₂) ₄), 3,12 с (3H, NCH ₃), 3,98 м (2H, OCH ₂), 3,62 м (6H, N(CH ₂) ₃), 4,43 м (1H, CH)
VII	192–193	70	C ₂₈ H ₃₈ NO ₂ Cl	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,04 с (3H, 3xCH)	6,07 д	6,90 д (2H), 7,27 д (2H), 7,54 м, 7,60 м (5H, C ₆ H ₅)	3,11 д (6H, 2xCH ₃), 3,50 (2H, CH ₂ N), 3,90 дд, 3,98 дд (2H, OCH ₂), 4,57 м (1H, CH), 4,73 дд (2H, CH ₂ Ph)
VIII	178–181	78	C ₃₂ H ₄₄ NO ₂ Cl	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,06 с (3H, 3xCH)	6,23 д	6,88 д (2H), 7,28 д (2H), 7,53 м, 7,60 м (5H, C ₆ H ₅)	0,88 м (3H, CH ₃), 1,5–2,06 м (5H, (CH ₂) ₂ CH пиперидин), 2,80–3,31 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,96 м (2H, OCH ₂), 4,21 м (1H, CH), 4,76 дд (2H, CH ₂ Ph)
IX	164–166	64	C ₃₂ H ₄₄ NO ₂ Cl	1,71 с (6H, 3xCH ₂) 1,80 с (6H, 3xCH ₂) 2,04 с (3H, 3xCH)	6,08 д	6,87 д (2H), 7,29 д (2H), 7,52 м, 7,60 м (5H, C ₆ H ₅)	1,65 м, 1,84 м (8H, (CH ₂) ₄), 3,16–3,75 м (6H, N(CH ₂) ₃), 3,95 м (2H, OCH ₂), 4,21 м (1H, CH), 4,71 дд (2H, CH ₂ Ph)
X	165–167	68	C ₂₄ H ₃₆ NO ₂ I	1,72 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,05 с (3H, 3xCH)	5,81 д	6,89 д (2H), 7,27 д (2H)	3,09 с, 3,11 с (6H, 2xCH ₃), 3,29 м (2H, CH ₂ Ph), 3,95 м (2H, OCH ₂), 4,17 м (1H, CH), 5,04 м (2H, CH ₂ =), 5,91 м (1H, HC=)
XI	205–207	59	C ₂₈ H ₃₇ N ₂ O ₄ Cl	1,71 с (6H, 3xCH ₂) 1,81 с (6H, 3xCH ₂) 2,05 с (3H, 3xCH)	6,10 д	6,90 д (2H), 7,26 д (2H), 7,98 д, 8,32 д (4H, C ₆ H ₄)	3,12 д (6H, 2xCH ₂), 3,53 (2H, CH ₂ N), 3,95 м, 4,01 м (2H, OCH ₂), 4,56 м (1H, CH), 4,74 дд (2H, CH ₂ Ph)
XII	142–144	61	C ₂₈ H ₄₀ NO ₃ Cl	1,71 с (6H, 3xCH ₂) 1,80 с (6H, 3xCH ₂) 2,05 с (3H, 3xCH)	6,14 д	6,89 д (2H), 7,27 д (2H), 7,94 д, 8,30 д (2H, CH ₂ C ₆ H ₄)	3,09 д (6H, 2xCH ₂), 3,52 (2H, CH ₂ N), 3,77 с (3H, OCH ₃), 4,51 м (1H, CH), 4,72 дд (2H, CH ₂ Ph)

Таблиця 2 – Антимікробна активність (МІК, мкг/мл) четвертинних солей (I–XII)

Сполука	R, R', R''	Мікроорганізми		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
I	R, R' = (CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	2,5	10,0	1,25
II	R = CH ₃ , R' = цикло-C ₆ H ₁₁ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	0,6	10,0	0,6
III	R, R' = (CH ₂) ₂ CHCH ₃ (CH ₂) ₂ , R'' = CH ₃ , I ⁻	1,25	2,5	1,25
IV	R, R' = (CH ₂) ₄ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	10,0	50,0	2,5
V	R, R' = (CH ₂ CH(CH ₃)OCH(CH ₃)CH ₂) ₂ , R'' = CH ₃ , I ⁻	5,0	20,0	0,6
VI	R, R' = (CH ₂) ₆ , R'' = CH ₃ , I ⁻	1,25	2,5	0,3
VII	R, R' = (CH ₂) ₂ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	0,6	2,5	0,6
VIII	R, R' = (CH ₂) ₂ CHCH ₃ (CH ₂) ₂ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	15,0	>50,0	15,0
IX	R, R' = (CH ₂) ₆ , R'' = CH ₂ C ₆ H ₅ , Cl ⁻	>50,0	>50,0	>50
X	R, R' = (CH ₃) ₂ , R'' – аліл, I ⁻	2,5	>20,0	0,75
XI	R, R' = (CH ₃) ₂ , R'' = 4-NO ₂ -C ₆ H ₄ CH ₂ , Cl ⁻	0,93	>50,0	3,75
XII	R, R' = (CH ₃) ₂ , R'' = 4-CH ₃ O-C ₆ H ₄ CH ₂ , Cl ⁻	0,93	>50,0	2,5
Мірамістин	–	2,5	5,0	1,25

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : метод. указания МУК 4.2.1890-04 // Клинич. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2004. – 6, № 4. – С. 306–359.
2. Пат. 84649 Україна, МПК С07С 217/32. 1-[4-(1-Адамантил)-фенокси]-3-[N-бензил, N-метил(циклогексил)амоній]-2-пропанол хлорид / Максимов Ю. М., Короткий Ю. В., Вринчану Н. О. [та ін]. – № а200705294 ; заявл. 15.05.07 ; опубл. 10.11.08, Бюл. № 21.
3. Пат. 89570 Україна, МПК (2009) С07С 213/00. 1-[4-(1-Адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламіно)-2-пропанол хлорид / Короткий Ю. В., Максимов Ю. М., Вринчану Н. О. [та ін]. – № а200804978 ; заявл. 17.04.08 ; опубл. 10.02.10, Бюл. № 3.
4. Пат. 93583 Україна, МПК (2011.01) С07С 215/00. Солі 1-[4-(1-адамантил)фенокси]-3-(гексаметиленіміну)-2-пропанолу, які виявляють антимікробні властивості / Короткий Ю. В., Вринчану Н. О., Гриневич С. В. [та ін]. – № а200904567 ; заявл. 08.05.09 ; опубл. 25.02.11, Бюл. № 4.
5. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – Смоленск : МАКМАХ, 2007. – 464 с.
6. Сергеев А. Ю. Грибковые инфекции : руководство для врачей / А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев. – М. : ООО Бином-пресс, 2004. – 440 с.
7. Синтез, антимікробна активність 1-(4-(1-адамантил)фенокси)-3-аміно-2-пропанола / Ю. В. Короткий, Н. А. Вринчану, Ю. Н. Максимов [и др.] // Хим. фармац. журн. – 2009. – 43, № 6. – С. 10–13.
8. Синтез, антимікробна и противогрибковая активність четвертинных солей адамантансодержащих алкоксидиалкиламинопропанолов / Ю. В. Короткий, Н. А. Вринчану, Ю. Н. Максимов [и др.] // Хим. фармац. журн. – 2011. – 45, № 1. – С. 21–23.
9. Method for the determination of broth dilution of antifungal agents for fermentative yeasts: EDef 7.2 Revision. – EUCAST, 2012 – 21 p.

Ю. В. Короткий¹, Д. М. Дудикова², Н. А. Врынчану², Е. А. Смертенко¹
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ НАН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ НАМН УКРАИНЫ², КИЕВ

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЛЕЙ 1-[4-(1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОКСИ]-3-ДИАЛКИЛАМИНО-2-ПРОПАНОЛА

Резюме

Осуществлен синтез, изучены физико-химические свойства и антимикробная активность четвертичных солей 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-диалкиламино-2-пропанола.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адамантан, диалкиламинопропанола, антибактериальная активность, антифунгальное действие.

Yu. V. Korotkyi¹, D. M. Dudikova², N. O. Vrynchanu², O. A. Smertenko¹
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE¹, KYIV
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF NAMS OF UKRAINE², KYIV

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 1-[4-(1-ADAMANTYL)-PHENOXY]- 3-DIALKYLAMINO-2-PROPANOL QUATERNARY SALTS

Summary

The synthesis and investigation of physic-chemical properties of 1-[4-(1-adamantyl)-phenoxy]-3-dialkylamino-2-propanol quaternary salts was carried out. Some of obtained substances demonstrated high antimicrobial activity.

KEY WORDS: adamantane, dialkylamino propanoles, antibacterial activity, antifungal action.

Отримано 20.01.15

Адреса для листування: Д. М. Дудікова, Інститут фармакології та токсикології НАМН України, вул. Е. Потьє, 14, Київ, 03680, Україна, e-mail: dardardud@gmail.com.

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В МОЗКУ ЩУРІВ З ІЗОЛЬОВАНОЮ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ ОБМІНУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ

Досліджено вплив модуляторів обміну гідрогенсульфіду (H_2S) – амінооксіацетату (інгібітора цистатіонін- β -синтази) та NaHS на біохімічні показники мозку щурів з ізольованою гіпергомоцистеїнемією (ГГЦ), індукованою введенням тіолактону гомоцистеїну (200 мг/кг 14 діб). Інгібування синтезу H_2S потенціює ГГЦ-індукований оксидативний стрес, енергодефіцит, розлади обміну аденозину в мозку тварин. Введення донора H_2S (NaHS) має протилежний ефект: підвищує активність антиоксидантних ензимів та вміст АТФ у мозку щурів із ГГЦ. Таким чином, система H_2S інтегрована в механізми пошкодження мозку за умов ГГЦ і розробка підходів до її корекції є перспективним напрямком подальших досліджень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гомоцистеїн, гідрогенсульфід, мозок, амінооксіацетат, NaHS.

ВСТУП. Гідрогенсульфід (H_2S) – біологічно активний метаболіт, який утворюється в процесі метаболізму цистеїну і гомоцистеїну в тканинах мозку (гіпокампі, мозочку, корі, стовбурі мозку, церебральних судинах) та інших тканинах [13, 14]. H_2S виконує функції вазодилататора, нейромедіатора, антиоксиданта, антиагреганта, цитопротектора [13, 16]. Донори H_2S зменшують пошкодження мозку за умов експериментальної ішемії-реперфузії, гіпоксії, травми мозку [13, 16]. Порушення обміну H_2S можуть бути інтегровані в патогенез з нейродегенеративних та невроаскулярних захворювань, які часто асоціюються із синдромом гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) [8, 11]. Разом із тим, роль системи H_2S у реалізації нейротоксичної дії ГГЦ остаточно не з'ясовано.

Метою роботи було вивчити вплив модуляторів обміну H_2S (NaHS, амінооксіацетату) на стан прооксидантної та антиоксидантної систем, енергетичний обмін, показники нуклеотидного обміну в мозку щурів за умов ізольованої ГГЦ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 38 білих лабораторних щурах-самцях масою 220–280 г. Тварини перебували в стандартних умовах з природним світловим режимом день/ніч, воду і корм отримували *ad libitum*.

© П. О. Юрченко, Н. В. Заїчко, 2015.

Тварин годували напівсинтетичною крохмально-казеїновою дієтою зі збалансованим вмістом усіх макро- та мікронутрієнтів [3]. Дослідження проведено відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Тварин випадковим чином поділяли на групи по 8–10 особин у кожній.

Модель ізольованої ГГЦ створювали шляхом введення тіолактону D,L-гомоцистеїну ("Sigma", США) внутрішньошлунково в дозі 200 мг/кг маси протягом 14 діб. Двом групам тварин з ГГЦ з 10 до 14 доби вводили інгібітор цистатіонін- β -синтетази – амінооксіацетат (АОА) внутрішньочеревно в дозі 15 мг/кг 1 раз на добу або неорганічний донор H_2S – натрію гідрогенсульфід (NaHS) внутрішньочеревно в дозі 3 мг/кг 1 раз на добу. Дози та шляхи введення речовин запозичено з літератури, і вони не викликали загибелі щурів. Знеживлювали тварин методом декапітації під пропофоловим наркозом ("Fresenius Kabi", 60 мг/кг, внутрішньочеревно).

У гомогенатах мозку визначали вміст H_2S , активність NADPH-оксидази (КФ 1.6.3.1), тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9), супероксид-

дисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1), S-аденозилгомоцистеїнгідролази (КФ 3.3.1.1), метіонінаде-нозилтрансферази (КФ 2.5.1.6), глутаматцистеїнлігази (КФ 6.3.2.2), ТБК-активних продуктів, карбонільних груп протеїнів, відновленого глутатіону спектрофотометричними методами, як описано раніше [1, 2].

Активність 5'-нуклеотидази (КФ 3.1.3.5) і NTPD-ази (апірази, КФ 3.6.1.5) визначали за швидкістю утворення неорганічного фосфату при гідролізі АМФ та АДФ [5, 6], вміст аденілових нуклеотидів у депротейнізованому фільтраті мозку – хроматографічним методом [4], вміст гомоцистеїну в сироватці крові – за допомогою набору “Homocysteine EIA” (“Axis-Shield”, Англія).

Статистичний аналіз проводили з використанням t-критерію Стьюдента, для визначення зв'язків між показниками виконували кореляційний аналіз за Пірсоном. Вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення тіолактону гомоцистеїну (200 мг/кг) на 14 добу викликало зростання сироваткового рівня гомоцистеїну в 3,25 раза, зниження рівня H_2S у мозку в 2,0 рази, що зумовило зменшення відношення H_2S /гомоцистеїн у 6,14 раза (табл. 1). Введення АОА підвищувало тяжкість ГГЦ (на 54,7 %), поглиблювало дефіцит H_2S у мозку (на 28,5 %), що спричинило більш значне зниження відношення H_2S /гомоцистеїн (на 42,8 %). Введення NaHS мало протилежний ефект – зменшувало виразність ГГЦ, підвищувало рівень H_2S у мозку (на 34,6 %) та істотно збільшувало відношення H_2S /гомоцистеїн (на 71,4 %).

ГГЦ індукувала розвиток оксидативного стресу в мозку щурів, про що свідчили зростання активності прооксиданта NADPH-оксидази, вмісту ТБК-активних продуктів та карбонільних протеїнів (на 92,9; 85,2 та 64,8 %), зниження активності антиоксидантних ензимів – СОД, тіоредоксинредуктази, глутаматцистеїнлігази та вмісту відновленого глутатіону (на 57,1; 40,8; 50,3; 48,2 %). Введення АОА поглиблювало порушення про-антиоксидантної рівноваги та потенціювало розвиток оксидативного стресу в мозку тварин з ГГЦ. Водночас введення NaHS зменшувало (на 18–22 %) приріст активності NADPH-оксидази, вмісту ТБК-активних продуктів та карбонільних груп протеїнів, натомість підвищувало (на 25–50 %) активність тіоредоксинредуктази, СОД, глутаматцистеїнлігази та вміст глутатіону в мозку щурів з ГГЦ. Між вмістом H_2S та показниками про-антиоксидантної системи в мозку тварин виявляли достовірні зв'язки: прямі – з активністю тіоредоксинредуктази, глутаматцистеїнлігази, вмістом глутатіону ($r=0,68$; $0,67$; $0,45$; $p < 0,05$), обернені – з активністю NADPH-оксидази, рівнем ТБК-активних продуктів, карбонільних груп протеїнів ($r=-0,49$; $-0,56$; $-0,47$; $p < 0,05$).

Важливим механізмом розвитку нейродегенеративних процесів є порушення енергетичного обміну в клітинах мозку. Введення тіолактону гомоцистеїну впродовж 14 діб спричиняло розвиток енергодефіциту в тканинах мозку, про що свідчило достовірне зменшення (на 20–30 %) вмісту АТФ та енергетичного заряду (табл. 2). Введення АОА поглиблювало ГГЦ-індукований дефіцит АТФ та зниження енергетичного заряду, тоді як введення NaHS

Таблиця 1 – Вплив модуляторів обміну H_2S на вміст гомоцистеїну і стан про-антиоксидантної систем у мозку щурів з ГГЦ ($M \pm m$, $n=8-10$)

Показник	Група щурів			
	контроль	ГГЦ	ГГЦ+АОА	ГГЦ+NaHS
	1-ша	2-га	3-тя	4-та
Гомоцистеїн (сироватка), мкмоль/л	6,58±0,40	21,4±1,42*	33,1±2,51**	15,4±0,86**§
H_2S (мозок), нмоль/мг протеїну	2,72±0,19	1,33±0,15*	0,95±0,06**	1,79±0,08**§
H_2S /гомоцистеїн	0,43±0,05	0,07±0,01*	0,03±0,01**	0,12±0,01**§
NADPH-оксидаза, нмоль/хв·мг протеїну	1,70±0,08	3,28±0,26*	4,55±0,22**	2,46±0,13**§
Тіоредоксинредуктаза, нмоль/хв·мг протеїну	6,03±0,46	3,57±0,32*	2,58±0,31**	4,51±0,28**§
СОД, ум. од./хв·мг протеїну	5,22±0,44	2,24±0,13*	1,60±0,14**	3,55±0,15**§
ТБК-активні продукти, мкмоль/г тканини	9,72±0,36	18,0±1,24*	22,0±0,84**	14,7±0,66**§
Карбонільні групи, нмоль/мг протеїну	3,29±0,29	6,05±0,38*	7,19±0,37**	5,18±0,29**§
Глутаматцистеїнлігаза, нмоль/мг протеїну	3,98±0,52	1,95±0,31*	1,09±0,23**	2,76±0,21**§
GSH, мкмоль/мг протеїну	6,33±0,41	3,28±0,39*	2,30±0,25**	4,41±0,27**§

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1. * – $p < 0,05$ відносно 1-ї групи.
2. # – $p < 0,05$ відносно 2-ї групи.
3. § – $p < 0,05$ відносно 3-ї групи.

Таблиця 2 – Вплив модуляторів обміну H_2S на обмін аденілових нуклеотидів та ензими циклу метилювання в мозку щурів з ГГЦ ($M \pm m$, $n=8-10$)

Показник	Група щурів			
	контроль	ГГЦ	ГГЦ+АОА	ГГЦ+NaHS
	1-ша	2-га	3-тя	4-та
АТФ, мкмоль/г тканини	3,12±0,17	1,94±0,14*	1,78±0,09*	2,35±0,07*#§
АДФ, мкмоль/г тканини	0,97±0,04	1,72±0,07*	1,94±0,05*#	1,35±0,06*#§
АМФ, мкмоль/г тканини	0,65±0,03	0,97±0,04*	1,07±0,04*	0,80±0,02*#§
Енергетичний заряд	0,76±0,01	0,60±0,01*	0,57±0,01*	0,67±0,01*#§
5'-Нуклеотидаза, нмоль/хв-мг протеїну	7,24±0,48	3,35±0,32*	2,73±0,41*	5,27±0,53*#§
NTPD-аза (апіраза), нмоль/хв-мг протеїну	6,94±0,23	3,36±0,50*	2,67±0,42*	4,15±0,16*§
Метіонінаденозилтрансфераза, нмоль/хв-мг протеїну	2,05±0,17	1,18±0,30*	1,15±0,15*	1,46±0,10*
S-аденозилгомоцистеїн-гідролаза, нмоль/хв-мг протеїну	4,18±0,24	2,64±0,48*	2,51±0,23*	2,73±0,41*

підвищувало вміст АТФ та енергетичний заряд (на 21,1; 11,6 %), зменшувало диспропорцію між вмістом аденілових нуклеотидів у мозку щурів.

У мозку аденілові нуклеотиди не лише відіграють важливу роль в енергетичному обміні, а й слугують джерелом аденозину, є регуляторами нейротрансмісії, нейродегенерації, відповіді на гіпоксію/ішемію, вазодилатації, агрегації тромбоцитів та інших процесів, які опосередковуються через специфічні пуринові рецептори нейронів, ендотеліоцитів та інших клітин [15]. За умов ГГЦ сповільнювалися (в 2,07; 2,16 разів) гідроліз аденілових нуклеотидів та утворення аденозину з участю NTPD-ази (апірази) та 5'-нуклеотидази, знижувалась (в 1,73; 1,58 разів) активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази і метіонінаденозилтрансферази. Введення АОА поглиблювало, а NaHS – пом'якшувало депримуєчий вплив ГГЦ на вказані процеси в мозку щурів.

Отже, вміст H_2S у мозку є вагомим чинником, що детермінує зміни про-антиоксидантної системи, зменшення вмісту глутатіону, впливає на енергозабезпечення клітин та обмін аденозину за умов ГГЦ. Зниження вмісту H_2S , відновленого глутатіону й активності тіоредоксинредуктази є чинником тіол-дисульфідного дисбалансу та порушення регуляції активності редокс-чутливих протеїнів мозку. Поглиблення дефіциту H_2S у мозку збільшує масштабність ГГЦ-індукованого оксидативного стресу, енергодефіциту, а зростання вмісту H_2S має протилежний ефект – підвищує активність антиоксидантної системи, зменшує дисбаланс в обміні аденілових нуклеотидів.

Отримані нами результати узгоджуються з результатами досліджень *in vitro* та *in vivo*. Існують дані, що введення донорів H_2S викликає зниження рівня гомоцистеїну та продуктів пероксидації ліпідів у плазмі крові, підвищує

активність СОД у мітохондріях [9]. Донори H_2S (NaHS) стимулюють експресію СОД, тіоредоксинредуктази та зменшують вміст малонового діальдегіду в культурі нейрональних клітин [10]. NaHS та Na_2S можуть вивільняти глутатіон із змішаних дисульфідів, стимулювати транспорт цистеїну в клітини, зменшувати оксидативний стрес у мітохондріях [14], підвищувати активність глутатіонсинтетази [10]. Нормалізуючий вплив NaHS на енергетичний обмін у мозку за умов ГГЦ можна пояснити здатністю H_2S стабілізувати стан мітохондрій, попереджувати Ca^{2+} -індуковане відкривання мітохондріальної пори і набухання мітохондрій [7], постачати електрони на дихальний ланцюг та збільшувати продукцію АТФ шляхом окисного фосфорилування [12].

Таким чином, модуляція вмісту H_2S у мозку може бути важливою стратегією нейропротекції за умов ГГЦ і подальші дослідження в цьому напрямку відкривають нові перспективи фармакотерапії нейродегенеративних захворювань.

ВИСНОВКИ. 1. ГГЦ індукує формування несприятливого метаболічного патерну в мозку, який включає дефіцит H_2S ; оксидативний стрес, зниження активності та вмісту антиоксидантів (тіоредоксинредуктази, СОД, глутаматцистеїнлігази, глутатіону); енергодефіцитний стан; пригнічення утворення аденозину.

2. Введення інгібітора цистатіонін- β -синтази АОА поглиблює дефіцит H_2S у мозку та підвищує нейротоксичний ефект ГГЦ. Введення NaHS зменшує виразність ГГЦ, збільшує вміст H_2S у мозку, що асоціюється з регресом оксидативного стресу, підвищенням активності тіоредоксинредуктази, глутаматцистеїнлігази, вмісту глутатіону та АТФ у мозку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив навантаження цистеїном на ферментні системи метаболізму сірковмісних амінокислот в печінці, нирках та мозку щурів / Н. В. Заїчко, О. О. Пентюк, А. В. Мельник, О. І. Штатко // Мед. хімія. – 2010. – **12**, № 2 (43). – С. 43–49.
2. Вплив полімікроелементного препарату “Есмін” на вікові зміни вмісту гідрогенсульфіду та показників про- / антиоксидантної системи в міокарді щурів / Н. В. Заїчко, О. С. Ольховський, А. В. Мельник [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2014. – **86**, № 3. – С. 61–68.
3. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Постовітенко [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1 (3). – С. 35–38.
4. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.
5. Рыбальченко В. К. Структура и функции мембран : практикум / В. К. Рыбальченко, М. М. Коганов. – К. : Выща шк., 1988. – 312 с.
6. Brain ischemia alters platelet ATP diphosphohydrolase and 5'-nucleotidase activities in naive and preconditioned rats / S. Frassetto, M. Schetinger, R. Schierholt [et al.] // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2000. – **33**, № 11. – P. 1369–1377.
7. Effect of hydrogen sulfide donor NaHS on the functional state of the respiratory chain of the rat heart mitochondria / O. M. Semenykhina, N. A. Strutyns'ka, A. Iu. Bud'ko [et al.] // Fiziol. Zh. – 2013. – **59**, № 2. – P. 9–17.
8. Herrmann W. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases / W. Herrmann, R. Obeid // Clin. Chem. Lab. Med. – 2011. – **49**, № 3. – P. 435–441.
9. Hydrogen sulfide inhibits myocardial injury induced by homocysteine in rats / L. Chang, B. Geng, F. Yu [et al.] // Amino Acids. – 2008. – **34**, № 4. – P. 573–585.
10. 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.
11. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders / M. Petras, Z. Tatarkova, M. Kovalska [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2014. – **65**, № 1. – P. 15–23.
12. Intramitochondrial hydrogen sulfide production by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase maintains mitochondrial electron flow and supports cellular bioenergetics / K. Modis, C. Coletta, K. Erdelyi [et al.] // FASEB J. – 2013. – **27**, № 2. – P. 601–611.
13. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system / H. Kimura // Neurochem. Int. – 2013. – **63**, № 5. – P. 492–497.
14. 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.
15. Latini S. Adenosine in the central nervous system: release mechanisms and extracellular concentrations / S. Latini, F. Pedata // J. Neurochem. – 2001. – **79**. – P. 463–484.
16. Role of hydrogen sulfide in secondary neuronal injury / J. F. Wang, Y. Li, J. N. Song, H. G. Pang // Neurochem. Int. – 2014. – **64**. – P. 37–47.

П. А. Юрченко, Н. В. Заїчко

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ КРЫС С ИЗОЛИРОВАННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ ПРИ МОДУЛЯЦИИ ОБМЕНА ГИДРОГЕНСУЛЬФИДА

Резюме

Исследовано влияние модуляторов обмена гидрогенсульфида (H_2S) – аминоксиацетата (ингибитора цистатионин- β -синтазы) и NaHS на биохимические показатели мозга крыс с изолированной гипергомоцистеинемией (ГГЦ), индуцированной введением тиолактона гомоцистеина (200 мг/кг 14 суток). Ингибирование синтеза H_2S потенцирует ГГЦ-индуцированный оксидативный стресс, энергодифицит, нарушения обмена аденозина в мозге животных. Введение донора H_2S (NaHS) оказывает противоположный эффект: повышает активность антиоксидантных ферментов и содержание АТФ в мозге крыс с ГГЦ. Таким образом, система H_2S интегрирована в механизмы

повреждения мозга в условиях ГГЦ и разработка подходов к ее коррекции является перспективным направлением дальнейших исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гомоцистеин, гидродисульфид, мозг, аминоксиацетат, NaHS.

P. O. Yurchenko, N. V. Zaichko

M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

BIOCHEMICAL CHANGES IN RATS' BRAIN WITH ISOLATED HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN MODULATION OF HYDROGEN SULFIDE METABOLISM

Summary

The effect of modulators exchange of hydrogen (H_2S) – aminoxyacetate (inhibitor of cystathionine β -synthase) and NaHS was estimated on biochemical indicators in rats' brain with isolated hyperhomocysteinemia, wich was induced by thiolactone homocysteine administration (200 mg/kg for 14 days). Inhibition of H_2S synthesis potentiates HHC-induced oxidative stress, deficit of energy, disorders of adenosine metabolism in rats' brain. Administration of H_2S donor NaHS has the opposite effect. It increases antioxidant enzymes activity and content of ATP in rats' brain with HHC. Thus, the H_2S system is integrated into the brain damage mechanisms in condition of HHC and possible ways of its correction are perspective direction for the future investigations.

KEY WORDS: **homocysteine, hydrogen sulfide, brain, aminoxyacetate, NaHS.**

Отримано 27.01.15

Адреса для листування: Н. В. Заїчко, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна, e-mail: nzaichko@mail.ru.

ВПЛИВ ВІТАМІНІВ С ТА Е НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ НА ТЛІ БЛОКУВАННЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ-2 ЗА УМОВ АДРЕНАЛІНІНДУКОВАНОГО СТРЕСУ

Досліджено вплив вітамінів С та Е на активність NO-синтазної системи в підшлунковій залозі щурів на тлі блокування циклооксигенази-2 за умов адреналініндукованого стресу (АІС). Встановлено, що АІС у тканині підшлункової залози спричинював розвиток нітросо-оксидативного стресу, про що свідчили підвищення загальної активності NO-синтаз, iNOS і вмісту нітрит-аніона, зниження концентрації L-аргініну в плазмі крові. Введення вітаміну С на тлі АІС знижувало загальну активність NOS за рахунок суттєвого зменшення активності iNOS, тоді як вітамін Е гальмував активність обох ізоформ цього ферменту. Вплив кожного з досліджуваних вітамінів на активність NOS при АІС підсилювався за умов поєднаного введення з блокатором циклооксигенази-2 целекоксибом, проте сумарні ефектів не спостерігали.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: підшлункова залоза, стрес, NO-синтази, циклооксигеназа-2, вітаміни С та Е.

ВСТУП. Стрес є одним із чинників, що викликають розвиток функціональних порушень підшлункової залози (ПЗ), які можуть лежати в основі виникнення панкреатиту. Ці зміни зумовлені активуванням оксидативних процесів і прозапальних ферментів – індукцибельної NO-синтази (iNOS) та циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) (рис.). Внаслідок гіпоксії посилюється експресія iNOS та суттєво зростає синтез нітрогену оксиду (NO), який слугує джерелом утворення вільних радикалів (нітроксилу (NO[•]), пероксинітриду (ONOO⁻) тощо), що викликають нітрування цитоплазматичних білків і ДНК та, як наслідок, ураження клітин [14, 21].

Експресія ЦОГ-2 спричинює різке підвищення продукції простагландинів (ПГ) (переважно ПГЕ₂), які беруть участь у деструкції панкреатоцитів, посиленні проникності судин, механізмі формування болю тощо [5, 8]. Між системами NO-синтази/NO та ЦОГ-2/ПГЕ₂ існує тісний функціональний взаємозв'язок [9, 12, 13, 15]. Окрім активації оксидативних процесів, стрес змінює активність ферментів системи антиоксидантного захисту і вміст вітамінів-антиоксидантів (С та Е) [3]. Проте вплив останніх на активність NO-синтазної системи в ПЗ щурів на тлі блокування ЦОГ-2 при адреналініндукованому стресі (АІС) вивчено недостатньо.

© О. Я. Склярів, Т. І. Бондарчук, 2015.

У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідити вплив вітамінів С та Е на активність системи L-аргінін/NOS/NO у тканині ПЗ щурів на тлі блокування ЦОГ-2 целекоксибом за умов АІС.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 70 білих безпородних щурах-самцях масою 180–240 г і виконано відповідно до правил, передбачених Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних досліджень з участю експериментальних тварин. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. У день проведення досліду тварин не годували, забезпечуючи безперешкодний доступ до води.

Експериментальних тварин було поділено на сім груп: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – тварини, в яких моделювали стрес шляхом введення адреналіну (натще у дозі 2 мг/кг внутрішньочеревно) [1]; 3-тя – щури, яким на тлі дії адреналіну вводили целекоксиб ("Артеріум", Україна) (перорально в дозі 10 мг/кг); 4-та – щури, яким на тлі дії адреналіну вводили вітамін С (ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", м. Харків, Україна) (внутрішньочеревно у дозі 200 мг/кг) [19]; 5-та – щури, яким на тлі дії адреналіну одночасно вводили целекоксиб і вітамін С у вищевказаних дозах; 6-та – щури, яким на тлі дії адреналіну вводили вітамін Е (α-токоферол, "Sigma", США) (внут-

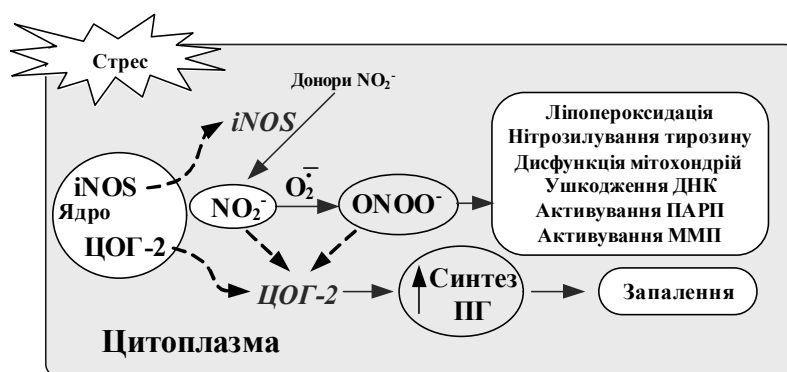


Рис. Роль iNOS і ЦОГ-2 у виникненні деструктивних змін у клітині у відповідь на стрес.

рішном'язово у дозі 150 мг/кг) [6]; 7-ма – щури, яким на тлі дії адреналіну одночасно вводили вітамін Е та целококсиб у вищевказаних дозах. Препарати вводили за півгодини до ін'єкції адреналіну. Через 24 год після введення адреналіну під тіопенталовим знеболюванням (40 мг/кг) тварин декапітували, проводили розтин по білій лінії живота та виділяли ПЗ, промивали її фізіологічним розчином і гомогенізували. У гомогенатах досліджували активність NOS та вміст нітрит-аніона (NO_2^-) [18]. У плазмі крові визначали концентрацію L-аргініну. Результати опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Адреналіндукований стрес суттєво змінював показники системи L-аргінін/NOS/NO: загальна активність NOS зросла у 3 рази ($p < 0,01$), активність iNOS підвищилась у 8 разів ($p < 0,01$), а cNOS – на 31 % ($p > 0,05$) порівняно з показниками тварин контрольної групи (табл.).

Вміст NO_2^- у тканині ПЗ зріс на 26 % ($p < 0,05$), за цих умов концентрація L-аргініну в плазмі крові знизилась на 30 % ($p < 0,05$). Ці

результати збігаються з даними літератури і свідчать про виникнення нітрито-оксидативного стресу, що лежить в основі розвитку деструктивних змін ПЗ під час стресу [16].

Порівняно з показниками тварин контрольної групи введення целококсибу на тлі АІС у тканині ПЗ призводило до зниження загальної активності NOS на 30 % ($p < 0,05$), активність iNOS при цьому зменшилася на 48 % ($p < 0,05$), відзначали тенденцію до зниження вмісту NO_2^- та підвищення – концентрації L-аргініну в плазмі крові. Отже, виражене зниження активності iNOS внаслідок селективного інгібування ЦОГ-2 підтверджує дані літератури щодо ролі ПГ, які синтезуються з участю ЦОГ-2, у регуляції активності iNOS. Так, у слизовій оболонці (СО) шлунка донори NO_2^- посилюють активність ЦОГ, тоді як інгібітори NOS блокують продукування ПГЕ₂ [19]. Інші автори показали, що блокування активності ЦОГ-2 різними інгібіторами (рофекоксибом, німесулідом, целококсибом) призводить до зменшення ступеня ушкоджень не лише при гострому панкреатиті, а й при ульцерогенному коліті, знижуючи нейтрофільну інфільтрацію СО товстої кишки, вміст ейкозаноїдів, повертаючи до нормального рівня експресію ЦОГ-1 [11, 17, 20].

Таблиця – Вплив вітамінів С та Е на активність NO-синтазної системи в тканині підшлункової залози щурів на тлі блокування ЦОГ-2 при АІС ($M \pm m$)

Група тварин (n=10)	NOS, нмоль/хв·г білка	cNOS, нмоль/хв·г білка	iNOS, нмоль/хв·г білка	Нітрит-аніон, мкмоль/л	L-аргінін, мкг/мл
Контроль	0,69±0,17	0,51±0,09	0,18±0,1	17,8±0,78	38,1±3,07
АД	2,07±0,15**	0,67±0,1	1,4±0,19**	22,5±1,6*	26,6±3,42*
Цел.+АД	1,44±0,16#	0,57±0,14	0,73±0,12##	20,7±1,58	32,1±1,34#
Віт. С+АД	1,53±0,13#	0,66±0,21	0,91±0,11#	18±2,16	35,2±2,2##
Віт. С+Цел.+АД	1,03±0,09##	0,37±0,15#	0,67±0,09##	18,8±1,3	33,1±3,69#
Віт. Е+АД	1,33±0,29#	0,38±0,18#	0,94±0,19##	18,9±1,57	33,2±7,9
Віт. Е+Цел.+АД	1,14±0,09##	0,57±0,06	0,57±0,05##	18,3±2,73	32,4±5,83

Примітки:

- * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з показниками тварин контрольної групи.
- # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ порівняно з показниками при АІС.
- АД – адреналін; Цел. – целококсиб; Віт. – вітамін.

Інгібування активності ЦОГ-2 на тлі дії вітаміну С знижувало загальну активність NOS на 50 % ($p < 0,01$) порівняно з введенням адреналіну, на 33 % ($p < 0,01$) – порівняно з дією вітаміну С та на 28 % ($p < 0,05$) – порівняно із самостійним впливом целекоксибу. Активність iNOS була вдвічі ($p < 0,01$) меншою порівняно з введенням адреналіну і на 26 % ($p < 0,05$) – порівняно із самостійним впливом вітаміну С. У дослідженнях з вивчення впливу вітаміну С на тлі дії неселективного блокатора ЦОГ-1/ЦОГ-2 аспірину на СО шлунка було продемонстровано, що цей вітамін проявляє цитопротекторний ефект не лише шляхом активування експресії mRNA антиоксидантних ензимів – супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази, а й знижуючи експресію iNOS і двох ключових прозапальних цитокінів – інтерлейкіну- 1β та фактора некрозу пухлин- α [7, 10].

Слід зауважити, що за цих умов спостерігали значне зниження cNOS: на 45 % ($p < 0,05$) – порівняно з введенням адреналіну та із самостійною дією вітаміну С, на 35 % ($p < 0,05$) – порівняно з дією целекоксибу на тлі АІС. Вміст NO_2^- у тканині ПЗ і концентрація L-аргініну в плазмі крові залишалися на рівні показників самостійної дії вітаміну С. Отримані результати свідчать про те, що вітамін С у поєднанні з целекоксибом не тільки проявляє антиоксидантний вплив, а також зменшував загальну активність NOS. Поєднане застосування вітаміну С і селективного блокатора ЦОГ-2 на тлі АІС мало більш виражений протизапальний ефект порівняно із самостійною дією вказаних речовин, що проявлялося зниженням активності iNOS.

Поєднана дія вітаміну Е та целекоксибу на тлі АІС на 55 % ($p < 0,01$) знижувала загальну активність NOS порівняно з введенням адреналіну, тоді як самостійний вплив цих речовин спричинював лише тенденцію до зменшення загальної активності NOS. Активність iNOS знизилася за таких умов на 60 % ($p < 0,01$)

порівняно з введенням адреналіну та на 40 % ($p < 0,05$) – порівняно із самостійним впливом цього вітаміну, тоді як порівняно із самостійною дією целекоксибу вона зменшувалася недостовірно. Слід зауважити, що активність cNOS при цьому повернулася до показників тварин контрольної групи. Вміст NO_2^- у тканині ПЗ мав тенденцію до зменшення, у плазмі крові концентрація L-аргініну знижувалася недостовірно порівняно з введенням адреналіну, на 22 % – порівняно з введенням целекоксибу та на 25 % – порівняно із самостійною дією вітаміну Е. Проте при експериментальній виразці шлунка вітамін Е на тлі інгібування ЦОГ-2 суттєво не впливав на активність NOS у СО, але викликав різке зменшення вмісту NO_2^- [2, 4].

ВИСНОВКИ. 1. Адреналіндукований стрес у тканині ПЗ супроводжувався зростанням загальної активності NO-синтаз, iNOS і вмісту нітрит-аніона, зниженням концентрації L-аргініну в плазмі крові.

2. Інгібування ендогенних ПГ, що синтезуються з участю ЦОГ-2, на тлі АІС зменшувало загальну активність NO-синтаз та iNOS.

3. Введення вітаміну С на тлі АІС знижувало загальну активність NOS за рахунок суттєвого зменшення активності iNOS, тоді як вітамін Е гальмував активність обох ізоформ цього ферменту, концентрація нітрит-аніона в тканині ПЗ мала тенденцію до зниження, а L-аргініну в плазмі крові – до зростання.

4. Вплив кожного з досліджуваних вітамінів на активність NOS при АІС був найбільшою мірою виражений при їх поєднаному введенні з блокатором ЦОГ-2 целекоксибом, проте сумарні ефектів не спостерігали.

Перспективи подальших досліджень. Потребують поглибленого дослідження самостійна та поєднана дії вітамінів-антиоксидантів (С і Е) на функціональний стан підшлункової залози на тлі водно-імобілізаційного стресу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белостоцкий Н. И. Язвеобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов / Н. И. Белостоцкий // Патол. физиол. и эксперим. медицина. – 1988. – № 1. – С. 24–27.

2. Вплив вітаміну С на антиоксидантні та цитопротекторні процеси у органах травної системи за умов експериментальної виразки шлунка / І. Б. Грюк,

Н. Р. Шамро, В. С. Журомський [та ін.] // Эксперим. та клініч. фізіол. і біохім. – 2010. – № 2 (50). – С. 50–56.

3. Особливості дії вітамінів Е та С у регуляції NO-синтазної системи у слизових оболонках шлунка та товстої кишки за умов стресу / В. С. Журомський, Н. Р. Шамро, І. Б. Грюк [та ін.] // Мед. хімія. – 2009. – 11, № 3 (40). – С. 18–20.

4. Скляр О. Я. Вплив α -токоферолу на процесі ліпопероксидації та вміст оксиду азоту в шлунку за умов блокування індукційної NO-синтази та циклооксигенази-2 / О. Я. Скляр, В. С. Журомський // Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения : тезисы докл. науч.-практ. конф., Новый Свет, Крым, 25–30 мая 2009 г. – К. : Mavis publ., 2009. – С. 415–416.
5. COX-2 is not required for the development of murine chronic pancreatitis / A. Silva, A. Weber, M. Bain [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. – 2011. – **300**. – P. 968–975.
6. Effect of various doses of palm vitamin E and tocopherol on aspirin-induced gastric lesions in rats / K. Jaarin, M. T. Gapor, M. I. Nafeeza, A. M. Fauzee // Int. J. Exp. Pathol. – 2002. – **83**, № 6. – P. 295–302.
7. H₂S-Releasing Aspirin Protects against Aspirin-Induced Gastric Injury via Reducing Oxidative Stress / L. Liu, J. Cui, Ch.-J. Song [et al.] // PLOS ONE. – 2012. – **7**, № 9. – P. 46301.
8. Inhibition of cyclooxygenase-2 in experimental severe acute pancreatitis / de J. L. Almeida, J. Jukemura, A. M. Coelho [et al.] // Clinics (Sao Paulo). – 2006. – **61**, № 4. – P. 301–306.
9. Involvement of cyclooxygenase-derived prostaglandin E2 and nitric oxide in the protection of rat pancreas afforded by low dose of lipopolysaccharide / J. Jaworek, J. Bonior, R. Tomaszewska [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2001. – **52** (1). – P. 107–26.
10. Konturek P. C. Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric mucosal damage before and after Helicobacter pylori eradication therapy / P. C. Konturek, J. Kania, U. Gesner // Europ. J. Pharmacol. – 2004. – **506**, № 2. – P. 169–177.
11. Martin A. R. The COX-2 inhibitor, rofecoxib, ameliorates dextran sulphate sodium induced colitis in mice / A. R. Martin, I. Villegas, C. Alarcyn de la Lastra // Inflamm. Res. – 2005. – **54**, № 4. – P. 145–151.
12. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors / V. Mollace, C. Muscoli, E. Masini [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2005. – **57**, № 2. – P. 217–252.
13. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: downregulation of COX and iNOS through suppression of NF-kappa B activation / Y. J. Surh, K. S. Chun, H. H. Cha [et al.] // Mutat. Res. – 2001. – **480–481**. – P. 243–268.
14. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // Physiol. Rev. – 2007. – **87** (1). – P. 315–424.
15. Potential role of NO in modulation of COX-2 expression and PGE2 production in pancreatic beta-cells / J. J. Ling, Y. J. Sun, D. Y. Zhu [et al.] // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). – 2005. – **37** (2). – P. 139–46.
16. Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodoacetamide treatment / H. Nishio, Y. Hayashi, S. Terashima, K. Takeuchi // Life Sciences. – 2006. – **79**, № 16. – P. 1523–1530.
17. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor ameliorates cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis in rats / S. Sang-Wan, J. Won-Seok, P. Tai-Guang [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2007. – **13**, № 16. – P. 2298–2304.
18. Sklyarov A. Ya. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipoxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis / A. Ya. Sklyarov, N. B. Panasyuk, I. S. Fomenko // J. Physiol. Pharmacol. – 2011. – **62** (1). – P. 65–73.
19. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C / L. Altuntas, N. Delibas, M. Demirci [et al.] // Arch. Toxicol. – 2002. – **76**, № 8. – P. 470–473.
20. Wallace J. L. Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defense / J. L. Wallace, P. R. Devchand // Br. J. Pharmacol. – 2005. – **145** (3). – P. 275–282.
21. Zhang L. Effects and mechanism of the selective COX-2 inhibitor, celecoxib, on rat colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid / L. Zhang, Y. M. Lu, X. Y. Dong // Chin. J. Dig. Dis. – 2004. – **5**, № 3. – P. 110–114.

А. Я. Скляр, Т. И. Бондарчук

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ С И Е НА АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС НА ФОНЕ БЛОКИРОВАНИЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 В УСЛОВИЯХ АДРЕНАЛИНИНДУЦИРОВАННОГО СТРЕССА

Резюме

Исследовано влияние витаминов С и Е на активность NO-синтазной системы в поджелудочной железе крыс на фоне блокирования циклооксигеназы-2 в условиях адреналининдуцированного стресса (АИС). Установлено, что АИС в ткани поджелудочной железы вызывал развитие нитрозо-

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **поджелудочная железа, стресс, NO-синтазы, циклооксигеназа-2, витамины С и Е.**

A. Ya. Sklyarov, T. I. Bondarchuk

ACTION OF VITAMINES C AND E ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTHASE SYSTEM IN PANCREAS OF RATS ON THE BACKGROUND OF CYCLOOXYGENASE-2 BLOCKAGE AND EPINEPHRIE-INDUCED STRESS

Summary

KEY WORDS: **pancreas, stress, NO-synthase, cyclooxygenase-2, vitamins C and E.**

Адреса для листування:

**ВПЛИВ ОКСИЕТИЛЬОВАНИХ НОНІЛФЕНОЛІВ ТА ЇХ ПОХІДНИХ
НА ВМІСТ КОРТИКОТРОПІНУ, КОРТИЗОЛУ ТА АДРЕНАЛІНУ
В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ**

Досліджено вплив промислових хімічних забруднювачів довкілля – оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 на вміст кортикотропіну, кортизолу й адреналіну в сироватці крові щурів на 45-ту добу дії. Нонілфеноли з числом оксиетильованих груп 6, 12 та їх похідні – натрієві солі карбоксиметилатів ізононілфенолів з числом оксиетильованих груп 4, 6 у дозі 1/10 ДЛ50 знижують вміст кортизолу й адреналіну на тлі зростання рівня кортикотропіну в сироватці крові тварин, що вказує на деяке виснаження захисно-компенсаторних механізмів. Речовини в дозі 1/100 ДЛ50 підвищують рівень усіх досліджуваних гормонів, що свідчить про формування стану організму, спрямованого на збереження більш стабільних параметрів гомеостазу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксиетильовані нонілфеноли, щури, сироватка крові, кортикотропін, кортизол, адреналін.

Роботу виконано в рамках науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету на тему “Вивчення механізмів біологічної дії простих полієфірів у зв’язку з проблемою охорони навколишнього середовища” (номер держреєстрації 0110U001812).

ВСТУП. До розповсюджених забруднювачів довкілля відносять оксиетильовані нонілфеноли (ОЕНФ) та їх похідні – натрієві солі карбоксиметилатів оксиетильованих ізононілфенолів (КМ-ОЕНФ), які за фізико-хімічними властивостями та особливостями будови молекул належать до іоногенних детергентів. Ці речовини характеризуються досить значними об’ємами синтезу, широким використанням у різних галузях народного господарства (як основа промислового випуску пластмас, поліуретанів, мийних засобів, емульгаторів, антикорозійних препаратів, гідравлічних та охолоджувальних речовин тощо), надходженням до джерел питного водопостачання і, завдяки цьому, можливим впливом на організм людини [4, 7]. Патологічні механізми дії різних груп ксенобіотиків в організмі людини та тварин останнім часом дуже інтенсивно вивчають у зв’язку зі зростанням забруднення ними навколишнього середовища [6]. Значне хімічне навантаження організму може призвести до розладів основних його регуляторних систем, сприяти масовому зростанню захворюваності,

© Д. І. Маракушин, 2015.

генетичним порушенням та іншим змінам [2, 3, 5]. За даними більшості дослідників, на екологічну нестабільність перш за все реагують центральна нервова, ендокринна та імунна системи, викликаючи спектр функціональних розладів, порушення обміну речовин і запуск механізмів формування патологічного процесу [1, 8]. Стан процесів нейроендокринної регуляції при тривалому впливі ОЕНФ та їх похідних вивчено недостатньо, а саме їх урахування є необхідним для всебічного розкриття патофізіологічних механізмів дії та засобів їх корекції.

Метою даного дослідження було визначити в сироватці крові щурів вміст гормонів гіпофіза та надниркових залоз – кортикотропіну, кортизолу й адреналіну за умов тривалого перорального впливу оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками: ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 6, 12 (ОЕНФ_{6,12}) та КМ-ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 4, 6 (КМ-ОЕНФ_{4,6}). Експерименти проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії WAG масою 180–220 г. Утримували тварин і виконували маніпуляції над ними відповідно до основних принципів у сфері біоетики. Їх піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово

протягом 45 діб у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50. Середньолетальні дози (ДЛ50) склали: для ОЕНФ₆ – 4,2 г/кг; ОЕНФ₁₂ – 3,4 г/кг; КМ-ОЕНФ₄ – 6,1 г/кг; КМ-ОЕНФ₆ – 2,2 г/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи вводили відповідний об'єм питної води. Досліджували показники через 45 діб від початку експерименту. У кожній групі було по 15 щурів. Забій тварин проводили шляхом декапітації, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. Вміст кортизолу, кортикотропіну в сироватці крові щурів визначали методом твердофазного імуоферментного аналізу за допомогою діагностичних тест-систем “Стероид ИФА-кортизол-01” (Росія), “DSL-10-5100 Active ACTH Elisa” (США) та аналізатора імуоферментного Stat Fax 303 Plus. Концентрацію гормонів у пробах розраховували після вимірювання оптичної щільності розчинів на основі калібрувальних кривих. Адреналін у сироватці крові визначали після виділення хроматографічним методом С. Атак та ін. [9]. Елюцію адреналіну проводили із застосуванням 1 н НСІ, вміст оцінювали на спектрофлюориметрі “Hitachi MPF-4A” при довжині хвилі збудження 445 нм, люмінесценції 490 нм. Для одержання сироватки пробірки з кров'ю термостатували протягом 20 хв із наступним центрифугуванням протягом 10 хв при 1500 об./хв. Статистичний аналіз даних проводили з використанням комп'ютерного пакета прикладних програм для обробки статистичної інформації Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США). Первинне статистичне опрацювання даних починали з перевірки припущення про відповідність вибірок закону гаусівського розподілу, застосовуючи критерій Шапіро–Вілка. Додатково правильність позитивного висновку щодо нормальності розподілу вибірок контролювали за допомогою коефіцієнтів асиметрії та ексцесу. Кількісні ознаки, що мали нормальний розподіл, описували параметричними характеристиками – середнім значенням показника (M) і середнім квадратичним відхиленням (s), у разі відсутності нормального розподілу – непараметричними, зокрема медіаною (Me) та інтерквартильним розмахом. Для порівняння двох нормальних розподілів застосовували t-критерій Стьюдента. Якщо принаймні один з розподілів не був нормальним, то для порівняння незалежних вибірок використовували критерій Манна–Уїтні. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез брали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати дослідження, на 45-ту добу впливу ОЕНФ₆, ОЕНФ₁₂, КМ-ОЕНФ₆ та КМ-ОЕНФ₄ у дозі

1/10 ДЛ50 відзначали статистично значуще ($p < 0,001$), порівняно з контролем, збільшення рівня кортикотропіну – в середньому в 1,8 раза. Приблизно таку ж динаміку змін спостерігали і за дії дози 1/100 ДЛ50: підвищення рівня кортикотропіну становило в середньому 1,7 раза ($p < 0,017$). На цьому тлі відбувалося і зростання вмісту гормону надниркових залоз – кортизолу. При використанні дози 1/10 ДЛ50 достовірним воно було тільки за дії найбільш токсичних з досліджуваних речовин ОЕНФ₆ і КМ-ОЕНФ₆ – в 1,2 ($p = 0,005$) та 1,4 ($p < 0,001$) раза відповідно. При застосуванні дози 1/100 ДЛ50 рівень кортизолу підвищувався ($p < 0,006$) в 1,9; 1,6; 1,3 та 1,2 раза відповідно для КМ-ОЕНФ₆, ОЕНФ₁₂, ОЕНФ₆ і КМ-ОЕНФ₄ (табл.).

Надниркові залози як периферійна ланка гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної системи є ендокринним ефектором адаптивної і стресреалізувальної систем, що забезпечують розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій та відповідь організму на різні екстремальні дії. Будь-який фізіологічний або екзогенний стресорний вплив на організм призводить до стимуляції секреції кортикотропіну і, відповідно, кортизолу, забезпечуючи тим самим адаптацію організму [10]. Тому підвищення вмісту кортикотропіну та кортизолу, особливо за умов тривалої дії ОЕНФ та їх похідних у дозі 1/10 ДЛ50, свідчить перш за все про їх участь у реалізації адаптаційних реакцій в організмі щурів. Гіперпродукування глюкокортикоїдів, як правило, викликає посилення глюконеогенезу, забезпечуючи легкодоступне джерело енергії для реакцій адаптації. Деяке зниження вмісту кортизолу при дії ОЕНФ₁₂ та КМ-ОЕНФ₆ у дозі 1/10 ДЛ50 можна пояснити послабленням стресіндукованої гіперактивації глюкокортикоїдної функції надниркових залоз та початковими ознаками зриву адаптаційно-приспосувальних реакцій в організмі експериментальних тварин.

Що стосується рівня сироваткового адреналіну, то його статистично значуще підвищення відносно контролю відмічали за дії ОЕНФ₆ та КМ-ОЕНФ₄ у дозі 1/10 ДЛ50 – в 1,7 ($p = 0,014$) та 1,9 ($p = 0,004$) раза відповідно. Щодо ОЕНФ₁₂ та КМ-ОЕНФ₆ у дозі 1/10 ДЛ50 спостерігали протилежну динаміку змін вмісту адреналіну – зниження ($p < 0,001$) у середньому в 1,7 раза. На 45-ту добу впливу дози 1/100 ДЛ50 відзначали достовірне збільшення ($p < 0,001$) адреналіну: в 1,9 раза – для ОЕНФ₁₂, в 1,8 раза – для ОЕНФ₆ та КМ-ОЕНФ₄, в 1,4 раза – для КМ-ОЕНФ₆. Зростання рівня адреналіну вказувало перш за все на мобілізацію механізмів адаптації та резистентності орга-

Таблиця – Вміст кортикотропіну, кортизолу, адреналіну в сироватці крові щурів на 45-ту добу впливу оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних (n=15; Me [25 %; 75 %] або M±s)

Показник	ОЕНФ ₆	ОЕНФ ₁₂	КМ-ОЕНФ ₆	КМ-ОЕНФ ₄	Контроль
Доза 1/10 ДЛ50					
Кортикотропін, нмоль/л	1124,7±299,25 p<0,001	1079 [775; 1221] p<0,001	1108 [986; 1295] p<0,001	968,8±116,78 p<0,001	604 [540; 773]
Кортизол, нмоль/л	195 [170; 228] p=0,136	147,8±32,02 p=0,005	127 [118; 149] p<0,001	199 [177; 234] p=0,068	182,0±23,18
Адреналін, нмоль/л	8,3 [6,5; 10,6] p=0,014	2,9±1,07 p<0,001	3,0±0,91 p<0,001	9,3±2,36 p=0,004	5,0±1,64
Доза 1/100 ДЛ50					
Кортикотропін, нмоль/л	980 [800; 1045] p<0,001	1116,7±93,07 p<0,001	1267 [1122; 1325] p<0,001	883 [657; 908] p=0,017	604 [540; 773]
Кортизол, нмоль/л	245 [205; 290] p<0,001	290 [228; 320] p<0,001	345,9±67,99 p<0,001	219,9±32,70 p=0,006	182,0±23,18
Адреналін, нмоль/л	8,9±1,62 p<0,001	9,6±1,99 p<0,001	7,0 [5,9; 9,6] p<0,001	9,0±1,84 p<0,001	5,0±1,64

Примітка. p – рівень значущості порівняно з контролем.

нізму експериментальних тварин у відповідь на тривалий стресовий вплив досліджуваних речовин. У свою чергу, виявлене, як і у випадку кортизолу, зниження рівня адреналіну за умов дії ОЕНФ₁₂ та КМ-ОЕНФ₆ в дозі 1/10 ДЛ50 свідчило про напруження адаптаційно-приспосувальних реакцій в організмі щурів.

ВИСНОВКИ. 1. У механізмі тривалої дії оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних – натрієвих солей карбоксиметилатів оксиетильованих ізононілфенолів у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 на організм щурів істотною ланкою є негативний вплив на процеси нейроендокринної регуляції, що підтверджується розбалансуванням гормонального профілю сироватки крові.

2. Тривала інтоксикація організму щурів оксиетильованими нонілфенолами та їх похід-

ними в дозі 1/10 ДЛ50 викликає зниження вмісту кортизолу й адреналіну на тлі підвищення рівня кортикотропіну, що свідчить про формування напруженого адаптивного стану з початковими ознаками виснаження захисно-компенсаторних механізмів.

3. Тривала дія досліджуваних речовин у дозі 1/100 ДЛ50, навпаки, супроводжується підвищенням вмісту в сироватці крові щурів кортикотропіну, кортизолу та адреналіну, що свідчить про формування стану організму, спрямованого на збереження більш стабільних параметрів гомеостазу.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести комплекс досліджень, спрямованих на обґрунтування патофізіологічних механізмів дії оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних, зокрема оцінку активності моноамінергічних нейромедіаторних систем головного мозку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Афанасьєва А. И. Стрессы: эндокринная регуляция и фармакологическая коррекция / А. И. Афанасьєва. – Барнаул : Изд-во АГАУ, 2008. – 127 с.
- Белозерова С. М. Особенности формирования заболеваемости в условиях индустриального труда и новых технологий / С. М. Белозерова // Медицина труда и промышленная экология. – 2011. – № 3. – С. 13–19.
- Гнатейко О. З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О. З. Гнатейко, Н. С. Лу-

к'яненко // Здоровье ребенка. – 2007. – № 6 (9). – С. 15–24.

4. Детергенти сучасності: технологія виробництва, екологія, економіка використання / [Бурлака В. А., Руденко Г. Б., Грабар І. Г., Біба А. Д.]. – Житомир : ЖДТУ, 2004. – 745 с.

5. Капранов С. В. Принципиальная схема влияния факторов среды жизнедеятельности на организм человека / С. В. Капранов // Довкілля та здоров'я. – 2011. – № 2. – С. 23–26.

6. Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів / [Цудзевич Б. О., Столяр О. Б., Калініна І. В., Юкало В. Г.] – Тернопіль : Видавництво ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. – 384 с.

7. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоемов / [Цыганенко А. Я., Жуков В. И., Щербань Н. Г. и др.]. – Белгород, 2001. – 442 с.

8. Татаркин А. А. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в системе межклеточной функциональной многоуровневой регуляции гомеостаза / А. А. Татаркин, Н. Д. Татаркина, Б. Г. Андрюков //

Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2010. – **43**, № 3. – С. 13–17.

9. Atack C. A procedure for the isolation of nor-adrenaline (together with adrenaline), dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin / C. Atack, T. Magnusson // Acta Pharmacol. et Toxicol. – 1978. – **42**. – P. 35–57.

10. McEwen B. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain / B. McEwen // Physiol. Rev. – 2007. – **87**. – P. 873–904.

Д. И. Маракушин

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЛИЯНИЕ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ НОНИЛФЕНОЛОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА СОДЕРЖАНИЕ КОРТИКОТРОПИНА, КОРТИЗОЛА И АДРЕНАЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

Резюме

Исследовано влияние промышленных химических загрязнителей окружающей среды – оксиэтилированных нонилфенолов и их производных в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ50 на содержание кортикотропина, кортизола и адреналина в сыворотке крови крыс на 45-е сутки воздействия. Нонилфенолы с числом оксиэтилированных групп 6, 12 и их производные – натриевые соли карбоксиметилатов изононилфенолов с числом оксиэтилированных групп 4, 6 в дозе 1/10 ДЛ50 снижают содержание кортизола и адреналина на фоне возрастания уровня кортикотропина в сыворотке крови животных, что указывает на некоторое истощение защитно-компенсаторных механизмов. Вещества в дозе 1/100 ДЛ50 повышают уровень всех исследуемых гормонов, что свидетельствует о формировании состояния организма, направленного на сохранение более стабильных параметров гомеостаза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксиэтилированные нонилфенолы, крысы, сыворотка крови, кортикотропин, кортизол, адреналин.

D. I. Marakushin

KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF OXYETHYLIZED NONYLPHENOLS AND THEIR DERIVATIVES ON THE CONTENT OF CORTICOTROPIN, CORTISOL AND ADRENALIN IN BLOOD SERUM OF RATS

Summary

The influence of industrial chemical contaminants of environment - oxyethylized nonylphenols and their derivatives was investigated at doses of 1/10 and 1/100 DL50 on content of corticotropin, cortisol and adrenalin in blood serum of rats on 45th day of the influence was investigated. Nonylphenols with number of oxyethylized groups 6, 12 and their derivatives – sodium salts of carboxymethylates of oxyethylized isononylphenols with number of oxyethylized groups 4, 6 at a dose of 1/10 DL50 decrease level of cortisol and adrenalin on a background of the rise of level of corticotropin in blood serum of rats, that testifies to some exhaustion of protectively-compensatory mechanisms. Substances at a dose of 1/100 DL50 increase level of all examined hormones, that testifies to formation of the state of the organism directed on saving of more stable parameters of homeostasis.

KEY WORDS: oxyethylized nonylphenols, rats, serum of blood, corticotropin, cortisol, adrenalin.

Отримано 28.01.15

Адреса для листування: Д. І. Маракушин, вул. Культури, 3, кв. 29, Харків, 61058, Україна, e-mail: dmarakushin@ukr.net.

O. S. Pokotylo¹, M. D. Kuhtyn¹, O. A. Pokotylo², T. Ya. Yaroshenko², M. I. Koval²
IVAN PULIUY TERNOPII NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY¹
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY²

LIPOGENESIS IN ADIPOSE TISSUE OF THE LABORATORY ANIMALS AFTER LOADING WITH CHOLESTEROL

The intensity of synthesis of different lipids classes was studied in vitro (fatty acids, cholesterol, phospholipids and acylglycerols) in the homogenates of the adipose tissue after a single daily loading of rats and guinea pigs with the cholesterol (300 mg/kg body weight) during 30 days period. For this purpose, the radioactivity of lipid fractions in the homogenates of adipose tissue of the rats and guinea pigs was measured, while homogenates were incubated separately with [6-¹⁴C] glucose, [2-¹⁴C] lysine or [1-¹⁴C] palmitic acid. The inhibitory effect of cholesterol was established by increasing its level in the diet of rats and guinea pigs on all classes of lipid synthesis in adipose tissue in vitro when [6-¹⁴C] glucose and [2-¹⁴C] lysine were used as precursors, and on the synthesis of cholesterol when [1-¹⁴C] palmitic acid was used as precursor.

KEY WORDS: lipids, cholesterol, rats, guinea pigs, adipose tissue, hypercholesterolemia.

INTRODUCTION. In laboratory animals the experimental hypercholesterolemia is mainly associated with atherosclerosis and used as a laboratory model for studying the pathogenesis of cardiovascular and metabolic pathology, such as coronary heart disease, angina, and myocardial infarction [1, 6, 8]. According to modern ideas that have developed as a result of numerous studies, the increasing level of cholesterol in the diet of animals leads to an increase in its content in plasma lipoproteins and the development of vascular pathology [2, 3, 6].

Effect of experimental hypercholesterolemia in cholesterol and triacylglycerol metabolism, including their synthesis in individual organs and tissues of laboratory animals, is much less studied [4, 11]. The influence of experimental hypercholesterolemia on the degree of consumption of various precursors of cholesterol and fatty acids in their synthesis in individual organs and tissues remains unclear.

The aim of this study was to investigate the effect of experimental hypercholesterolemia in rats and guinea pigs with a load of cholesterol on synthesis of cholesterol and other lipid classes in adipose tissue using different precursors (glucose, palmitic acid, lysine) labeled with radioactive carbon. This scheme is due to the central position

of studies of adipose tissue in the synthesis of reserve lipids [11].

METHODS OF RESEARCH. Studies were conducted on 2 groups of male guinea pigs weighing 360–380 grams and 2 groups of male albino rats weighing 180–200 grams, 4 animals in each group, which were held in the vivarium. Animals of the 1st (control) group of both species were fed a standard diet. Animals of the 2nd group (D) developed hypercholesterolemia caused by feeding them with cholesterol diet in the amount of 300 mg/kg of body weight per day. The duration of the experiment was 30 days. After the experiment, the animals from all groups were sacrificed by decapitation under ether anesthesia, and their brain samples were used for the analysis. Sections of the brain about the size of 1×1×1 mm and 100 mg were transferred to hatching vessels with phosphate Krebs-Ringer buffer (the ratio of mass to volume of tissue to buffer was – 1:10, pH – 7.5, the gas phase – air), to which was added 1 micro Curie [6-¹⁴C] glucose, [2-¹⁴C] lysine or [1-¹⁴C] palmitic acid [10] and incubated for 60 minutes in ultra-termostat at 38 °C with constant stirring [5]. After the incubation, the suspension was centrifuged. The precipitate was washed with 10 ml of distilled water to remove residual isotope and again pelleted by centrifugation [5]. The lipids were extracted from the precipitate with a mixture

of chloroform-methanol (volume ratio 2:1) using Folcha method. They were fractionated into classes by thin layer chromatography on silica gel in the system hexane diethyl ether glacial acetic acid (ratio 70:30:1, respectively) [5], and their radioactivity was determined in a liquid scintillation counter Rovetta ("LKV", Sweden) in toluene scintillator. The obtained data were statistically processed.

RESULTS AND DISCUSSION. The data in Table 1 show that the radioactivity of all classes of lipids in adipose tissue homogenates of the rats in the second group with [6-¹⁴C] glucose was much lower ($p < 0.001$) comparing to the homogenates of adipose tissues of the 1st group. These data indicate the inhibitory effect of exogenous cholesterol while raising its level in the diet of animals on its synthesis and the synthesis of all other classes of lipids, including triacylglycerols, in adipose tissue of rats. The reason for this, according to the obtained results, is exogenous cholesterol inhibition with increasing its level in the diet of animals' synthesis of acetyl-CoA, which is a precursor of cholesterol and fatty acids, by the feedback mechanism.

Acetyl-CoA in animal tissues, including adipose tissue, is formed by the decarboxylation of pyruvic acid, during glucose metabolism using aerobic process. Synthesis inhibition by a feedback mechanism is well known, which is described by the decrease in activity of enzymes that catalyze the formation of its predecessors synthesis into the end products, which happens during the conditions of the experiment such as exogenous cholesterol presence.

Explanation is consistent with results as we detected significantly less radioactivity of cholesterol and all other classes of lipids and fatty acids in adipose tissue homogenates of the rats in group 2 with [2-¹⁴C] lysine ($p < 0.001$), compared

to the radioactivity of lipids synthesized in the homogenates of adipose tissue from group 1. As you know, the end product of metabolism of the carbon skeleton after deamination of lysine in animal tissues is Acetyl-CoA, which can be oxidized in the tricarboxylic acid cycle, and also is used in the synthesis of fatty acids and cholesterol. Reduced cholesterol synthesis was also found in adipose tissue of animals from group two during the incubation of homogenates with [1-¹⁴C] palmitic acid. Radioactivity of free cholesterol during the incubation of adipose tissue homogenates from rats in group two with [1-¹⁴C] palmitic acid was twice smaller ($p < 0.001$) than during the incubation of homogenates from animals of group one, while the difference in radioactivity of triacylglycerols was absent, and the radioactivity of phospholipids – higher. These data suggest that during extra load of cholesterol in rat adipose tissue of white rats *in vitro* oxidation decreases [1-¹⁴C] palmitic acid and the use of acetyl-CoA formed in the synthesis of cholesterol.

In general, the obtained results indicate inhibitory effect of exogenous cholesterol when added to the diet of rats on the formation of acetyl-CoA and its use in the synthesis of fatty acids and cholesterol from different precursors not only in the liver, brain and mucous thin guts under conditions *in vitro* [9], but also in adipose tissue. Reduced synthesis of fatty acids in adipose tissue of animals with hypercholesterolemia leads to a decrease in their use during the synthesis of triacylglycerols and phospholipids and in the etherification of the cholesterol.

The data in Table 2 show that the intensity of lipid synthesis in adipose tissue of guinea pigs with hypercholesterolemia is dramatically reduced compared to the intensity of their synthesis in animals from the control group when [6-¹⁴C] glucose is used as a lipid precursor. Thus, the radioactivity of total lipids synthesized by adipose tissue

Table 1 – **The radioactivity of certain classes of lipids synthesized by adipose tissue of rats in homogenates after incubation with [6-¹⁴C] glucose, [1-¹⁴C] palmitic acid and [2-¹⁴C] lysine (M±m, β-decays/100 mg wet tissue/min, n=4)**

The class of lipids	Group of animals					
	[6- ¹⁴ C] glucose		[1- ¹⁴ C] palmitic acid		[2- ¹⁴ C] lysine	
	control	treatment	control	treatment	control	treatment
Phospholipids	1135±83	82±6*	311±19	549±32*	844±49	158±7*
Mono and diacylglycerol	562±27	79±4*	488±31	528±38	442±31	81±5*
Free cholesterol	1056±63	86±4*	402±29	586±19*	500±36	138±9*
Free fatty acids	4244±222	111±9*	997±45	924±40	1287±66	222±14*
Triacylglycerol	3805±195	87±3*	1144±39	1137±68	3095±172	95±5*
Etherified cholesterol	1345±88	81±5*	1064±57	1004±55	980±64	104±3*
General lipids	12147±644	528±33*	4406±198	4731±216	7151±403	799±62*

Note. Here and in Table 2: * – the probability of differences between parameters is $p < 0.005$.

of guinea pigs in group two with hypercholesterolemia was 3.21 times less than the radioactivity of total lipids in guinea pigs from the 1st (control) group.

Studies have shown that radioactivity of phospholipids, free cholesterol+diacylglycerols, free fatty acids, triacylglycerols and etherified cholesterol synthesized in the tissues in group two during the incubation with [6-¹⁴C] glucose was less by 1.64; 1.81; 2.36; 10.07 and 2.26 times respectively, compared with the animals of the 1st control group.

The results are consistent with the data on the inhibition of lipid synthesis in adipose tissue of rats with hypercholesterolemia when [6-¹⁴C] glucose is used as a precursor for lipids formation. This can be explained by inhibitory effect on cholesterol formation by acetyl-CoA from pyruvate

formed during the metabolism of glucose in tissues of animals with hypercholesterolemia by a feedback mechanism. This mechanism includes, reduction in substrate concentration providing synthesis on the one hand, cholesterol, and the other – fatty acids. As a result, the intensity decreases not only for the synthesis of fatty acids and cholesterol and other lipid classes.

The data in Table 2 show that most of the [1-¹⁴C] palmitic acid is used in the adipose tissue of guinea pigs in the synthesis of phospholipids and triacylglycerols. Thus, their radioactivity was respectively 23.6 and 18.5 % of the total radioactivity for the lipids, and the total radioactivity of diacylglycerols and free cholesterol amounted to 18.5 %, free fatty acids to 23.7 %, etherified cholesterol – to 15.8 % of radioactivity for total lipids.

Table 2 – **The radioactivity of certain classes of lipids synthesized by adipose tissue in the studied guinea pigs during the incubation with [6-¹⁴C] glucose, [1-¹⁴C] palmitic acid and [2-¹⁴C] lysine (M±m, β-decays/100 mg wet tissue/min, n=4)**

The class of lipids	Group of animals					
	control	treatment	control	treatment	control	treatment
Phospholipids	1280±85	780±47*	976±79	1116±65	921±69	724±51
Diacylglycerols + free cholesterol	858±53	474±53*	776±64	860±99	612±45	446±21*
Free fatty acids	1888±107	800±33*	992±89	1080±68	499±46	446±28
Triacylglycerol	4411±289	438±28*	773±38	580±19*	897±51	436±31*
Etherified cholesterol	1013±69	448±21*	661±53	784±44	619±44	458±38*
General lipids	9450±620	2940±144*	4178±343	4420±267	3348±239	2510±129*

From the data in Table 2 we can show that the difference in the intensity of lipid synthesis in adipose tissue of guinea pigs in group two with hypercholesterolemia when [1-¹⁴C] palmitic acid is used as a lipid precursor compared to the intensity of their synthesis in animals from group one does not valid. These data indicate a lack of inhibitory effect of hypercholesterolemia on lipid synthesis in adipose tissue of guinea pigs with exogenous fatty acids. This is consistent with the results obtained by us about the lack of inhibitory effect of hypercholesterolemia on the synthesis of lipids with [1-¹⁴C] palmitic acid in adipose tissue of rats.

However, the radioactivity of phospholipids synthesized by adipose tissue of guinea pigs of group one during the incubation with [2-¹⁴C] lysine was 15.2 %, diacylglycerols+cholesterol – 12.7 %, free fatty acids – 24.5 %, triacylglycerols – 36.5 %, etherified cholesterol – 11.0 % of the radioactivity for the total lipids. In general, as shown by our study, catabolism of [2-¹⁴C] lysine and degree obtained with the use of acetyl-CoA in the

synthesis of fatty acids and cholesterol in adipose tissue of guinea pigs is much higher than in the brain [7].

Thus obtained results show the inhibitory effect of exogenous cholesterol when added to the diet of rats and guinea pigs on the formation of acetyl-CoA and its use in the synthesis of fatty acids and cholesterol from various precursors in adipose tissue. Reduced synthesis of fatty acids in adipose tissue of animals with hypercholesterolemia leads to a decrease in their use in the synthesis of triacylglycerols and phospholipids and cholesterol etherification.

CONCLUSIONS. Feeding white rats and guinea pigs with standard feed additives in the amount of cholesterol of 300 mg/kg body weight per day leads to a sharp decrease in the intensity of synthesis of all classes of lipids in adipose tissue in vitro when [6-¹⁴C] glucose and [2-¹⁴C] lysine are used as precursors, and to a reduction in the intensity of synthesis of cholesterol when [1-¹⁴C] palmitic acid is used as a precursor.

REFERENCES

1. Brain Insulin Controls Adipose Tissue Lipolysis and Lipogenesis / Thomas Scherer, James O'Hare, Kelly Diggs-Andrews [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2011. – **13**, № 2. – P. 183–194.
2. Lafontan M. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue / M. Lafontan, D. Langin // *Prog. Lipid Res.* – 2009. – **48**. – P. 275–297.
3. Maternal hypercholesterolemia and treatment during pregnancy influence the long-term progression of atherosclerosis in offspring of rabbits / W. Palinski, F. D'Armiento, J. Witztum [et al.] // *J. Circ. Res.* – 2001. – № 89 (11). – P. 991–996.
4. Trans fatty acids and cholesterol metabolism: mechanistic studies in rats and rabbits fed semipurified diets / L. Gatto, M. Lyons, A. Brown, S. Samman // *Int. J. Food Sci. Nutr.* – 2001. – **52**, № 5. – С. 435–441.
5. Кейтс М. И. Техника липидологии / М. И. Кейтс. – М. : Мир, 1975. – 282 с.
6. Климов А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева. – СПб. : Питер Ком., 1999. – 512 с.
7. Ліпогенез і холестерологенез у головному мозку лабораторних тварин після навантаження холестеролом / О. С. Покотило, М. Д. Кухтин, М. І. Коваль, Т. Я. Ярошенко // *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія "Біологія"*. – 2014. – № 4 (61). – С. 147–152.
8. Методические рекомендации по изучению гиполипидемических и противоатеросклеротических средств / [Н. А. Гончарова, Л. Т. Малая, В. А. Бобров и др.]. – К. : Фармакологический комитет МЗ Украины, 1996. – 28 с.
9. Покотило О. С. Синтез ліпідів у тканинах білих щурів при навантаженні холестеролом / О. С. Покотило, В. Г. Янович // *Біологія тварин*. – 2004. – **7**, № 1–2. – С. 39–42.
10. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. – 222 с.
11. Янович В. Г. Обмен липидов у животных в онтогенезе / В. Г. Янович, П. З. Лагодюк. – М. : Агропромиздат, 1991. – 316 с.

О. С. Покотило¹, М. Д. Кухтин¹, О. О. Покотило², Т. Я. Ярошенко², М. І. Коваль²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО²

ЛІПОГЕНЕЗ У ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПІСЛЯ НАВАНТАЖЕННЯ ХОЛЕСТЕРОЛОМ

Резюме

Досліджено *in vitro* інтенсивність синтезу ліпідів різних класів (жирних кислот, холестеролу, фосфоліпідів і ацилгліцеролів) у гомогенатах жирової тканини після одноразового щоденного впродовж 30 діб навантаження білих щурів і морських свинок холестеролом (300 мг/кг маси тіла). Для цього в гомогенатах жирової тканини білих щурів і морських свинок, які інкубували окремо із [6-¹⁴C] глюкозою, [2-¹⁴C] лізином або [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою, визначали радіоактивність ліпідних фракцій. Встановлено інгібуючий вплив холестеролу за умов підвищення його рівня в раціоні білих щурів і морських свинок на синтез всіх класів ліпідів у жировій тканині *in vitro* при використанні як попередників [6-¹⁴C] глюкози і [2-¹⁴C] лізину та на синтез холестеролу при застосуванні як попередника [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, холестерол, щури, морські свинки, жирова тканина, гіперхолестеролемія.

О. С. Покотило¹, М. Д. Кухтин¹, Е. А. Покотило², Т. Я. Ярошенко², М. И. Коваль²
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ПУЛЮЯ¹
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ЛИПОГЕНЕЗ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ НАГРУЗКИ ХОЛЕСТЕРОЛОМ

Резюме

Исследована *in vitro* интенсивность синтеза липидов различных классов (жирных кислот, холестерина, фосфолипидов и ацилглицеролов) в гомогенатах жировой ткани после однократной ежедневной в течение 30 суток нагрузки белых крыс и морских свинок холестерином (300 мг/кг массы тела). Для этого в гомогенатах жировой ткани белых крыс и морских свинок, которые инкубировали отдельно с [6-¹⁴C] глюкозой, [2-¹⁴C] лизином или [1-¹⁴C] пальмитиновой кислотой, определяли радиоактивность липидных фракций. Установлено ингибирующее влияние холестерина в условиях повышения его уровня в рационе белых крыс и морских свинок на синтез всех классов липидов в жировой ткани *in vitro* при использовании в качестве предшественников [6-¹⁴C] глюкозы и [2-¹⁴C] лизина и на синтез холестерина при применении в качестве предшественника [1-¹⁴C] пальмитиновой кислоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, холестерол, крысы, морские свинки, жировая ткань, гиперхолестеролемиа.

Received 15.01.15

Address for correspondence: O. S. Pokotylo, Ivan Puliuy Ternopil National Technical University, Tantsorova St., 2, Ternopil, 46001, Ukraine, e-mail: pokotylo_oleg@ukr.net.

РОЗПОДІЛ АСТРОЦИТОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ ПРИ ДІЇ ДОКСОРУБІЦИНУ НА ЩУРІВ

Досліджено розподіл кальцієзв'язувального білка S-100b і гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) за умов токсичної дії доксорубіцину. За допомогою конкурентного імуноферментного аналізу виявлено підвищення рівня S-100b та філаментної форми ГФКБ у структурно і функціонально різних відділах головного мозку щурів при дії доксорубіцину протягом 4 тижнів. Отримані результати показали, що доксорубіцин індукує розвиток астрогліозу в гіпокампі тварин на відміну від інших досліджуваних відділів мозку. Сумісне застосування доксорубіцину разом з антиоксидантами різної природи частково сприяє запобіганню збільшенню концентрації ГФКБ та S-100b у гіпокампі щурів. У периферичній нервовій системі серцевої тканини відзначено реципрокно зміну рівня S-100b та ГФКБ з високим ступенем кореляційного зв'язку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: доксорубіцин, мозок, астроглія, гліальний фібрилярний кислий білок, S-100b.

ВСТУП. Антрациклінові антибіотики є одними з найефективніших препаратів у лікуванні пухлин різної етіології, зокрема мозку [1, 11, 16]. Вплив антрациклінових препаратів на здорові тканини мозку супроводжується низкою побічних когнітивних порушень, у тому числі втрату пам'яті, схильністю до відсутності уваги, і труднощами при виконанні одночасно кількох завдань [10]. Загальна токсична дія антрациклінових цитостатиків передбачає комплекс механізмів пошкодження, направлених на розвиток окисного стресу, порушення ДНК мітохондрій і ядерної ДНК клітин, активацію апоптозу, некроз та інші шляхи ураження, що пов'язані з недостатньо вивченим метаболізмом доксорубіцину в організмі [1]. Вважають, що антрациклінові антибіотики не проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), однак недавно було показано, що введення антрациклінів викликає збільшення периферичного фактора некрозу пухлини- α (TNF- α), який мігрує через ГЕБ і призводить до запалення та окисного стресу в головному мозку, що, найімовірніше, сприяє зниженню когнітивних функцій [5].

Західні вчені широко вивчають доставку антрациклінових кон'югатів до мозку через ускладнення перетинання антрацикліновими препаратами ГЕБ для лікування гліом, гліобластом, нейробластом та інших злоякісних новоутворень мозку [11, 16]. Головною скла-

довою гематоенцефалічного бар'єру є астроцити, які беруть участь у формуванні ГЕБ, регуляції мозкового кровотоку та його метаболічної підтримки [7]. Крім того, астроцити першими відповідають на окисний стрес та патогенні чинники, під впливом яких вони можуть змінювати свою будову та біохімічні властивості. Поведінка астроцитів характеризується розподілом ряду білків, ключовими серед яких є кальцієзв'язувальний білок S-100b та білок проміжних філаментів цитоскелета астроцитів – гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ) [12, 14, 22].

S-100b в цитоплазмі існує у вигляді димеру $\beta\beta$ (21 кДа). Він бере участь у регуляції деградації білків, регулюванні компонентів цитоскелета [23], функціонуванні рецепторів [20], ферментній активації [22, 23], клітинній проліферації і диференціації [8], транскрипції [23], пересуванні клітин [23], підтриманні кальцієвого гомеостазу [23], фосфорилуванні білків [22] та ін. [14, 19, 20]. Дуже важливою функцією S-100b вважають модулювання збирання-розбирання мікротрубочок, а саме типу III проміжних філаментів астроцитів [21].

Найбільш відома функція проміжних філаментів полягає в забезпеченні механічної опори для плазматичної мембрани, де ГФКБ вступає в контакт з іншими білками, клітинами або позаклітинним матриксом, але роль ГФКБ у популяції глії мозку набагато ширша. Зміна рівня ГФКБ варіює за різних патологій (інсульт,

мозкова травма, хвороба Альцгеймера або Паркінсона), даний білок вважають ключовим маркером астрогліозу та нейротоксичності [13], а також старіння мозку [8] та ін. [18].

Залишається багато невирішених питань щодо впливу доксорубіцину на нервові клітини мозку, а саме на астроцити. На сьогодні немає даних стосовно розподілу ГФКБ та S-100b у ЦНС і ПНС за умов дії цього цитостатика.

Отже, метою даної роботи було дослідити реакцію астроглії під впливом доксорубіцину протягом 4 тижнів та ефект цього цитостатика разом із антиоксидантами різної природи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою (210±50) г. Тварин було поділено на 4 групи по 8 особин у кожній. До 1-ї групи ввійшли контрольні тварини, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину. Щурам 2-ї групи вводили внутрішньочеревно доксорубіцин у дозі 1 мг/кг 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів. Тварини 3-ї групи також отримували доксорубіцин за такою ж схемою, що і щури 2-ї групи, та водний розчин 1 % α -кетоглутарату в питній воді протягом усього експерименту. Щодня тварини 3-ї групи споживали 43 мл питної рідини на 1 кг маси тіла. Щури 4-ї групи одержували внутрішньочеревно ін'єкції корвітину (Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод, Україна) в дозі 5 мг/кг за 30–60 хв до введення доксорубіцину за вищенаведеною схемою. Після закінчення 5 тижня експерименту всіх щурів декапітували з використанням тіопенталу натрію в дозі 60 мг/кг відповідно до вимог Міжнародної конвенції з правил гуманного поводження з дослідними тваринами.

З тканин гіпокампа, мозочка і кори великих півкуль виділяли цитозольну та філаментну фракції білків за допомогою диференційного ультрацентрифугування. Для виділення першої фракції водорозчинних та цитозольних білків тканини мозку гомогенізували у співвідношенні 1:10 в буфері А (трис-НСІ – 25мМ; рН 7,4; ЕДТО – 1мМ; дитіотреїтол 0,01 %, суміш протеазних інгібіторів – 2 мМ), центрифугували при 20 000 g 60 хв, супернатант відокремлювали для подальшого аналізу.

Для виділення філаментної фракції осад після відокремлення мембранних білків (тритонова фракція) ресуспендували в буфері А, що містив 4 М сечовини, та інкубували протягом 24 год при +4 °С. Після центрифугування при 20 000 g 90 хв супернатант використовували для подальшого аналізу.

В отриманих фракціях визначали концентрацію ГФКБ та S-100b за допомогою кон-

курентного твердофазного імуноферментного аналізу [3] з використанням поліклональних моноспецифічних антитіл до ГФКБ (Santa Cruz Biotechnology, Inc., США) та S-100b (Sigma, США), вторинних антикролячих анти-IgG, мічених пероксидазою хрому (Sigma-Aldrich, США), та високоочищених ГФКБ (Boehringer Mannheim, Німеччина) і S-100b (Sigma, США) як стандартних калібраторів. Результати реєстрували за допомогою спектрофотометра Anthos 2010 (Фінляндія) при 492 нм.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програм Statwin та Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідними вважали результати, якщо $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У нашому експерименті рівень білка S-100b, що локалізувався переважно в цитозолі астроцитів і частково виділявся у міжклітинний простір, визначали у водорозчинних цитозольних фракціях білків, отриманих з гіпокампа, таламуса, кори великих півкуль та мозочка щурів.

Введення щурам доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів призводило до підвищення рівня кальцієзв'язувального білка S-100b у корі великих півкуль на 20 % ((3,08±0,15) мкг/100 мг тканини, $p \leq 0,03$) порівняно з показником контрольних тварин ((2,51±0,14) мкг/100 мг тканини) (рис. 1). У гіпокампі й таламусі за умов дії доксорубіцину також спостерігали збільшення рівня S-100b на 20,5 % з (2,96±0,16) до (3,57±0,12) мкг/100 мг тканини ($p \leq 0,02$) та на 26 % з (3,79±0,15) до (4,77±0,43) мкг/100 мг тканини ($p \leq 0,08$). У мозочку щурів вплив доксорубіцину не призводив до значущих змін рівня S-100b і склав (3,3±0,14) мкг/100 мг тканини (рис. 1).

Крім важливих функцій, які відмічені у вступі, кальцієзв'язувальний білок S-100b залучається

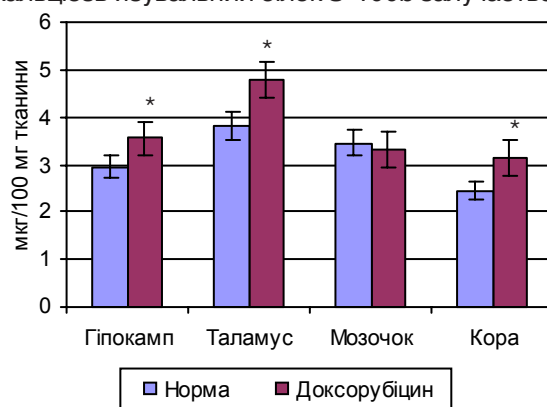


Рис. 1. Рівень кальцієзв'язувального білка S-100b у різних відділах мозку щурів за нормальних умов та при впливі доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів (n=8, * – $p \leq 0,05$).

також до регуляції серцево-судинного розвитку, його вважають біохімічним маркером травм головного мозку після шунтування і дилатативної кардіоміопатії [25]. Оскільки доксорубіцин може викликати кардіоміопатію [2, 6], ми визначили рівень S-100b у фракціях білків, отриманих із серцевого м'яза, а також у плазмі крові щурів.

Аналіз концентрації S-100b у плазмі крові щурів та відповідних екстрактах із серцевого м'яза показав, що рівень даного білка ($(0,01 \pm 0,001)$ мкг/мл – у плазмі та $(0,11 \pm 0,008)$ мкг/100 мг тканини – в серці) був на порядок-два нижчим від концентрації S-100b у мозку. В серці за умов дії доксорубіцину спостерігали різке зменшення вмісту S-100b на 83 % (до $(0,019 \pm 0,006)$ мкг/100 мг тканини порівняно з нормою). У плазмі крові тварин при дії доксорубіцину не відбулося вірогідних змін рівня S-100b.

Дослідження розподілу іншого білка, специфічного для проміжних філаментів цитоскелета астроцитів, – гліального фібрилярного кислого білка показали зміну співвідношення розчинної та філаментної форм даного білка при впливі доксорубіцину протягом 4 тижнів. За нормальних умов рівень розчинної форми ГФКБ у досліджуваних відділах мозку щурів склав у середньому від $(0,49 \pm 0,05)$ до $(1,91 \pm 0,4)$ мкг/100 мг тканини (рис. 2).

Ін'єкції доксорубіцину протягом 4 тижнів не призвели до вірогідних змін рівня розчинної форми ГФКБ у гіпокампі й таламусі, а в мозочку спостерігали його зменшення на 33 % ($p < 0,04$), тоді як у корі великих півкуль відзначали тенденцію до збільшення рівня цієї форми білка на 49 %, але не у всіх тварин ($p \leq 0,19$). У цитозольній фракції білків, виділеній із тканини мозку, розчинну форму ГФКБ можна отримати

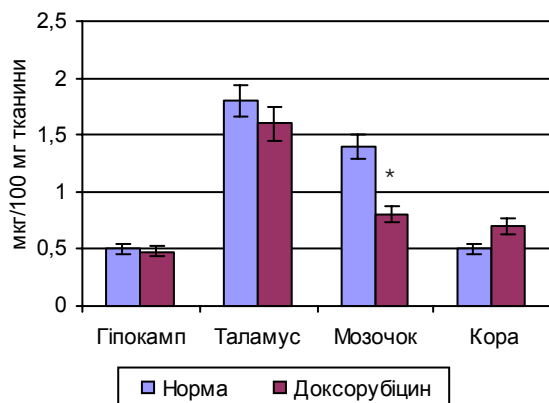


Рис. 2. Концентрація розчинної форми гліального фібрилярного кислого білка у різних відділах мозку щурів за нормальних умов та при впливі доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів ($n=8$, * – $p \leq 0,05$).

шляхом синтезування в цитоплазмі та утворення внаслідок розбирання філаментної мережі цитоскелета астроцитів [4]. За нормальних умов рівень філаментної форми ГФКБ коливався від $(3,9 \pm 1,8)$ до $(45,4 \pm 15,1)$ мкг/100 мг тканини залежно від відділу мозку щурів (рис. 3). У гіпокампі відзначено збільшення концентрації філаментної форми ГФКБ на 236 % ($p < 0,003$) порівняно з контролем, що може бути наслідком прискорення проліферації астроцитів або біосинтезу даного білка.

У периферичній нервовій системі нейрони локалізовані в гангліях дорсальних корінців, які анатомічно оточені сателітними гліальними клітинами, що експресують ГФКБ [17]. Зокрема, ГФКБ у слідовій кількості також експресується немієлінованими шванівськими клітинами, зірчастими клітинами печінки, підшлункової залози, подоцитами нирок [7]. При травмах, запаленні, вірусних інфекціях сателітні гліальні клітини активуються і підвищують експресію ГФКБ (що можна використовувати як маркер активації гліальних клітин ПНС) [17].

Рівень ГФКБ у серці на декілька порядків нижчий, ніж у мозку. Проте за умов впливу доксорубіцину мало місце збільшення рівня філаментної форми ГФКБ у серці на 206 % ($p \leq 0,05$) порівняно з нормою. Одночасно спостерігали підвищення рівня ГФКБ на 143 % у плазмі крові щурів, які отримували доксорубіцин, але не у всіх тварин ($p \leq 0,12$). Встановлено сильний кореляційний зв'язок $r=0,58$ в розподілі S-100b та ГФКБ у серці, де знижувався S-100b та підвищувалась філаментна форма ГФКБ.

Сумісне застосування доксорубіцину з антиоксидантами (α -кетоглутаратом (α КГ) або корвітином) не призвело до нормалізації кількості S-100b у корі великих півкуль та

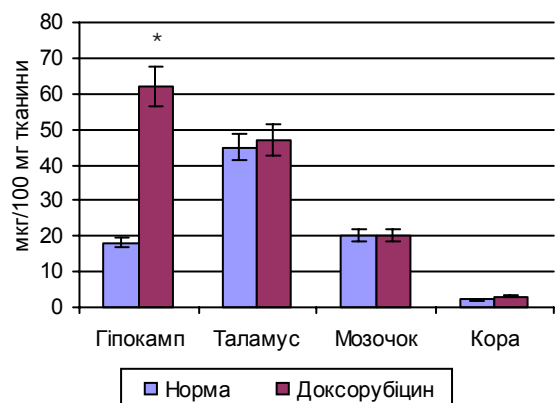


Рис. 3. Концентрація філаментної форми гліального фібрилярного кислого білка у різних відділах мозку щурів за нормальних умов та при впливі доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів ($n=8$, * – $p \leq 0,05$).

гіпокампі, тоді як у таламусі спостерігали тенденцію до зниження рівня S-100b на 8 % ($p \leq 0,12$) до нормальних значень за умов використання α КГ (рис. 4).

За умов використання як корвітину, так і α -кетоглутарату відмічено тенденцію до зниження рівня ГФКБ у гіпокампі з великим діапазоном похибки, але рівень філаментної форми ГФКБ ще залишався високим, як і в щурів, які отримували тільки доксорубіцин.

Застосування антиоксидантів на фоні дії доксорубіцину не призвело до покращення рівня S-100b у серцевому м'язі. Але використання α -кетоглутарату разом із доксорубіцином спричинило зниження рівня філаментної форми ГФКБ у серцевому м'язі на 220 % ($p \leq 0,04$) порівняно з тваринами, які отримували тільки доксорубіцин, та його наближення до рівня норми, що корелювало зі зміною рівня S-100b ($r=0,88$). Також відзначено зменшення рівня розчинної форми ГФКБ у серці на 148 % ($p \leq 0,11$) до рівня норми, але з великим діапазоном похибки, за умов використання корвітину на фоні дії доксорубіцину.

Як свідчать наведені дані, за умов доксорубіцинової токсикації відбувалася незначна активація астрогліальних кальціезалежних механізмів захисту без деполімеризації проміжних філаментів (особливо в таламусі, який відповідає за біль та приймання всіх аферентних імпульсів, що далі направляються до кори головного мозку). Рівень філаментного ГФКБ не змінювався в таламусі, мозочку та корі великих півкуль.

Натомість при проведенні кореляційного аналізу між розподілом S-100b та ГФКБ у мозку



Рис. 4. Рівень кальцієзв'язувального білка S-100b у таламусі щурів за нормальних умов, при впливі доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів та сумісному ефекті доксорубіцину й антиоксидантів різної природи (1 % α -кетоглутарату в питній воді протягом 4 тижнів або корвітину в дозі 5 мг/кг за 30–60 хв до введення доксорубіцину; $n=8$, * – $p \leq 0,05$).

піддослідних тварин було зафіксовано високий ступінь кореляційного зв'язку ($r=0,63$) між підвищенням у гіпокампі рівня S-100b на 20,5 % ($p \leq 0,02$) і значним збільшенням рівня філаментного ГФКБ у гіпокампі на 236 % ($p < 0,003$), що свідчило про спорідненість процесів, характерну для високого ризику розвитку астрогліозу в гіпокампі щурів за умов впливу доксорубіцину протягом 4 тижнів. Гліальна реакція включає активацію рецепторів, зокрема Toll-подібних рецепторів, факторів транскрипції (NF- κ B, Nrf2, AP-1 і т. д.) та сигнальних молекул (p38MAPK, JNK, JAK/STAT3 тощо) з розвитком загального запального процесу [9]. Ефективне інгібування NF- κ B та зменшення запальної реакції можна досягнути за рахунок антиоксидантних молекул, таких, як флавоноїди [9]. Отже, часткове зниження рівня ГФКБ та S-100b під впливом застосованих антиоксидантів ($r=0,67$ при використанні корвітину) можна пояснити гальмуванням запальної реакції астроцитів за умов дії доксорубіцину.

Зменшення рівня регуляторного розчинного ГФКБ у мозочку супроводжувалося зниженням локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності щурів на 3 і 4 тижнях експерименту, що ми визначили раніше [2]. Зниження розчинної форми ГФКБ у мозочку може бути наслідком зміни локомоторної активності тварин під впливом больового та стресового факторів доксорубіцину.

Підвищення рівня S-100b у гіпокампі й таламусі мало тісний кореляційний зв'язок ($r=0,80$ та $r=0,47$ відповідно) з підвищенням рівня S-100b у корі головного мозку, що може бути результатом відповіді на больову та стресову дії доксорубіцину.

Згідно з наведеними вище даними, можна стверджувати, що цілісність ГЕБ не була порушена при дії доксорубіцину окремо та за умов сумісного застосування доксорубіцину з антиоксидантами, оскільки зберігався баланс між рівнем астрогліальних білків у мозку та плазмі крові. Захисна реакція астроглії в мозку стимулюється опосередковано, найімовірніше, за рахунок продукування окисних продуктів метаболізму доксорубіцину та прозапальних цитокінів під час розвитку кардіопатії, індукованої цим цитостатиком. У нашому дослідженні раніше було підтверджено, що за дози доксорубіцину 1 мг/кг маси тіла тварин протягом 4 тижнів розвивається кардіопатія [2]. Порушення роботи серця сприяє розвитку гіпоксії, за якої відбуваються втрата АТФ, порушення метаболізму глюкози і перенесення кисню, розлад роботи клітинних мембран і активація фосфоліпази, що призводить до ліполізу,

вивільнення арахідонової кислоти, глутамату та інших токсичних нейротрансмітерів, що збільшують внутрішньоклітинний кальцій і призводять до порушення роботи нейронів мозку [15]. Отримані нами дані вказують на те, що астроглія гіпокампа і таламуса найбільш чутлива до наслідків дії доксорубіцину. Гіпокамп є структурою мозку, що найбільше піддається ушкодженню за умов дефіциту надходження кисню. Раніше було підтверджено розвиток астрогліозу в СА1-ділянці гіпокампа за умов ішемії [19, 24]. Отримані в цьому експерименті дані показали, що тільки в гіпокампі відбуваються вірогідні зміни астроглії в напрямку розвитку астрогліозу, що, найімовірніше, є

наслідком розвитку доксорубіциніндукованої кардіопатії.

Сумісне застосування доксорубіцину разом з антиоксидантами може частково запобігати токсичному ефекту даного цитостатика.

ВИСНОВКИ. 1. Доксорубіцинова токсикація призводить до незначної активації астрогліальних кальцієзалежних механізмів захисту без деполімеризації проміжних філаментів.

2. Дія доксорубіцину протягом 4 тижнів індукує розвиток астрогліозу в гіпокампі, що, найімовірніше, є наслідком доксорубіциніндукованої кардіопатії.

3. Антиоксиданти на фоні дії доксорубіцину частково запобігають активації астроглії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабець Я. В. Токсичні ефекти та біохімічний контроль наслідків антрациклінової терапії. Огляд / Я. В. Бабець, Г. О. Ушакова // *Арх. клініч. та експерим. медицини.* – 2013. – **22**, № 2. – С. 242–248.
2. Зміни фізіологічних та біохімічних показників у щурів з доксорубіцин-індукованою кардіопатією на тлі застосування препаратів з антиоксидантною дією / Ю. А. Гордієнко, Я. Бакланова, М. В. Коваленко [та ін.] // *Біологія тварин.* – 2012. – **14**, № 1–2. – С. 74–79.
3. Нго Т. Т. Иммуноферментный анализ / Т. Т. Нго, Г. М. Ленхофф, А. Яклич. – М.: Мир, 1988. – 444 с.
4. 14-3-3 affects dynamics and integrity of glial filaments by binding to phosphorylated GFAP / H. Li, Y. Guo, J. Teng [et al.] // *Journal of Cell Science.* – 2006. – **119**. – P. 4452–4461.
5. Alterations in brain antioxidant enzymes and redox proteomic identification of oxidized brain proteins induced by the anti-cancer drug adriamycin: implications for oxidative stress-mediated chemobrain / G. Joshi, C. D. Aluise, M. P. Cole [et al.] // *Neuroscience.* – 2010. – **166**, № 3. – P. 796–807.
6. Cardioprotective effect of Vedic Guard against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A biochemical, electrocardiographic, and histopathological study / B. C. Koti, S. Nagathan, A. Vishwanathswamy [et al.] // *Pharmacogn. Mag.* – 2013. – **34**. – P. 176–181.
7. Chia Lim M. C. Glial Fibrillary Acidic Protein Splice Variants in Hepatic Stellate Cells - Expression and Regulation / M. C. Chia Lim, G. Maubach, L. Zhuo // *Mol. Cells.* – 2008. – **25**, № 3. – P. 376–384.
8. Cloning and Expression of the Human S100b Gene / R. J. Allore, W. C. Friend, D. O'Hanlon [et al.] // *The J. of Biological Chemistry.* – 1990. – **265**, № 26. – P. 15537–15543.
9. Colangelo A. M. Astroglialosis as a therapeutic target for neurodegenerative diseases / A. M. Colangelo, L. Alberghina, M. Papa // *Neuroscience Letters.* – 2014. – **565**, № 17. – P. 59–64.
10. Doxorubicin-induced central nervous system toxicity and protection by xanthone derivative of

garcinia mangostana / J. Tangpong, S. Miriyala, T. Noel [et al.] // *Neuroscience.* – 2011. – **23**, № 175. – P. 292–299.

11. Gupta R. Stage 4S Bilateral Adrenal Neuroblastoma in a Newborn / R. Gupta, T. A. Mala, P. Mathur // *APSP J. Case Rep.* – 2014. – **5**, № 1. – P. 9–11.

12. Hassan S. Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) as a Mesenchymal marker of Early Hepatic Stellate Cells Activation in Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C Infection / S. Hassan, S. Syed, S. I. Kehar // *Pak. J. Med. Sci.* – 2014. – **30**, № 5. – P. 1027–1032.

13. Health assessment of gasoline and fuel oxygenate vapors: Neurotoxicity evaluation / P. J. O'Callaghan, W. C. Daughtrey, C. R. Clark [et al.] // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2014. – **10**. – P. 1016–1024.

14. Higashino H. Immunohistochemical analysis of brain lesions using S100B and glial fibrillary acidic protein antibodies in arundic acid- (ONO-2506) treated stroke-prone spontaneously hypertensive rats / H. Higashino, A. Niwa, T. Satou // *J. Neural Transm.* – 2009. – **116**. – P. 1209–1219.

15. Hypothermia after cardiac arrest as a novel approach to increase survival in cardiopulmonary cerebral resuscitation: a review / H. Soleimanpour, F. Rahmani, S. Safari [et al.] // *Iran. Red. Crescent Med. J.* – 2014. – **16**, № 7. – P. 1–9.

16. Inoue S. Doxorubicin treatment induces tumor cell death followed by immunomodulation in a murine neuroblastoma model / S. Inoue, Y. Setoyama, A. Otake // *Exp. Ther. Med.* – 2014. – **7**, № 3. – P. 703–708.

17. Marques Nascimento D. S. Satellite Glial Cells Surrounding Primary Afferent Neurons Are Activated and Proliferate during Monoarthritis in Rats: Is There a Role for ATF3? / D. S. Marques Nascimento, J. M. Castro-Lopes, F. L. Moreira Neto // *PLoS One.* – 2014. – **9**, № 9. – P. 1–9.

18. Middeldorp J. GFAP in health and disease / J. Middeldorp, E. M. Hol // *Progress in Neurobiology.* – 2011. – **93**. – P. 421–443.

19. Rajkowska G. Astrocyte pathology in major depressive disorder: insights from human postmortem

brain tissue / G. Rajkowska, C. A. Stockmeiera // Curr. Drug Targets. – 2013. – **14**, № 11. – P. 1225–1236.

20. Regulation of S100B in white adipose tissue obesity in mice / L. B. Buckman, E. K. Anderson-Baucum, A. H. Hasty [et al.] // Landes Bioscience. – 2014. – **3**. – P. 215–220.

21. S-100 (alpha and beta) binding peptide (TRTK-12) blocks S-100/GFAP interaction: identification of a putative S-100 target epitope within the head domain of GFAP / R. Bianchi, M. Garbuglia, M. Verzini [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 1996. – **1313**, № 3, Issue 11. – P. 258–267.

22. Sorci G. Association of S100B with intermediate filaments and microtubules in glial cells / G. Sorci,

A. L. Agneletti, R. Bianchi // Molecular Cell Research. – 1998. – **1448**, № 10, Issue 2. – P. 277–289.

23. Sorci G. S100B protein in tissue development, repair and regeneration / G. Sorci, F. Riuizi, C. Arcuri // World J. Biol. Chem. – 2013. – **4**, № 1. – P. 1–12.

24. The neuroprotective effect of 2-oxoglutarate in the experimental ischemia of hippocampus / T. N. Kovalenko, G. A. Ushakova, I. Osadchenko [et al.] // J. of Physiology and Pharmacology. – 2011. – **62**, № 2. – P. 239–246.

25. Tsoporis J. N. Intracellular and Extracellular Effects of S100B in the Cardiovascular Response to Disease / N. J. Tsoporis, F. Mohammadzadeh, T. G. Parker // Cardiovasc. Psychiatry Neurol. – 2010. – **10**. – P. 6073–6079.

Я. В. Бабець¹, Г. А. Ушакова¹, А. И. Шевцова²
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ О. ГОНЧАРА¹
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ²

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АСТРОЦИТОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА НА КРЫС

Резюме

Исследовано распределение кальцийсвязывающего белка S-100b и глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) в условиях токсического действия доксорубина. С помощью конкурентного иммуноферментного анализа выявлено повышение уровня S-100b и филаментной формы ГФКБ в структурно и функционально различных отделах головного мозга крыс при действии доксорубина в течение 4 недель. Полученные результаты показали, что доксорубин индуцирует развитие астроглиоза в гиппокампе животных в отличие от других исследуемых отделов мозга. Совместное применение доксорубина с антиоксидантами различной природы частично способствует предотвращению увеличения концентрации ГФКБ и S-100b в гиппокампе крыс. В периферической нервной системе сердечной ткани отмечено реципрокное изменение уровня S-100b и ГФКБ с высокой степенью корреляционной связи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: доксорубин, мозг, астроглия, глиальный фибриллярный кислый белок, S-100b.

Ya. V. Babets¹, G. O. Ushakova¹, A. I. Shevtsova²
OLES HONCHAR DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY¹
DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY²

DISTRIBUTION OF ASRTOCYTE AND SPECIFIC PROTEINS UNDER DOXORUBICIN EFFECT ON RATS

Summary

In this study we investigated the distribution of calcium-binding protein S-100b and glial fibrillar acidic protein (GFAP) under toxic effect of doxorubicin. The competitive ELISA method showed the increasing of S-100b and filament forms GFAP in structurally and functionally different parts of the rat brain under conditions of doxorubicin action during 4 weeks. These results suggest that doxorubicin induces astrogliosis development in the hippocampus of rats, in contrast to other brain areas. Concomitant administration of doxorubicin and different nature antioxidants were indicated partial protection at the increasing of GFAP and S-100b concentration in the hippocampus of rats. The peripheral nervous system of cardiac tissue was performed reciprocal changes in the S-100b and GFAP level with a high degree of correlation.

KEY WORDS: doxorubicin, brain, astroglia, glial fibrillary acidic protein, S-100b.

Отримано 22.12.14

Адреса для листування: Я. В. Бабець, Дніпропетровський національний університет імені О. Гончара, просп. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49005, Україна, e-mail: kristalxx@yandex.ua

АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У ТКАНИНІ ПЕЧІНКИ В ДИНАМІЦІ СКЕЛЕТНОЇ, ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ У ПЕРІОД РАННІХ ПРОЯВІВ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ

У досліджах на щурах-самцях з'ясовували роль антиоксидантно-прооксидантних порушень у патогенезі скелетної, черепно-мозкової травм та їх поєднання. Тварин було поділено на контрольну та три дослідних групи. У 1-й дослідній групі моделювали скелетну травму шляхом нанесення дозованого удару по кожному стегну спеціальним пристроєм із досягненням закритого перелому, в 2-й – закриту черепно-мозкову травму середнього ступеня тяжкості, у 3-й – ці травми поєднували. Через 1, 3 і 7 діб після нанесення травми за умов тіопентало-натрієвого знеболювання тварин виводили з експерименту методом тотального кровопускання із серця. У гомогенаті печінки щурів визначали вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ, активність каталази та розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс: каталаза/ТБК-активні продукти ПОЛ. Результати досліджень показали, що за умов модельованих травм у період ранніх проявів травматичної хвороби істотно збільшується вміст у тканині печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ, який досягає максимуму через 7 діб. При цьому суттєво знижується активність каталази в гомогенаті печінки. У результаті антиоксидантно-прооксидантний індекс зміщується в бік наростання прооксидантних механізмів. Звертає на себе увагу той факт, що виявлені порушення на тлі черепно-мозкової травми були подібними до аналогічних при поєднаній травмі й суттєво перевищували результати, отримані при самій скелетній травмі, що свідчить про велику роль пошкодження черепа і мозку в патогенезі поєднаного ураження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: скелетна травма, черепно-мозкова травма, метаболізм печінки.

ВСТУП. Травматизм належить до найскладніших медичних і соціальних проблем сучасності [9]. В осіб працездатного віку він став основною причиною смерті, випередивши серцево-судинні та онкологічні захворювання. У загальній структурі травм найчастіше виникають пошкодження кінцівок (85–90 %), черепа і хребта (50–72 %) [6].

При дії травмувального чинника значної сили виникають тяжкі множинні (в межах однієї анатомічної ділянки) та поєднані пошкодження (в різних анатомічних ділянках). За цих умов спостерігають порушення, зумовлені локалізацією пошкодження, а також викликані дисфункцією органів і систем, віддалених від місця травмування, які трактують як травматичну хворобу (ТХ) [11].

Одним із провідних механізмів системних проявів ТХ та розвитку органної дисфункції є інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4, 10], яка тісно пов'язана з рівнем системної відповіді організму на запалення [5].

© І. А. Михайлюк, В. М. Михайлюк, 2015.

В роботах окремих авторів показано порушення інтенсивності ПОЛ і антиоксидантного захисту в тканині нирки під впливом скелетної, черепно-мозкової (ЧМТ) травм та їх поєднання [11], однак у тканині печінки ці процеси вивчено недостатньо. Враховуючи значний функціональний взаємозв'язок цих органів детоксикації, можна припустити подібність системних механізмів ураження нирок і печінки, що вимагає спеціального дослідження.

Метою даної роботи було з'ясувати роль антиоксидантно-прооксидантних порушень у патогенезі скелетної, черепно-мозкової травм та їх поєднання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 90 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, які перебували на стандартному раціоні віварію. Тварин було поділено на чотири групи: контрольну (інтактні щури) та три дослідних. У 1-й дослідній групі моделювали скелетну травму шляхом нанесення дозованого удару по кожному стегну спеціаль-

ним пристроєм із досягненням закритого перелому [13], в 2-й – моделювали закриту ЧМТ середнього ступеня тяжкості за методикою, описаною в роботі [7], у 3-й – ці травми поєднували. Усі експерименти проводили за умов тіопентало-натрієвого знеболювання (40 мг·кг⁻¹ маси).

Через 1, 3 і 7 днів після нанесення травми за умов тіопентало-натрієвого знеболювання тварин виводили з експерименту методом тотального кровопускання із серця. У гомогенаті печінки визначали вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ [2], активність каталази [12] та розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ): каталаза/ТБК-активні продукти ПОЛ [3].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” з використанням критерію Манна–Уїтні в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці 1, за умов скелетної травми вміст у тканині печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ через 1 добу посттравматичного періоду, порівняно з контрольною групою, підвищувався на 26,0 %, через 3 доби – на 27,6 %, через 7 днів досягав максимального рівня – на 43,3 %. У всі ці терміни результат був статистично достовірним ($p < 0,05$). При ЧМТ результат виявився подібним – на 35,4, 37,4 і 53,1 % відповідно ($p < 0,05$). Найбільше зростання величини досліджуваного показника спостерігали після нанесення поєднаної краніоскелетної травми – на 38,6, 42,9 і 72,4 % відповідно ($p < 0,05$).

Порівнюючи дослідні групи між собою, з’ясували, що вміст ТБК-активних продуктів

ПОЛ у тканині печінки через 1 і 3 доби між дослідними групами практично не відрізнявся ($p_{1-2} > 0,05$; $p_{1-3} > 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$). Через 7 днів він суттєво переважав у групі тварин із поєднаною травмою: порівняно зі скелетною травмою – на 20,3 % ($p_{1-3} < 0,05$), ЧМТ – на 12,6 % ($p_{2-3} < 0,05$).

Аналізуючи динаміку досліджуваного показника, встановили, що за умов усіх експериментальних травм вміст у тканині печінки ТБК-активних продуктів ПОЛ інтенсивно зростав до 1-ї доби, до 3-ї – перебував на цьому ж рівні, проте до 7-ї повторно підвищувався, що було істотно більшим порівняно з попередніми термінами спостереження ($p < 0,05$).

Як видно з таблиці 2, активність каталази у тканині печінки під впливом модельованих травм істотно знижувалася порівняно з контрольною групою. Після нанесення скелетної травми через 1 добу показник ставав меншим на 27,2 %, через 3 доби – на 41,5 %, через 7 днів – на 32,5 % ($p < 0,05$); ЧМТ – на 30,6, 36,7 і 46,9 % відповідно ($p < 0,05$); поєднаної травми – на 33,4, 42,0 і 51,3 % відповідно ($p < 0,05$).

Порівнюючи дослідні групи між собою, з’ясували, що через 1 і 3 доби показник так само між дослідними групами практично не відрізнявся ($p_{1-2} > 0,05$; $p_{1-3} > 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$). Через 7 днів на тлі скелетної травми він виявився статистично достовірною більшим, ніж після нанесення черепно-мозкової і поєднаної травм (відповідно, на 27,1 %, $p_{1-2} < 0,05$ і 38,6 %, $p_{1-3} < 0,05$). Звертає на себе увагу той факт, що через 7 днів посттравматичного періоду активність каталази у тканині після моделювання черепно-мозкової і поєднаної травм була найнижчою і практично однаковою ($p > 0,05$).

Аналіз динаміки досліджуваного показника показав, що у групі тварин із скелетною травмою показник досягав мінімального рівня

Таблиця 1 – Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у тканині печінки (мкмоль·кг⁻¹) після нанесення скелетної і черепно-мозкової травм та їх поєднання ($M \pm m$)

Вид травми	Контроль	Тривалість посттравматичного періоду		
		1 доба	3 доби	7 днів
Скелетна	2,54±0,09 (n=6)	3,20±0,10* (n=8)	3,24±0,08* (n=10)	3,64±0,09* (n=10)
Черепно-мозкова		3,44±0,13* (n=8)	3,49±0,14* (n=10)	3,89±0,12* (n=9)
Поєднана		3,52±0,13* (n=8)	3,63±0,14* (n=9)	4,38±0,16* (n=8)
		p_{1-2}	p_{1-3}	p_{2-3}
		>0,05	>0,05	>0,05
		>0,05	>0,05	<0,05
		>0,05	>0,05	<0,05

Примітки. Тут і в таблицях 2 та 3:

- * – відмінності стосовно контрольної групи статистично достовірні ($p < 0,05$).
- p_{1-2} – достовірність відмінностей показника між групами тварин із скелетною та черепно-мозковою травмами; p_{1-3} – між скелетною та поєднаною травмами; p_{2-3} – між черепно-мозковою та поєднаною травмами.

Таблиця 2 – Активність каталази у тканині печінки (мккат·кг⁻¹) після нанесення скелетної і черепно-мозкової травм та їх поєднання (M±m)

Вид травми	Контроль	Тривалість посттравматичного періоду		
		1 доба	3 доби	7 діб
Скелетна	0,431±0,034 (n=6)	0,314±0,011* (n=8)	0,252±0,014* (n=10)	0,291±0,010* (n=10)
Черепно-мозкова		0,299±0,008* (n=8)	0,273±0,013* (n=10)	0,229±0,009* (n=9)
Поєднана		0,287±0,010* (n=8)	0,250±0,015* (n=9)	0,210±0,008* (n=8)
p ₁₋₂		>0,05	>0,05	<0,05
p ₁₋₃		>0,05	>0,05	<0,05
p ₂₋₃		>0,05	>0,05	>0,05

через 3 доби після нанесення травми, що виявилось статистично достовірно меншим, ніж через 1 добу (p<0,05). Через 7 діб він зростав і ставав суттєво більшим, ніж через 3 доби (p<0,05). За умов ЧМТ і поєднаної травми динаміка активності каталази у тканині печінки була подібною: показник поступово знижувався з 1-ї до 7-ї доби і ставав істотно меншим, ніж через 1 і 3 доби (p<0,05).

У свою чергу, величина АПІ (табл. 3) на тлі скелетної, черепно-мозкової травм та їх поєднання в усі терміни спостереження була істотно меншою, ніж у контрольній групі (p<0,05). Після нанесення самої скелетної травми показник досягав мінімального рівня через 3 доби (45,3 %) і залишався на такому ж до 7-ї доби, після моделювання ЧМТ він знижувався і досягав мінімального рівня через 7 діб (34,9 % стосовно контролю). Після нанесення поєднаної травми величина АПІ зменшувалась аналогічно до самої черепно-мозкової травми, проте з більшою амплітудою. Через 7 діб показник становив 27,9 % від рівня контролю (p<0,05).

Порівнюючи дослідні групи між собою, з'ясували, що через 1 добу показник виявився істотно меншим у групі тварин з поєднаною краніоскелетною травмою, ніж у щурів із самою скелетною травмою (на 16,2 %, p₁₋₃<0,05). При цьому між дослідними групами тварин з

ізолюваною травмою він був статистично не достовірним (p₁₋₂>0,05; p₂₋₃>0,05).

Через 3 доби посттравматичного періоду не відмічали істотних відмінностей між дослідними групами, в яких моделювали різні травми (p₁₋₂>0,05; p₁₋₃>0,05; p₂₋₃>0,05), проте через 7 діб величина АПІ зменшувалась від скелетної до черепно-мозкової і поєднаної травм. Відмінності між дослідними групами були статистично достовірними (p₁₋₂<0,05; p₁₋₃<0,05; p₂₋₃<0,05).

Отримані результати свідчать про те, що, незважаючи на походження травм, інтенсифікація процесів ліпопероксидації і виснаження антиоксидантного захисту в тканині печінки є провідними механізмами ТХ у її ранній період. Системна гіпоксія, яка виникає на основі травматичного шоку, є пусковим механізмом ініціації утворення активних форм кисню в органах шлунково-кишкового тракту [1]. Останні згубно діють на клітинні мембрани з розвитком цитолізу та загибеллю клітин, що, у свою чергу, ініціює синтез і вивільнення запальних медіаторів – про- і протизапальних цитокінів, які активують лейкоцити, макрофаги й ендотеліальні клітини. За таких умов для нейтралізації патогенного чинника знову виділяються активні форми кисню, які при надмірному утворенні зумовлюють значне ендотеліальне пошкодження з поглибленням порушення

Таблиця 3 – Динаміка величини АПІ в тканині печінки (ум. од.) після нанесення скелетної і черепно-мозкової травм та їх поєднання (M±m)

Вид травми	Контроль	Тривалість посттравматичного періоду		
		1 доба	3 доби	7 діб
Скелетна	0,172±0,017 (n=6)	0,099±0,004* (n=8)	0,078±0,003* (n=10)	0,080±0,002* (n=10)
Черепно-мозкова		0,088±0,005* (n=8)	0,079±0,005* (n=10)	0,060±0,004* (n=9)
Поєднана		0,083±0,005* (n=8)	0,070±0,006* (n=9)	0,048±0,001* (n=8)
p ₁₋₂		>0,05	>0,05	<0,05
p ₁₋₃		<0,05	>0,05	<0,05
p ₂₋₃		>0,05	>0,05	<0,05

функції органів і тканин [14, 15]. При цьому джерелом надходження активних форм кисню та інших ендотоксинів є пошкоджені м'які тканини і кістки кінцівок, а також тканини черепа та мозку. За глибиною порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу домінують черепно-мозкова і поєднана травми порівняно із самою скелетною. Можна припустити, що при ЧМТ відіграє роль також і порушення нейрогормональної регуляції, про що йдеться в роботі [8].

Таким чином, черепно-мозкова і поєднана травми в період ранніх проявів травматичної хвороби супроводжуються більшим переважанням прооксидантних механізмів у тканині печінки, особливо через 7 діб посттравматичного періоду, порівняно зі скелетною, що має вагоме значення в патогенезі порушення функції гепатоцитів і розвитку печінкової недостатності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян В. В. Шок – положительные и отрицательные аспекты при политравме / В. В. Агаджанян // Политравма. – 2007. – № 1. – С. 5–8.
2. 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.
3. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / А. П. Левицький, В. М. Почтар, О. А. Макаренко, Л. І. Гридіна // Одес. мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 22–25.
4. Борис Р. М. Особливості пероксидного окиснення ліпідів у період гострої реакції на поєднану краніо-скелетну травму / Р. М. Борис // Актуал. пробл. трансп. медицини. – 2013. – № 2 (32). – С. 149–153.
5. Генинг Т. П. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в системе “сыворотка крови – эритроцит” при острой циркуляторной гипоксии / Т. П. Генинг, Д. А. Ксейко // Усп. совр. естествознания. – 2004. – № 4. – С. 17–20.
6. Гуманенко Е. К. Достижения в лечении тяжелой сочетанной травмы за последние 20 лет / Е. К. Гуманенко, А. Б. Сингаевский // Скорая мед. помощь. – 2004. – 5, № 3. – С. 153–154.
7. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
8. Ельский В. Н. Нейрогормональные регуляторные механизмы при черепно-мозговой травме / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 240 с.

ВИСНОВКИ. 1. У період ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання скелетної і черепно-мозкової травм та їх поєднання суттєво зростає інтенсивність ліпідної пероксидації у тканині печінки на тлі виснаження антиоксидантного захисту, що проявляється істотним збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ, зниженням активності каталази та зміщенням величини АПІ в бік переважання прооксидантних механізмів.

2. Інтенсивність порушень зростає з 1-ї до 7-ї доби експерименту і більша на тлі черепно-мозкової та поєднаної травм порівняно із самою скелетною.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати спрямовані на поглиблене вивчення ефективності антиоксидантної терапії в корекції системних порушень за умов тяжкої травми.

9. Ельский В. Н. Патофизиология, диагностика и интенсивная терапия тяжелой черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, А. М. Кардаш, Г. А. Городник ; под ред. В. И. Черния. – Донецк : Новый мир, 2004. – 200 с.
10. Козак Д. В. Особливості показників пероксидного окиснення ліпідів в динаміці раннього і пізнього періодів політравми / Д. В. Козак // Актуал. пробл. трансп. медицини. – 2012. – № 3. – С. 103–106.
11. Мерлев Д. І. Особливості антиоксидантно-прооксидантного стану кіркового шару нерки в умовах скелетної, черепно-мозкової травм та їх поєднання / Д. І. Мерлев, А. А. Гудима // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2013. – № 2. – С. 140–142.
12. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
13. Придруга С. М. Порушення гуморальної ланки імунітету в період пізніх проявів політравми та його корекція тіотриазолоном / С. М. Придруга, Р. М. Борис // Буковин. мед. вісн. – 2013. – 17, № 1 (65). – С. 96–101.
14. Die Behandlung des hemorrhagischen Schocks / W. G. Voelckel, A. von Goedecke, D. Fries [et al.] // Der Anesthesist. – 2004. – 53. – P. 1151–1167.
15. Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock / R. P. Dellinger, J. M. Carlet, H. Masur [et al.] // Crit. Care Med. – 2004. – 32, № 3. – P. 858–873.

АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС В ТКАНИ ПЕЧЕНИ В ДИНАМИКЕ СКЕЛЕТНОЙ, ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМ И ИХ СОЧЕТАНИЯ В ПЕРИОД РАННИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Резюме

В опытах на крысах-самцах выясняли роль антиоксидантно-прооксидантных нарушений в патогенезе скелетной, черепно-мозговой травм и их сочетания. Животные были разделены на контрольную и три опытных группы. В 1-й опытной группе моделировали скелетную травму путем нанесения дозированного удара по каждому бедру специальным устройством с достижением закрытого перелома, во 2-й – закрытую черепно-мозговую травму средней степени тяжести, в 3-й – эти травмы совмещали. Через 1, 3 и 7 суток после нанесения травмы в условиях тиопентал-натриевого обезболивания животных выводили из эксперимента методом тотального кровопускания из сердца. В гомогенате печени крыс определяли содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ, активность каталазы и рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс: каталаза/ТБК-активные продукты ПОЛ. Результаты исследований показали, что в условиях моделируемых травм в период ранних проявлений травматической болезни существенно увеличивается содержание в ткани печени ТБК-активных продуктов ПОЛ, которое достигает максимума через 7 суток. При этом существенно снижается активность каталазы в гомогенате печени. В результате антиоксидантно-прооксидантный индекс смещается в сторону нарастания прооксидантных механизмов. Обращает на себя внимание тот факт, что выявленные нарушения на фоне черепно-мозговой травмы были подобны аналогичным при сочетанной травме и существенно превышали результаты, полученные при самой скелетной травме, что свидетельствует о большой роли повреждения черепа и мозга в патогенезе сочетанного поражения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: скелетная травма, черепно-мозговая травма, метаболизм печени.

I. A. Mykhaylyuk, V. M. Mykhaylyuk
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

ANTIOXIDANT-PROOXIDANT BALANCE IN THE LIVER TISSUE IN THE DYNAMICS OF A SKELETAL, CRANIAL-CEREBRAL TRAUMAS AND THEIR COMBINATION IN THE PERIOD OF EARLY SIGNS OF THE TRAUMATIC DISEASE

Summary

In experiments on male rats clarifying the role of antioxidant-prooxidant in the pathogenesis of skeletal disorders, traumatic brain injuries and their combinations. The animals were divided into 4 groups: control and three experimental. In the first experimental group we modeled a skeletal trauma by means of striking a dosed blow with obtaining a closed fracture of the both femurs, in the second one – we modeled a closed CCT of a medium type of complexity, in the third one – these traumas were combined. After 1, 3 and 7 days after striking the trauma in the conditions of Sodium-thiopental anesthesia, the animals were taken out the experiment by the method of a total phlebotomy of the heart. In liver homogenate were tested TBA-active products of lipid peroxidation, catalase activity and antioxidant-expected proksydantnyy Index (API), catalase / TBA-active products of lipid peroxidation. The researches showed that in the conditions of the modeled traumas in the period of the early signs of TD the contents of TBA-active products of the LPO is growing substantially and reaches maximum after 7 days. In these conditions the catalase activity in the liver homogenate lowers substantially. Consequently, API displaces towards the side of the prooxidant mechanisms accumulation. The fact that attracts attention is that discovered irregularities on the background of CCT were similar to the analogous ones in case of a combined trauma and exceeded substantially the results, obtained with the skeletal trauma itself which affirms about the significant contribution of the skull and brain injury into the pathogenesis of the combined wound.

KEY WORDS: skeletal trauma, traumatic and brain injury, liver metabolism.

Отримано 22.01.15

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

**АКТИВНІСТЬ АЛЬДЕГІДДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ЇЇ МОДУЛЯЦІЯ
В СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЯХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПУБЕРТАТНОГО ВІКУ
ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

Метою даного дослідження було вивчення особливостей модуляції активності альдегіддегідрогенази в субклітинних фракціях печінки щурів різного віку, які перебували в умовах тривалої іммобілізації. Встановлено, що формування іммобілізаційного стресу в дорослих статевозрілих тварин не супроводжується зміною альдегіддегідрогеназної активності в субклітинних фракціях печінки. У щурів пубертатного віку (1,5- і 2-місячних тварин) при стресі виникають зміни з боку альдегіддегідрогеназної активності в мітохондріальній і постмітохондріальній фракціях, у результаті чого формуються умови для зниження ролі окиснювального шляху в утилізації ендогенних альдегідів у гепатоцитах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: альдегіддегідрогеназа, іммобілізаційний стрес, печінка, пубертат.

ВСТУП. Відомо, що на етапі статевого дозрівання підвищується рівень захворюваності шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної, центральної нервової, ендокринної та інших систем організму [3, 4]. Зважаючи на важливу роль стресу в етіології цих захворювань, можна припустити, що однією з причин такого вікового феномена є зниження стійкості тканин внутрішніх органів до дії стресорів у пубертатному віці. На сьогодні в літературі накопичилися численні дані про те, що центральною неспецифічною ланкою стресорного пошкодження внутрішніх органів є стимуляція в них вільнорадикальних процесів [9]. У результаті цього в клітинах накопичуються цитотоксичні карбонільні продукти обміну, які відіграють роль своерідних месенджерів пошкодження [10]. Найбільш поширеними ендогенними карбонільними сполуками є альдегіди [2]. Захист клітин від альтерації ендогенними альдегідами забезпечується цілою групою ферментів [2, 8], до яких належать і альдегіддегідрогенази (К.Ф. 1.2.1.3 і 1.2.1.4) [6, 7]. Від їх активності та вмісту залежить стійкість клітин до вільнорадикального пошкодження [1]. Разом із тим, досі все ще відсутні чіткі уявлення про участь альдегіддегідрогеназ в антистресорному захисті, а також про їх значення у віковому зниженні чутливості внутрішніх органів до альтерації при стресі. Враховуючи це, метою даного дослідження було вивчити особливості модуляції

© Ю. В. Волкова, Л. Л. Сухова, В. В. Давидов, 2015.

альдегіддегідрогеназної активності в субклітинних фракціях печінки щурів різного віку за умов тривалої іммобілізації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Роботу виконано на 60 щурах-самцях лінії Вістар чотирьох вікових груп: 1-ша – 1,5-місячні (ранній пубертат); 2-га – 2-місячні (пізній пубертат); 3-тя – 3-місячні (рання статева зрілість); 4-та – 12-місячні (дорослі статевозрілі). Тварин кожної вікової групи поділили на дві підгрупи: I – інтактні; II – щури, які перебували в умовах іммобілізаційного стресу. Для відтворення іммобілізаційного стресу тварин прив'язували до нерухокої опори на 5 год щодня протягом 2 діб.

Евтаназію проводили безпосередньо після припинення іммобілізації шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Видаляли печінку і поміщали її в охолоджений ізотонічний розчин хлористого натрію. Тканину печінки відмивали від крові, подрібнювали ножицями і гомогенізували в скляному гомогенізаторі Поттера-Ельвегейма у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм) із розчином, що містив 0,25 М сахарози. Гомогенат фільтрували через 4 шари марлі й центрифугували 10 хв при 1000 g. Супернатант повторно центрифугували 20 хв при 10 000 g. Отриману надосадову рідину декантували і використовували як постмітохондріальну фракцію. Осад суспендували з 5 мл середовища виділення і повторно центрифугували протягом

20 хв при 10 000 г. Надосадову рідину видаляли, а утворений осад суспендували з 1,5 мл середовища виділення і використовували в роботі як мітохондріальну фракцію. Усі процедури фракціонування проводили при 4–6 °С.

У виділених субклітинних фракціях печінки визначали активність НАД-залежної альдегіддегідрогенази з використанням глутарового альдегіду як субстрату [5]. Концентрацію білка в пробах визначали методом Лоурі.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали з використанням непараметричного методу Wilcoxon–Mann–Whitney.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що альдегіддегідрогеназна активність у постмітохондріальній фракції печінки 1,5-, 2- і 12-місячних щурів істотно не відрізнялась (табл.). У 3-місячних тварин її величина була на 27 % нижчою порівняно з 12-місячними.

У мітохондріальній фракції печінки 3- і 12-місячних щурів альдегіддегідрогеназна активність мала однакову величину (табл.). При цьому в 1,5-місячних тварин вона була на 26 % нижчою, а у 2-місячних – на 127 % вищою, ніж у 12-місячних щурів.

Після іммобілізації у 3-місячних щурів збільшувалась на 40 % альдегіддегідрогеназна активність у постмітохондріальній фракції печінки порівняно з її вихідним рівнем. У тварин інших вікових груп іммобілізаційний стрес не супроводжувався зміною величини цього показника.

У мітохондріях печінки альдегіддегідрогеназна активність за умов стресу змінювалась лише у 2-місячних щурів. Після тривалої іммобілізації у них спостерігали її зниження на 41 % порівняно з активністю в інтактних тварин даної вікової групи.

Отримані результати вказують на те, що альдегіддегідрогеназна активність у постмітохондріальній фракції печінки щурів пубертатного віку не відрізнялась від активності в дорослих статевозрілих тварин. Причому величина ферментативної активності в них залишалась незмінною навіть після тривалої іммобілізації. Даний факт може свідчити про те, що в цитозолі гепатоцитів щурів пубертатного віку існували умови для ефективної утилізації карбонільних продуктів вільнорадикального окиснення навіть за підвищення швидкості їх утворення при іммобілізаційному стресі.

На відміну від ферментів постмітохондріальної фракції, активність мітохондріальних альдегіддегідрогеназ печінки змінювалась з віком щурів. Базальний рівень альдегіддегідрогеназної активності в мітохондріальній фракції 1,5-місячних тварин був нижчим, ніж у 2- та 12-місячних. За умов стресу величина активності ензиму в 2-місячних щурів стала меншою відносно початкового рівня, а у 1,5-місячних – залишалась на такому ж рівні, як в інтактних тварин даної вікової групи. При цьому в 2-місячних щурів зростала частка немітохондріальних ферментів в альдегіддегідрогеназній активності клітин печінки.

Всебічна оцінка отриманих результатів дозволяє висловити припущення про те, що у щурів пубертатного віку виникають передумови для обмеження катаболізму цитотоксичних продуктів вільнорадикального окиснення в мітохондріях печінки за умов підвищення швидкості їх утворення при стресі. У ранньому пубертатному віці це зумовлено низьким рівнем базальної ферментативної активності в мітохондріях, а у віці пізнього пубертату – її стресорним зменшенням.

Резюмуючи вищевикладене, можна зробити висновок про те, що формування іммобілізаційного стресу в дорослих статевозрілих тварин не супроводжувалось модуляцією альдегіддегідрогеназної активності в субклітинних фракціях печінки. Водночас у щурів, які перебували на етапі статевого дозрівання, виникали певні метаболічні передумови для

татного віку не відрізнялась від активності в дорослих статевозрілих тварин. Причому величина ферментативної активності в них залишалась незмінною навіть після тривалої іммобілізації. Даний факт може свідчити про те, що в цитозолі гепатоцитів щурів пубертатного віку існували умови для ефективної утилізації карбонільних продуктів вільнорадикального окиснення навіть за підвищення швидкості їх утворення при іммобілізаційному стресі.

Таблиця – Альдегіддегідрогеназна активність у субклітинних фракціях печінки щурів (нмоль НАДН/мг білка·хв)

Підгрупа тварин	Вікова група тварин (міс.)			
	1,5	2,0	3,0	12,0
Постмітохондріальна фракція				
Інтактні	11,5±0,6	9,5±0,9	9,1±0,5*	12,4±0,7
Стресовані	12,2±0,8	12,2±1,4	12,8±1,0**	10,7±0,1
Мітохондріальна фракція				
Інтактні	2,1±0,2*	7,5±0,7*	4,4±0,5	3,3±0,2
Стресовані	2,1±0,3	4,4±0,7**	6,5±0,5	2,8±0,1

Примітки. За результатами досліджень на 5–8 тваринах:

- * – $p < 0,05$ відносно показників 12-місячних тварин.
- ** – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин.

зниження ролі альдегіддегідрогеназного шляху в утилізації карбонільних продуктів вільнорадикального окиснення в мітохондріях і цитозолі гепатоцитів. Виявлені зміни роблять певний внесок у підвищення чутливості печінки до дії пошкоджувальних факторів стресу в пубертатному віці [1]. Причиною виникнення такого феномена можуть бути вікові зміни в структурі ізоферментного спектра альдегіддегідрогеназ у гепатоцитах. У свою чергу, модуляція синтезу певних ізоферментів може бути зумовлена зміною рівня гормональної секреції на етапі статевого дозрівання. Однак дане припущення вимагає спеціальної перевірки. Цьому будуть присвячені наші подальші дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Давыдов В. В. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза / В. В. Давыдов, А. И. Божков // Журн. НАМН Украины. – 2014. – **20**, № 1. – С. 25–34.
2. Давыдов В. В. Физиологическая и патологическая роль эндогенных альдегидов / В. В. Давыдов, А. И. Божков, О. К. Кульчицкий. – Saarbrücken : Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
3. Коренев М. М. Клініко-гемодинамічні показники формування церебральних порушень у підлітків з первинною артеріальною гіпертензією / М. М. Коренев, О. М. Носова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2002. – № 2. – С. 15–18.
4. Коренев Н. М. Артериальная гипертензия у подростков / Н. М. Коренев // Прогнозування та профілактика артеріальної гіпертензії в дитячому та підлітковому віці : збірник доповідей симпозиуму. – Харків, 2001. – С. 3–7.
5. Пирожков С. В. Роль альдегиддегідрогеназ в метаболизме малонового диальдегида в печени

ВИСНОВКИ. 1. Альдегіддегідрогеназна активність у постмітохондріальній фракції печінки щурів пубертатного віку аналогічна до активності в дорослих статевозрілих тварин. В мітохондріальній фракції печінки 1,5-місячних тварин її значення нижче, а у 2-місячних – вище, ніж у 12-місячних щурів.

2. Альдегіддегідрогеназна активність у постмітохондріальній фракції печінки щурів пубертатного віку за умов тривалої іммобілізації не змінюється. В мітохондріальній фракції печінки 2-місячних іммобілізованих тварин вона істотно знижується, а в 1,5-місячних – залишається на вихідному рівні.

3. На етапі статевого дозрівання в гепатоцитах щурів виникають умови для зниження ролі окиснювального шляху в утилізації ендогенних альдегідів.

крыс / С. В. Пирожков, Л. Ф. Панченко // Биохимия. – 1988. – **53**, № 9. – С. 1443–1448.

6. Aldehyde dehydrogenases and cell proliferation / G. Muzio, M. Maggiora, E. Paiuzzi [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2012. – **52**, № 3. – P. 735–746.

7. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress / S. Singh, C. Brocker, V. Koppaka [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – **56**. – P. 89–101.

8. Fritz S. F. An overview of chemistry and biology of reactive aldehydes / S. F. Fritz, D. R. Petersen // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – **59**, № 2. – P. 85–91.

9. Nayanatara A. K. The effect of repeated swimming stress on organ weights and lipid peroxidation in rats / A. K. Nayanatara, H. S. Nagaraja, B. K. Anupama // Thai J. Physiol. Sci. – 2005. – **18**, № 1. – P. 3–9.

10. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease / K. Uchida // Free Radical. Biol. Med. – 2000. – **28**, № 12. – P. 1685–1696.

Ю. В. Волкова, Л. Л. Сухова, В. В. Давыдов
ИНСТИТУТ ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ НАМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

АКТИВНОСТЬ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЕЕ МОДУЛЯЦИЯ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Резюме

Целью данного исследования явилось изучение особенностей модуляции активности альдегиддегидрогеназы в субклеточных фракциях печени крыс разного возраста, подвергнутых

продолжительной иммобилизации. Установлено, что формирование иммобилизационного стресса у взрослых половозрелых животных не сопровождается изменением альдегиддегидрогеназной активности в субклеточных фракциях печени. У крыс пубертатного возраста (1,5- и 2-месячных животных) при стрессе возникают изменения со стороны альдегиддегидрогеназной активности в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях, в результате чего формируются условия для снижения роли окислительного пути в утилизации эндогенных альдегидов в гепатоцитах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **альдегиддегидрогеназа, иммобилизационный стресс, печень, пубертат.**

Yu. V. Volkova, L. L. Sukhova, V. V. Davydov

INSTITUTE OF CHILDREN AND ADOLESCENT HEALTH CARE OF NAMS OF UKRAINE, KHARKIV

ALDEHYDE DEHYDROGENASE ACTIVITY AND ITS MODULATION IN LIVER SUBCELLULAR FRACTIONS OF RATS OF PUBERTAL AGE UNDER CONDITIONS OF IMMOBILIZATION STRESS

Summary

The purpose of the present work was to study aldehyde dehydrogenase activity and its modulation in liver subcellular fractions of rats at pubertal age under conditions of immobilization stress. It has been shown that immobilization was accompanied by a change in mitochondrial fraction of liver. In 1.5- month-old rats the enzyme activity was lower than its value in 12- month-old rats, but the activity in 2- month-old rats was higher than the activity in 12- month-old rats. The enzyme activity in liver postmitochondrial fraction of rats at pubertal age was the same as the activity in adult rats. A decrease in aldehyde dehydrogenase activity was accompanied by an increased susceptibility of liver to oxidative stress factors in pubertal age.

KEY WORDS: **aldehyde dehydrogenase, immobilization stress, liver, puberty.**

Отримано 10.10.14

Адреса для листування: В. В. Давидов, просп. 50-річчя ВЛКСМ, 52 А, Харків, 61153, Україна, e-mail: vaddavydov@mail.ru.

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ СИНДРОМУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ КРОВІ ТА ВОДЯНИСТОЇ ВОЛОГИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ

Досліджено вплив непроникної механічної травми рогівки на показники синдрому ендогенної інтоксикації крові та водянистої вологи передньої камери ока у кролів. Встановлено зростання рівня ендогенної інтоксикації, на що вказують підвищення проникності еритроцитарних мембран та збільшення вмісту молекул середньої маси. При зіставленні динаміки змін показників ендогенної інтоксикації виявлено їх синхронний розвиток на системному і локальному рівнях з переважанням на локальному.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: непроникна механічна травма рогівки, ендогенна інтоксикація, кров, водяниста волога.

ВСТУП. Захворювання рогівки в загальній структурі очної патології становлять близько 35 %, займають п'яте місце після травм, патології очного дна, міопії та глаукоми і є соціально значимою проблемою, оскільки уражають в основному працездатне населення. Зумовлено це тим, що рогівка, поряд з оптичними функціями, виконує і бар'єрну, захищаючи внутрішні структури ока від зовнішнього впливу, й, таким чином, перебуває в несприятливих умовах. Етіопатогенетичні фактори, що призводять до порушення цілісності та прозорості рогівки, дуже різноманітні. До них належать запальні захворювання, дистрофії рогівки, травматичні пошкодження органа зору. Порушення цілісності структури рогівки внаслідок її захворювань і травм зумовлюють різні ускладнення: приєднання вторинної інфекції, виражену васкуляризацію, грубе помутніння, що погіршує функції ураженого ока [6, 11].

Як наслідок травми органа зору серед різних офтальмологічних захворювань залишаються однією з основних причин інвалідності. Так, згідно з дослідженнями Т. А. Аліфанової та співавт., головними інвалідизуючими формами офтальмопатології у 2006 р. в Україні були наслідки травм ока та орбіти – 27,0 %, глаукома – 17,0 %, захворювання очного дна – 16,3 %, міопія – 12,3 %, атрофія зорового нерва – 6,6 % та уроджені вади розвитку – 5,1 % [2]. Через

© М. В. Турчин, 2015.

особливість анатомічного розташування ока в орбіті в результаті травми у 70,85 % випадків пошкоджується передній відділ ока [14].

Непроникні поранення рогівки (близько 16 % стаціонарних хворих) [14] супроводжуються важкими запальними ускладненнями.

Наші попередні дослідження встановили порушення балансу між вільнорадикальним окисненням та функціонуванням системи антиоксидного захисту за умови експериментальної механічної непроникної травми рогівки як на локальному, так і на системному рівнях. Є дані [7], що активація процесів пероксидного окиснення ліпідів – важливий патофізіологічний механізм розвитку ендогенної інтоксикації. Надмірна ліпопероксидація супроводжується накопиченням продуктів пероксидного окиснення та виснаженням резервів антиоксидних систем. Продукти пероксидного окиснення ліпідів пошкоджують мембрани клітин та внутрішньоклітинні органели, що супроводжується деструктивними змінами тканин, гіперферментією та накопиченням токсичних речовин. Взаємодіючи з киснем, NO, який також належить до нестабільних продуктів вільнорадикального окиснення, утворює надзвичайно потужний окиснювач – пероксинітрит, токсичність якого набагато вища, ніж NO. Очевидно, нітроген (II) оксид у високій концентрації стає фактором ендогенної інтоксикації, що відіграє важливу роль у перебігу критичних станів [13, 15].

Синдром ендогенної інтоксикації (CEI) характеризується метаболічними, морфологічними, функціональними порушеннями різних органів та систем і виникає у відповідь на дію різноманітних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища, внаслідок накопичення в тканинах і біологічних рідинах токсичних субстанцій – надлишку продуктів нормального й порушеного обміну речовин або клітинної відповіді [9]. В іноземній літературі широко розповсюджена концепція CEI як процесу в рамках синдрому системної (генералізованої) запальної відповіді (systemic inflammatory response syndrome – SIRS) [16, 17].

Особливу увагу серед критеріїв ендотоксикозу приділяють молекулам середньої маси (MCM). Ряд авторів вважає, що MCM – це одна з найчутливіших ознак ендогенної інтоксикації [9].

Синдром ендогенної інтоксикації не лише супроводжує більшість захворювань, але і сам по собі є важливим фактором їх патогенезу та в багатьох випадках визначає можливі несприятливі наслідки.

Тому метою даного дослідження було дослідити динаміку показників синдрому ендогенної інтоксикації у кролів за умови механічної непроникної травми рогівки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 50 статевозрілих кролях породи “Шиншила” (масою 2,5–3 кг) з дотриманням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [18], а також відповідно до Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [4]. Кролі отримували повноцінне збалансоване харчування і перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”.

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали на обох очах тварини під місцевою епібульбарною 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.

Тварин поділили на п'ять груп: контрольна – інтактні тварини (10 кролів); 1-ша дослідна

група – термін спостереження через 3 доби після нанесення травми (10 кролів); 2-га дослідна група – через 7 днів (10 кролів); 3-тя дослідна група – через 14 днів (10 кролів); 4-та дослідна група – через 21 день (10 кролів).

За умов тіопентало-натрієвого знеболювання (25 мг/кг) у кролів із крайової вени вуха забирали кров, після чого тварин виводили з експерименту методом повітряної емболії.

Водянисту вологу (humor aquosus) очного яблука отримували за асептичних умов шляхом проколу лімбальної частини рогівки стерильною голкою, приєднаною до інсулінового шприца, в кількості 0,25–0,3 мл з одного ока [19].

Вміст MCM визначали згідно з методикою [10].

Еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) визначали в цільній крові за методикою, в основі якої лежить уявлення про еритроцити як універсальний адсорбент, що дозволяє оцінити рівень EII за зміною сорбційної здатності еритроцитів полярного, практично не проникного через їх мембрану метиленового синього [12].

Дослідженню підлягали сироватка крові, водяниста волога передньої камери ока.

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність розбіжностей між досліджуваними показниками визначали за допомогою двовибіркового критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На 3-тю добу експерименту вміст MCM₁ у сироватці крові збільшився на 54,6 % (p<0,05) відносно тварин контрольної групи (табл.). На 7-му добу спостереження даний показник достовірно зменшився на 20 % порівняно з 3-ю добою, а на 14-й день зафіксовано виражене зростання вмісту MCM₁ на 59,9 % (p<0,05) порівняно з кролями 2-ї дослідної групи. Рівень контрольних тварин вміст MCM₁ при цьому перевищував на 97,7 % (p<0,05). На 21-шу добу експерименту вміст MCM₁ дещо знизився і становив (767,19±12,97) ум. од., що на 8,1 % (p<0,05) менше порівняно з 3-ю дослідною групою та на 81,7 % (p<0,05) більше відносно кролів контрольної групи.

Таку ж динаміку змін цього показника виявлено у водянистій волозі передньої камери ока: на 3-тю добу експерименту вміст MCM₁ зріс на 64,6 % (p<0,05) відносно кролів контрольної групи, на 14-й день спостереження –

Таблиця – Показники синдрому ендогенної інтоксикації кролів за умови механічної непроникної травми рогівки (M±m)

Показник	Група				
	контрольна (n=10)	1-ша дослідна (n=10)	2-га дослідна (n=10)	3-тя дослідна (n=10)	4-та дослідна (n=10)
Сироватка крові					
MCM ₁ , ум. од.	422,18±7,39	652,53±12,10 p ₁ <0,05	521,92±10,02 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	834,75±11,04 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	767,19±12,97 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
MCM ₂ , ум. од.	218,23±4,94	356,21±8,38 p ₁ <0,05	299,80±7,08 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	504,87±9,43 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	458,61±8,36 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
Цільна кров					
Еп, %	32,35 ±1,03	46,09±1,44 p ₁ <0,05	40,94±1,30 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	60,31±2,37 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	55,62±1,46 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
Водяниста волога					
MCM ₁ , ум. од.	120,62±3,48	198,50±5,95 p ₁ <0,05	170,37±5,73 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	294,50±6,16 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	276,53±6,64 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
MCM ₂ , ум. од.	64,84±2,29	117,26±4,15 p ₁ <0,05	105,28±3,16 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	188,46±5,91 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	168,48±5,04 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05

Примітка. p₁ – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; p₂ – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами (2-га група з 1-ю, 3-тя – з 2-ю, 4-та – з 3-ю).

достовірно збільшився на 72,8 % порівняно з попереднім терміном спостереження, на 21-шу добу експерименту – становив (276,53±6,64) ум. од., що на 6,1 % (p<0,05) менше порівняно з 3-ю дослідною групою та у 2,3 раза (p<0,05) більше відносно тварин контрольної групи.

При проведенні порівняльного аналізу вираження ендогенної інтоксикації в крові та водянистій волозі за умови експериментальної непроникної механічної травми рогівки (рис.) було зафіксовано інтенсивніше зростання MCM у водянистій волозі.

Як видно з таблиці, вміст MCM₂ у сироватці крові та водянистій волозі передньої камери ока кролів у посттравматичний період змінювався аналогічно до вмісту MCM₁, проте більш виражено.

На 3-тю добу експерименту вміст MCM₂ у сироватці крові підвищився на 63,2 % (p<0,05) відносно тварин контрольної групи. На 7-му добу спостереження даний показник достовірно зменшився на 15,8 % порівняно з 3-ю добою, а на 14-й день зафіксовано виражене збільшення вмісту MCM₂ на 68,4 % (p<0,05) порівняно з кролями 2-ї дослідної групи. Рівень контрольних тварин вміст MCM₂ при цьому перевищував у 2,3 раза (p<0,05). На 21-шу добу експерименту вміст MCM₂ дещо знизився і становив (458,61±8,36) ум. од., що на 9,2 % (p<0,05) менше порівняно з 3-ю дослідною групою та у 2,1 раза (p<0,05) більше відносно кролів контрольної групи.

У водянистій волозі передньої камери ока на 3-тю добу експерименту вміст MCM₂ зріс на 80,8 % (p<0,05) відносно кролів контрольної групи, на 14-й день спостереження – достовірно збільшився на 79 % порівняно з попереднім терміном спостереження, на 21-шу добу експерименту – становив (168,48±5,04) ум. од., що на 10,6 % (p<0,05) менше порівняно з 3-ю дослідною групою та у 2,6 раза (p<0,05) більше відносно тварин контрольної групи.

Таким чином, моделювання непроникної механічної травми рогівки призводило до статистично вірогідного зростання ендогенної інтоксикації, що проявлялось збільшенням вмісту MCM у сироватці крові та водянистій волозі. Токсичний ефект середньомолекулярних пептидів зумовлений їх здатністю змінювати проникність клітинних мембран, транспорт іонів через мембрани, пригнічувати процеси біосинтезу білка, активність ряду ферментів, роз'єднувати процеси окиснення і фосфорилування. Крім того, MCM порушують механізми регуляції синтезу аденілових нуклеотидів, змінюють еритропоез, фагоцитоз, мікроциркуляцію, лімфодинаміку, викликають стан вторинної імунодепресії. Відомо, що MCM здатні з'єднуватися і блокувати рецептори будь-якої клітини, неадекватно впливаючи на її метаболізм і функції [5].

Збільшення вмісту MCM, очевидно, свідчить про посилення деструктивних процесів, а також про пригнічення детоксуючої функції організму, що може призвести до порушення

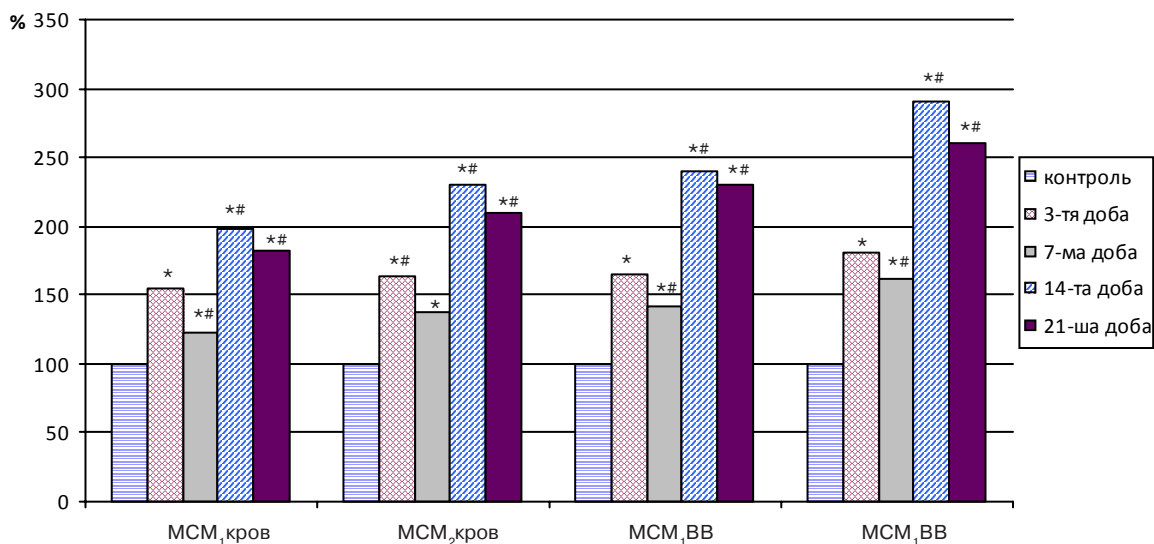


Рис. Динаміка змін показників ендогенної інтоксикації у крові та водянистій волозі за умови експериментальної непроникної механічної травми рогівки (* – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою; # – вірогідність відмінностей показників між дослідними групами; BB – водяниста волога).

знешкодження ендогенних токсинів і нагромадження внаслідок цього проміжних продуктів метаболізму. Пошкодження органа зору завжди є серйозними щодо ускладнень і прогнозу [3]. Тяжкість посттравматичного періоду зумовлена прогресуючими деструктивними процесами, що розвиваються в біологічних структурах переднього відділу ока. Деструктивним змінам першочергово підлягає сама рогівка, порушуються її архітектоніка й усі види метаболізму. Водночас ці зміни супроводжуються розладами кровообігу органа зору та розладами мікроциркуляторного русла, що, у свою чергу, спричиняє гіпоксію уражених тканин. Гіпоксія надалі поглиблює метаболічні порушення. У кінцевому підсумку процес набуває каскадного характеру, формується “хибне коло”.

Накопичення токсичних продуктів призводить до розвитку запальної реакції, яка неодноразово рецидивує, різкого гальмування регенераторних процесів, утворення грубих рубцевих помутнень і втрати зору [1].

Ще одним важливим і достовірним показником синдрому ендогенної інтоксикації є EII. На 3-тю добу експерименту EII у крові зріс на 42,5 % ($p < 0,05$) відносно тварин контрольної групи (табл.). На 7-му добу спостереження даний показник достовірно зменшився на 11,2 %, а на 14-й день зафіксовано виражене збільшення EII на 47,3 % ($p < 0,05$) порівняно з кролями 2-ї дослідної групи. Рівень контрольних тварин еритроцитарний індекс інтоксикації при цьому перевищував на 86,4 % ($p < 0,05$). На 21-шу добу експерименту EII дещо знизився і становив ($55,62 \pm 1,46$) %, що на 7,8 % ($p > 0,05$) менше порівняно з 3-ю дослідною групою та

на 71,9 % ($p < 0,05$) більше відносно кролів контрольної групи.

Отже, одночасно з нагромадженням середньомолекулярних пептидів у крові кролів наростає їх сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів. Враховуючи те, що еритроцитарні мембрани розглядають як прототип плазматичних мембран усіх клітин організму [8], то збільшення їх проникності (зростання EII) дає підставу відзначити виражені порушення структури і функції клітинних мембран. Розвиток мембранодеструктивних процесів, у свою чергу, підвищує надходження у кровотік токсичних речовин.

ВИСНОВКИ. 1. У кролів зі змодельованою непроникною механічною травмою рогівки встановлено зростання рівня ендогенної інтоксикації, на що вказують підвищення проникності еритроцитарних мембран та збільшення вмісту молекул середньої маси.

2. При зіставленні динаміки змін показників ендогенної інтоксикації виявлено їх синхронний розвиток на системному (кров) і локальному рівнях (водяниста волога передньої камери ока) з переважанням на локальному, що пов'язано з безпосереднім пошкодженням, деструктивними змінами, розвитком запалення, гіпоксією та активацією пероксидного окиснення ліпідів.

Перспективи подальших досліджень. У майбутньому дослідження будуть продовжені шляхом вивчення показників ендогенної інтоксикації в різні періоди експериментальної непроникної механічної травми рогівки за умови застосування коригувальних факторів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бездітко Н. В. Експериментальне дослідження впливу аміноцукру глюкозаміну на перебіг хімічних опіків рогівки / Н. В. Бездітко // Клініч. фармація. – 2001. – **5**, № 1. – С. 68–72.
2. Епідеміологічні аспекти інвалідності внаслідок патології органа зору в Україні / Т. А. Аліфанова, І. С. Аліфанов, Я. О. Зосімова, Ю. Ю. Гладченко // Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб : матеріали Міжнар. наук. конф., присвяченої 100-річчю з дня народження академіка Н. О. Пучківської, Одеса, 29–30 трав. 2008 р. – Одеса, 2008. – С. 6.
3. Клініко-імунологічні особливості виникнення проліферативної вітреоретинопатії при травмах очного яблука в ранньому післятравматичному періоді / П. А. Бездітко, Л. І. Левченко, Л. Ю. Борисова, В. П. Дейнихівський // Офтальмол. журн. – 2012. – № 6. – С. 34–38.
4. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін. – К., 2002. – 155 с.
5. Никольская В. А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / В. А. Никольская, Ю. Д. Данильченко, З. Н. Меметова // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия". – 2013. – **26** (65), № 1. – С. 139–145.
6. Особенности регенерации роговицы при применении биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты / В. Н. Канюков, А. А. Стадников, О. М. Трубина, О. М. Яхина // Вестник ОГУ. – 2012. – № 12 (148). – С. 76–79.
7. Паенок О. С. Процеси пероксидного окиснення ліпідів і рівень ендогенної інтоксикації у вагітних із тиреопатіями / О. С. Паенок, М. О. Костів // Експерим. та клініч. фізіол. та біохім. – 2012. – № 1. – С. 97–101.
8. Пацкань Л. О. Стан ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого застосування нітритів / Л. О. Пацкань, І. М. Кліщ // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – **2** (95), вип. 3. – С. 96–99.
9. Радченко О. М. Синдром ендогенної інтоксикації в клініці внутрішніх хвороб (огляд літератури та власні спостереження) / О. М. Радченко, М. О. Кондратюк // Мед. гідрологія та реабілітація. – 2009. – **7**, № 3. – С. 25–32.
10. Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах / Р. И. Лифшиц, Б. М. Вальдман, И. А. Волчегорский, А. С. Лужевский // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1986. – **101**, № 3. – С. 280–282.
11. Смаль Т. М. Ефективність трансплантації амніотичної оболонки при неінфекційних виразках рогівки : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / Т. М. Смаль ; Держ. установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України". – Одеса, 2008. – 20 с.
12. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
13. Сухомлин Т. А. Патогенетичні механізми ушкодження легень при опіковій хворобі / Т. А. Сухомлин, Л. Г. Нетюхайло // Світ медицини та біології. – 2011. – **7**, № 2. – С. 184–188.
14. Хадикіна Т. О. Соціальні основи зниження очного травматизму / Т. О. Хадикіна // Мед. перспективи. – 2004. – **9**, № 3. – С. 141–145.
15. Шевага В. М. Оксид азоту, перекисне окиснення ліпідів і вміст пептидів середньої молекулярної маси в гострому і проміжному періодах легкої черепно-мозкової травми / В. М. Шевага, Б. В. Задорожна, А. В. Паенок // Укр. нейрохір. журн. – 2004. – № 4. – С. 30–37.
16. Шмойлов Д. К. Патогенетическая роль эндогенной интоксикации / Д. К. Шмойлов, И. З. Каримов, Т. Н. Одинец // Лаб. диагностика. – 2012. – № 2. – С. 65–69.
17. Bone R. S. Sepsis, sepsis syndrome and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) / R. S. Bone // JAMA. – 1995. – № 2 (273). – P. 155–156.
18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
19. Proteomics of the aqueous humor in healthy New Zealand rabbits / M. Stastna, A. Behrens, G. Noguera [et al.] // Proteomics. – 2007. – **7** (23). – P. 4358–4375.

Н. В. Турчин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИНДРОМА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КРОВИ И ВОДЯНИСТОЙ ВЛАГИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ТРАВМЕ РОГОВИЦЫ

Резюме

Исследовано влияние непроникающей механической травмы роговицы на показатели синдрома эндогенной интоксикации крови и водянистой влаги передней камеры глаза у кроликов. Установлено

повышение уровня эндогенной интоксикации, на что указывают возрастание проницаемости эритроцитарных мембран и увеличение содержания молекул средней массы. При сопоставлении динамики изменений показателей эндогенной интоксикации выявлено их синхронное развитие на системном и локальном уровнях с преобладанием на локальном.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: непроникающая механическая травма роговицы, эндогенная интоксикация, кровь, водянистая влага.

M. V. Turchyn

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMIC PARAMETERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION OF BLOOD AND AQUEOUS HUMOR IN CASE OF EXPERIMENTAL CORNEAL MECHANICAL NONPENETRATIVE INJURY

Summary

The influence of corneal mechanical nonpenetrative injury on indices of endogenous intoxication of blood and aqueous humor in rabbits were studied. It was determined the increase in the level of endogenous intoxication, as was indicated by increased permeability of the erythrocytes' membranes and increased content of middle mass molecules. Comparing the dynamics of endogenous intoxication indices changes, it was determined their simultaneous development both on systemic and local levels, with a predominance of the local.

KEY WORDS: corneal mechanical nonpenetrative injury, endogenous intoxication, blood, aqueous humor.

Отримано 21.01.15

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

ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ТВАРИН З МОДЕЛЬОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

У тварин груп дослідження з модельованим пародонтитом при експериментально викликаних ураженнях шлунково-кишкового тракту досліджували вміст у сироватці крові білка, малонового діальдегіду, каталази; визначали загальну протеолітичну активність та антиоксидантно-прооксидантний індекс. Встановлено, що у групах експериментальних щурів підвищуються вміст білка, малонового діальдегіду й активність протеаз при зниженні активності каталази та антиоксидантно-прооксидантного індексу, причому дана тенденція більш виражена у тварин з модельованим пародонтитом на тлі експериментальних уражень шлунково-кишкового тракту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, шлунково-кишковий тракт, білок, загальна протеолітична активність, каталаза, малоновий діальдегід.

ВСТУП. Стан і взаємодія основних регуляторних систем визначають гомеостаз організму і його резистентність на будь-який патогенний вплив, а багатофакторна модель виникнення причин хвороб констатує, що всі хвороби – результат складної взаємодії біологічних, психічних, соціальних та інших факторів [2, 4, 5]. Необхідно враховувати той факт, що всі системні захворювання, якими, зокрема, є захворювання шлунково-кишкового тракту, змінюючи реактивність організму тією чи іншою мірою, сприяють виникненню та прогресуванню стоматологічної патології – карієсу і запальних захворювань пародонта [1, 2, 5].

Ступінь запально-деструктивних процесів у пародонті корелює з активністю запалення в шлунково-кишковому тракті, що може бути єдиним процесом запального генезу, який реалізується з участю дифузної нейроендокринної системи травного тракту, з одного боку, а з іншого – через процеси проліферації та апоптозу епітеліоцитів [3, 7].

Ряд авторів розглядає порожнину рота як своєрідну екологічну систему, в якій різні чинники (загальні й місцеві), спільно взаємодіючи, викликають різноманітні патологічні процеси. Зміни в порожнині рота відображають закономірності патогенезу системної патології і зумовлені етіологічною, морфологічною та функціональною інтеграцією всіх систем орга-

нізму [1, 3, 5]. З цієї причини проблема діагностики та лікування патології органів порожнини рота виходить за межі стоматології, а знання особливостей проявів захворювань внутрішніх органів у порожнині рота важливе для лікаря-стоматолога з метою діагностики та розробки комплексних підходів при лікуванні даної патології.

Метою дослідження було вивчити біохімічні показники сироватки крові у тварин з модельованим пародонтитом на тлі експериментальних уражень шлунково-кишкового тракту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для експериментальних досліджень використовували білих щурів лінії Вістар з урахуванням однотипних умов утримування для всіх груп тварин, залежно від мети дослідження, з експериментальним раціоном харчування, який зумовлював розвиток пародонтиту в тканинах пародонта. Експериментальний пародонтит у щурів моделювали шляхом переведення їх на переокиснену модель пародонтиту з додаванням до звичайного раціону харчування переокисненої соняшникової олії в дозі 1 мл на тварину [1].

Експериментальні запальні явища у шлунково-кишковому тракті відтворювали шляхом “імобілізаційного стресу”. Тварин протягом 10 діб щоденно фіксували на спині впродовж 6 год на спеціальному станку, фіксуючи кінцівки м’якими джгутами [3]. При проведенні експери-

ментальних досліджень використовували 100 щурів 5–6-місячного віку масою 150–170 г. Перед введенням щурів у експеримент їх зважували, здійснювали ретельний зовнішній огляд та оцінювали поведінкові реакції кожної тварини. Кожна група містила однакову кількість різностатевих тварин з відхиленням від середньої маси щурів не більше 10 %.

Дослідження проводили 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).

Групи тварин виводили з експерименту одночасно. Евтаназію здійснювали під ефірним наркозом, шляхом кровопускання із серця, збирали сироватку крові. Вміст малонового діальдегіду (МДА), утвореного в процесі ліпопероксидації, визначали спектрофотометрично за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Активність каталази (КА) – за методом М. А. Королюка. Загальну протеолітичну активність (ЗПА) досліджували за методикою Мура–Штейна. Вміст білка у сироватці крові визначали за методикою Лоурі. Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) обчислювали за формулою: $AP\bar{I} = A_{кат} / C_{мда} \times 100$ [6], де $A_{кат}$ – активність каталази, $C_{мда}$ – вміст малонового діальдегіду.

Отримані результати опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку наведено результати дослідження біохімічних показників сироватки крові в експериментальних групах. Так, в інтактних щурів I групи вміст білка у сироватці крові складав $(0,74 \pm 0,07)$ г/л, що було на 32,43 % нижче, ніж у тварин II групи, в яких було змодельовано експериментальний пародонтит ($p < 0,05$). У тварин III експериментальної групи, в яких запальні явища у шлунково-кишковому тракті викликали за допомогою “імобілізаційного стресу”, рівень білка у сироватці крові становив $(1,18 \pm 0,07)$ г/л, що було на 59,46 % більше даних в інтактних щурів I групи ($p < 0,01$) та на 20,41 % перевищувало значення у тварин II групи з модельованим пародонтитом ($p_1 < 0,05$). У піддослідних тварин IV групи, в яких моделювання пародонтиту поєднувалось із запальними явищами у шлунково-кишковому тракті, рівень білка в сироватці крові складав $(1,62 \pm 0,06)$ г/л, що було на 118,92 і 65,31 % вище стосовно даних у щурів I та II експериментальних груп відповідно ($p; p_1 < 0,01$).

Рівень загальної протеолітичної активності у щурів I групи складав $(3,10 \pm 1,12)$ нкат/л, що було на 28,38 % нижче стосовно відповідних значень у тварин з модельованим пародонтитом ($p > 0,05$). В експериментальній групі щурів з модельованими запальними явищами в шлунково-кишковому тракті ЗПА становила $(4,06 \pm 1,12)$ нкат/л, що було на 30,96 і 2,01 % вище, ніж у піддослідних тварин I та II груп відповідно ($p; p_1 > 0,05$). У щурів IV групи, з поєднанням стоматологічної та соматичної патології, ЗПА складала $(5,28 \pm 1,16)$ нкат/л, що перевищувало значення у I та II групах тварин на 70,32 та 32,66 % відповідно ($p; p_1 > 0,05$).

В експериментальних тварин I групи вміст МДА у сироватці крові складав $(0,32 \pm 0,02)$ мкмоль/л при рівні каталази $(0,11 \pm 0,01)$ мкат/л, при цьому АПІ становив 34,38.

У тварин з модельованим пародонтитом відмічали збільшення МДА в сироватці крові на 65,62 % ($p < 0,01$) при зниженні рівня каталази на 22,22 % ($p > 0,05$), причому АПІ зменшувався у 2,0 рази і становив 16,98.

У піддослідних тварин III групи, з модельованими запальними реакціями в шлунково-кишковому тракті, відзначали збільшення вмісту МДА на 137,5 і 43,39 % стосовно відповідних значень у I та II групах ($p; p_1 < 0,01$) при зменшенні рівня каталази на 83,33 і 50,0 % щодо значень в інтактних щурів (I група) та тварин II групи з модельованим пародонтитом ($p; p_1 < 0,01$). Слід зауважити, що в III групі щурів АПІ зі значенням 7,89 був у 4,3 і 2,0 рази нижчим, ніж у I та II групах відповідно.

У тварин IV групи, з експериментально модельованим пародонтитом і запальними явищами в шлунково-кишковому тракті, рівень МДА в сироватці крові був на 196,9 та 79,25 % вищим, ніж у групі інтактних щурів і тварин II групи з модельованим пародонтитом ($p; p_1 < 0,01$). У цій же групі відзначали вагоме зменшення вмісту каталази в сироватці крові – на 266,7 і 200,0 % стосовно значень у I та II групах відповідно ($p; p_1 < 0,01$). При цьому АПІ в даній групі складав 3,16, що було значно менше, ніж у піддослідних тварин I та II груп.

У результаті застосування запропонованого нами лікувально-профілактичного комплексу в піддослідних тварин V групи вдалося значно покращити показники біохімічних маркерів запалення у сироватці крові. Так, загальний рівень білка у сироватці крові щурів становив $(0,82 \pm 0,07)$ г/л при проведенні лікувально-профілактичних дій, що було на 19,51 % менше, ніж у тварин II групи з модельованим пародон-

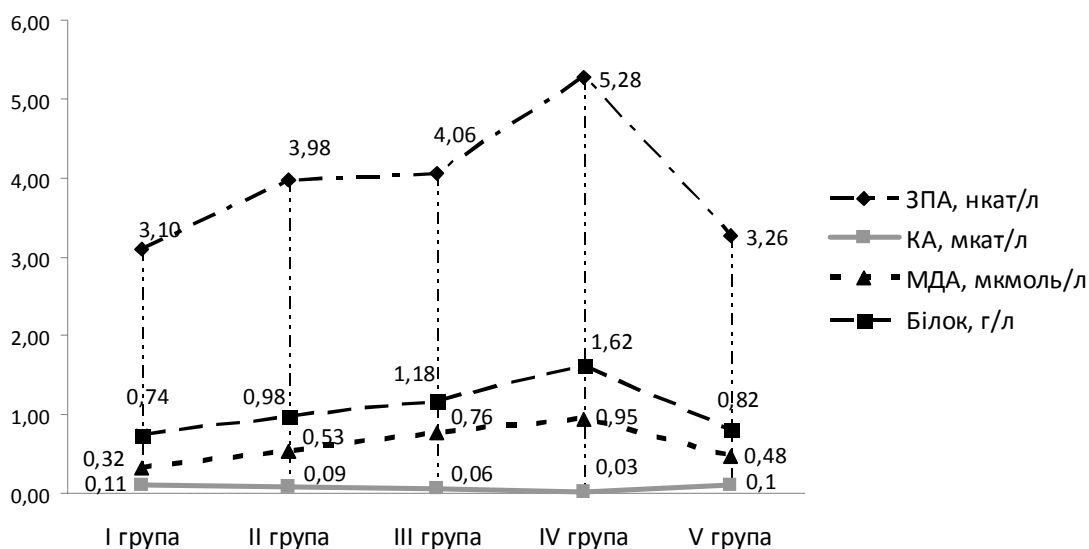


Рис. Динаміка змін показників біохімічних маркерів запалення в сироватці крові експериментальних тварин з модельованим пародонтитом на тлі уражень шлунково-кишкового тракту.

титом ($p_1 > 0,05$), але на 10,81 % більше, ніж в інтактних тварин I групи ($p > 0,05$).

Загальна протеолітична активність знизилась до $(3,26 \pm 1,17)$ нкат/л у процесі лікування та була на 22,09 % меншою стосовно даних у щурів з модельованим пародонтитом ($p_1 > 0,05$), однак перевищувала аналогічне значення в інтактних тварин тільки на 5,16 % ($p > 0,05$). У результаті застосування розробленого нами лікувально-профілактичного комплексу вдалося значно покращити показники прооксидантно-антиоксидантного комплексу в V групі піддослідних тварин. Так, під час досліджень констатовано зменшення МДА до $(0,48 \pm 0,02)$ мкмоль/л, що було на 10,42 % нижче, ніж у тварин з експериментальним пародонтитом ($p_1 < 0,01$), але на 50,0 % вище, ніж у щурів I групи ($p < 0,01$). Рівень каталази в експериментальних тварин V групи становив після лікування $(0,10 \pm 0,03)$ мкат/л, що було на 11,11 % більше, ніж у II групі ($p > 0,05$), але на 10,0 % менше, ніж у піддослідних інтактних щурів I групи ($p > 0,05$). Антиоксидантно-про-

оксидантний індекс у V групі після застосування лікувально-профілактичного комплексу склав 20,83, що було в 1,2 раза вище від відповідного значення у II групі тварин, однак у 1,7 раза нижче, ніж в інтактних щурів I групи.

ВИСНОВКИ. У результаті проведення аналізу біохімічних маркерів запалення в сироватці крові тварин експериментальних груп з модельованим пародонтитом на тлі уражень шлунково-кишкового тракту найбільші процеси розбалансування біохімічних маркерів виявлено у IV групі тварин, в яких моделювання пародонтиту поєднувалось із запальними явищами у ШКТ, що переконливо засвідчує наявність підґрунтя для інтенсифікації запальних процесів у тканинах шлунково-кишкового тракту при поєднаній захворюваності.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано розробити лікувально-профілактичний комплекс для корекції запально-дистрофічних процесів у тканинах пародонта на тлі шлунково-кишкових уражень з використанням природних факторів курорту Моршин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Генералізований пародонтит : монографія для студентів вищих навчальних медичних закладів, інтернів, лікарів-стоматологів, сімейних лікарів / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, А. В. Марков, І. В. Шилівський. – Львів : Галдент, 2011. – 240 с.
2. Годована О. І. Деякі аспекти етіології та патогенез запальних і дистрофічно-запальних захво-

рювань пародонту / О. І. Годована // Новини стоматології. – 2010. – № 3. – С. 69–73.

3. Дегтярова І. І. Клиническая гастроэнтерология : руководство для врачей / И. И. Дегтярова. – М. : МИА, 2004. – 616 с.

4. Дерейко Л. В. Взаємозв'язок між пародонтитом і загальним станом здоров'я / Л. В. Дерейко,

В. В. Плешакова // Имплантологія. Пародонтологія. Остеологія. – 2011. – № 2. – С. 76–83.

5. Заболотний Т. Д. Запальні захворювання пародонта : монографія для студентів вищих навчальних медичних закладів, інтернів, лікарів-стоматологів / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, Т. І. Пупін. – Львів : Галдент, 2013. – 205 с.

6. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск, 2004. – 812 с.

7. Schein W. Helicobacter pylori and the mouth cavity – overview and perspectives / W. Schein, S. Meryn // Wien. Klin. Wochenschr. – 2004. – 17. – P. 547–549.

И. Е. Швець, В. Т. Дырык, М. Т. Слобода

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРУЕМЫМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Резюме

У животных групп исследования с моделируемым пародонтитом при экспериментально вызванных поражениях желудочно-кишечного тракта исследовали содержание в сыворотке крови белка, малонового диальдегида, каталазы; определяли общую протеолитическую активность и антиоксидантно-прооксидантный индекс. Установлено, что в группах экспериментальных крыс повышаются содержание белка, малонового диальдегида и активность протеаз при снижении активности каталазы и антиоксидантно-прооксидантного индекса, причем данная тенденция носит более выраженный характер у животных с моделируемым пародонтитом на фоне экспериментальных поражений желудочно-кишечного тракта.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, желудочно-кишечный тракт, белок, общая протеолитическая активность, каталаза, малоновый диальдегид.

I. Ye. Shvets, V. T. Dyryk, M. T. Sloboda

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN ANIMALS WITH SIMULATED PERIODONTAL DISEASE ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL DEFEATS OF THE DIGESTIVE TRACT

Summary

In the animals of research groups with simulated periodontal disease at the experimentally caused defeats of the gastrointestinal tract investigated content in the blood serum protein, malonic dialdehyde, catalase. It was determined a general proteolytic activity and antioxidant-prooxidant index. It is found that in the groups of experimental rats content of the protein, malonic dialdehyde and activity of proteases increase on a background of decrease of activity of catalase and antioxidant-prooxidant index, at what this tendency is more pronounced in the animals with simulated periodontal disease on a background of experimental defeats of the gastrointestinal tract.

KEY WORDS: periodontal disease, gastrointestinal tract, protein, total proteolytic activity, catalase, malonic dialdehyde.

Отримано 12.12.14

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

ЦИТОХІМІЧНА ТА ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕСІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ БУКАЛЬНОГО ЕПІТЕЛІЮ В ОСІБ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТІ МОЛОДОГО ВІКУ В НОРМІ

У статті наведено результати комплексного цитохімічного і цитологічного дослідження клітинного складу букального епітелію осіб чоловічої статі молодого віку в нормі. Отримані результати дають можливість констатувати переважання зрілих форм епітеліоцитів у цитограмах, що забезпечує, таким чином, бар'єрну функцію щочки шляхом незначної тенденції до зроговіння, ініціюючи десквамативні процеси епітелію даної анатомічної ділянки в обстеженого контингенту осіб.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: епітеліоцити, клітини, цитоплазма, ядро, гранули.

Робота є фрагментом проекту Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики (м. Полтава) "Роль запальних захворювань зубо-щелепного апарату в розвитку хвороб, пов'язаних із системним запаленням" (номер державної реєстрації 0112U0011538). Автор є співвиконавцем даного проекту.

ВСТУП. Функціональний статус букальних епітеліоцитів, як і інших епітеліальних клітин, залежить від ступеня їх зрілості. У складі багаточарового плоского епітелію букальні епітеліоцити перебувають на різних стадіях морфофункціонального диференціювання – від молодиференційованих попередників у базальному шарі до високоспеціалізованих клітин, які в міру диференціювання зміщуються в поверхневі шари, підлягаючи десквамації. Частина з них має ознаки кератинізації [2, 3].

Диференційні та проліферативні процеси, а також функціональні параметри зрілих клітин регулюються факторами місцевого і центрального походження, що дає можливість оцінити гемостаз слизової оболонки порожнини рота за клітинним складом [9, 10].

Морфологічні зміни диференціювання епітелію запропоновано враховувати при скринінговому оцінюванні стану здоров'я, за умов стресогенних впливів, шкідливих факторів зовнішнього середовища, соматичної патології, біологічного віку людини [4, 5, 8].

Якісні й кількісні зміни букальних епітеліоцитів є індикатором порушень орального та

салівавторного гомеостазу, прогностичними та диференційно-діагностичними критеріями патологічних процесів слизової оболонки порожнини рота [6].

Метою даного дослідження було визначити особливості перебігу процесів диференціації букального епітелію в осіб чоловічої статі молодого віку в нормі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для дослідження слугував букальний епітелій, забраний у 25 осіб чоловічої статі молодого віку. Критерієм відбору осіб для обстеження була відсутність патологічного процесу в слизовій оболонці порожнини рота і тканинах пародонта, шкідливих звичок та супутньої соматичної патології. Епітелій забирали шпателем із подальшим перенесенням на предметне скельце та висушуванням при відкритому доступі повітря протягом 3–5 хв. Забарвлювали матеріал за Гімзою–Романовським із подальшим мікроскопічним та морфологічним аналізом з урахуванням відсоткового співвідношення різних форм епітеліоцитів у нормі.

З метою деталізації особливостей процесу зроговіння, який зумовлює клітинний склад даних цитограм, паралельно було проведено дослідження цитохімічної організації та співвідношення проміжних і поверхневих клітин епітелію ясен за допомогою реакції відновлення нітро-синього тетразолу (НСТ).

НСТ-тест характеризує активність ферментів, зокрема оксидаз фагосом, дегідрогеназ мітохондрій, а також гліколізу та пентозофос-

фатного циклу, що відображає функціональний стан клітин. Застосований тест дає інформацію про функціонування одного з ключових ферментів системи тканинного дихання та окисного фосфорилування – нікотинамід-флавінаденін-нуклеотидфосфат-оксидази, який відображає енергетичний потенціал клітини.

Зазвичай субстратом для НСТ-тесту є нейтрофільні гранулоцити, проте ми успішно застосували дану методику на різних класах епітеліальних клітин. НСТ, у разі взаємодії із цитоплазматичними органелами ясенних епітеліоцитів, а саме мітохондріями, ініціює зміну забарвлення в синій колір завдяки окисно-відновним реакціям, що дає можливість оцінити класову належність клітин та їх енергетичний потенціал [7].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Параметричні методи застосовували для показників, розподіл яких відповідав вимогам нормальності. Для оцінки характеру розподілу визначали коефіцієнт асиметрії та ексцес. Перевірку нормальності проводили за тестом асиметрії Шапіро–Вілкі. Вірогідність відмінностей отриманих результатів для різних груп визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях імовірності помилки $p < 0,05$. Імовірність помилки оцінювали за таблицями Стьюдента з урахуванням кількості експериментальних груп. Коли закон розподілу статистично-достовірно відрізнявся від нормального, роз-

раховували непараметричний критерій (U) Манна–Уїтні як непараметричний аналог t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Клітинний склад цитограм щоки осіб чоловічої статі молодого віку при забарвленні за Гімзою–Романовським представлений проміжними ($92,0 \pm 2,18$) і поверхневими клітинами ($4,7 \pm 0,19$), а також роговими лусочками ($3,3 \pm 0,14$).

Проміжні клітини обстеженого контингенту осіб характеризуються порівняно великими розмірами, ядра округлої або ж овальної форми з везикулами та добре вираженими грудочками хроматину. Форма клітин полігональна, зі слабобазофільною цитоплазмою. Розташування клітини переважно скупчене (рис. 1).

Слід зауважити, що проміжні епітеліоцити складають абсолютну більшість клітинних елементів у цитологічних препаратах обстеженого контингенту осіб (рис. 2).

Слід відмітити наявність чітко виражених зерен глікогену в цитоплазмі проміжних епітеліоцитів щоки обстеженого контингенту осіб, що підтверджує результати дослідження попередників [1] стосовно здатності багатозарового плоского епітелію людини до синтезу та накопичення великої кількості даного метаболіту.

Зазвичай зерна глікогену у вигляді азур-позитивних гранул накопичуються в цитоплазмі клітин проміжного шару, проте іноді гранули візуалізуються і в поверхневих епітеліоцитах. При цьому цитоплазма характеризується ШИК-позитивною реакцією, що вказує на наявність у ній глікогену, тоді як ядрам властива розсіяна конденсація хроматину. НСТ-гранули у вигляді

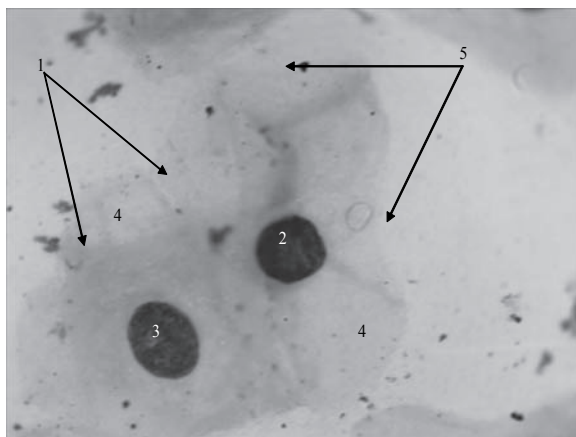


Рис. 1. Цитограма щоки. Забарвлення: за Гімзою–Романовським. Збільшення: $\times 400$:

1 – проміжні клітини (базофільні); 2 – округла форма ядра проміжної клітини; 3 – овальна форма ядра проміжної клітини; 4 – цитоплазма проміжних клітин; 5 – полігональна форма клітини.

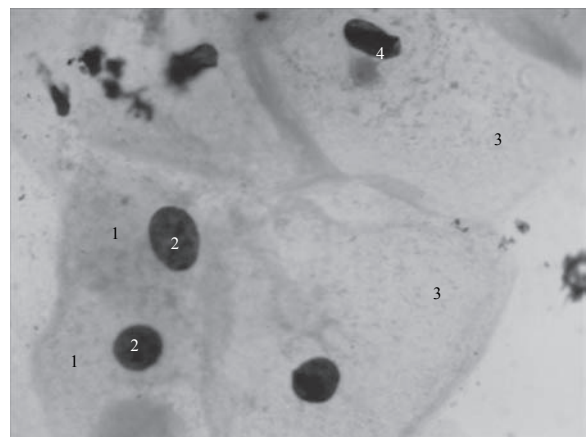


Рис. 2. Цитограма щоки. Забарвлення: за Гімзою–Романовським. Збільшення: $\times 400$:

1 – проміжні клітини (слабобазофільні); 2 – ядро проміжної клітини; 3 – поверхневі клітини; 4 – пікнотичне ядро поверхневої клітини.

блакитних скупчень зберігаються в невеликій кількості (рис. 3).

Поверхневі епітеліоцити мають більші розміри, ніж проміжні. Форма клітин полігональна, в цитоплазмі візуалізуються дрібні гранули кератогіаліну, ядра невеликих розмірів, здебільшого чітко округлі, іноді овальні темні – пікнотичні. Цитоплазма даних клітин слабобазофільна, проте трапляються епітеліоцити з еозинофілією цитоплазми. В ядрах часто візуалізуються дрібні незабарвлені вакуолі, відмічають каріолізіс, каріопікноз та каріорексис. У результаті фрагменти ядра повністю елімінуються із цитоплазми. Розташування поверхневих клітини переважно розрізнене (рис. 4).

У цитоплазмі візуалізуються поодинокі еозинофільні гранули, що вказує на слабку тенденцію до зроговіння даного типу епітеліоцитів

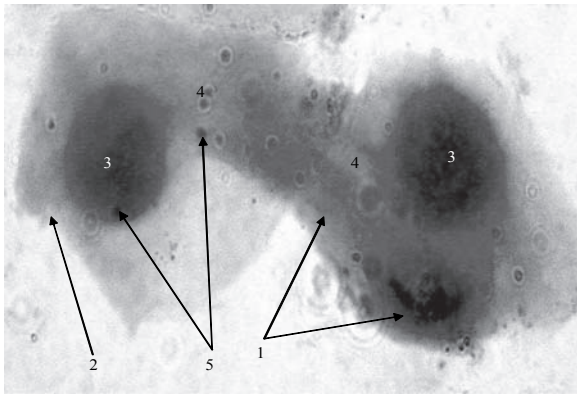


Рис. 3. Цитограма щоки. Забарвлення: НСТ+реактив Шифф-йодна кислота. Збільшення: $\times 1000$:

1 – проміжні епітеліоцити (азуропозитивні); 2 – поверхневі епітеліоцити (азуропозитивні); 3 – розсіяний хроматин ядер; 4 – ШИК-позитивна гомогенна цитоплазма; 5 – НСТ-гранули.

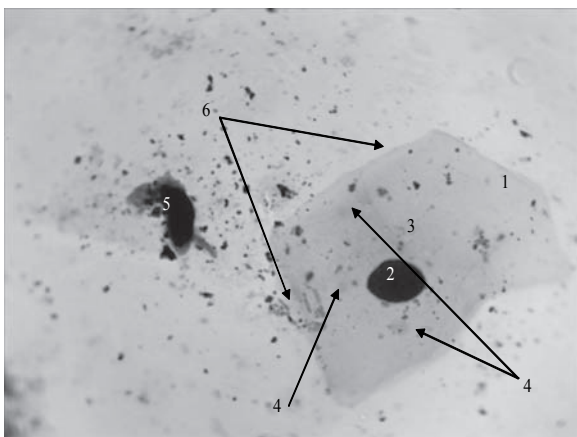


Рис. 4. Цитограма щоки. Забарвлення: за Гімзою-Романовським. Збільшення: $\times 400$:

1 – поверхневий епітеліоцит (еозинофільний); 2 – пікнотичне ядро; 3 – цитоплазма клітини; 4 – еозинофільні гранули; 5 – елімінований фрагмент ядра; 6 – полігональна форма клітин.

і характеризує процес кератинізації даного виду епітеліоцитів як апоптоз – генетично детерміновану загибель клітини.

З метою ідентифікації механізмів зроговіння епітелію щоки осіб чоловічої статі молодого віку було проведено цитохімічні дослідження із застосуванням НСТ-тесту.

Цитохімічні дослідження дають можливість підтвердити механізми зроговіння епітелію незавершеним шляхом, оскільки НСТ-гранули зберігаються, що свідчить про явища їх фізіологічного некрозу – апоптоз (рис. 5).

У частині поверхневих клітин ядра втрачають чіткість форми та контурів і набувають вигляду ядерної тіні. У цитоплазмі візуалізуються поодинокі азуропозитивні гранули, наявність яких забезпечується накопиченням в них високоенергетичного вуглеводу глікогену. Інтенсивність накопичення останнього в букальних епітеліоцитах значно нижча в обстеженого контингенту осіб порівняно з ідентичними клітинами в гендерному аспекті. Проте в цитоплазмі зберігаються гранули кератогіаліну та тонофіламентозні сітчасті комплекси, що свідчить про поетапний процес зроговіння даного типу клітин (рис. 6).

Особливістю цитограм букального епітелію обстеженого контингенту осіб є відсутність парабазальних клітин, що характеризує процес диференціації епітеліоцитів даної анатомічної ділянки в нормі. Звертає на себе увагу низький рівень контамінації мікроорганізмів на проміжних та поверхневих епітеліоцитах порівняно із цитограмами осіб жіночої статі, а в ряді цитограм – повна відсутність адгезії мікроорганізмів на поверхні клітини даних класів.

Слід відзначити наявність у цитограмах незначної кількості рогових лусочок, які представлені без'ядерними структурами, що в

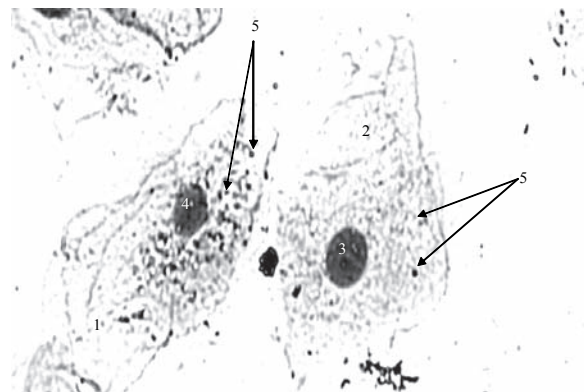


Рис. 5. Цитограма щоки. Забарвлення: НСТ-тест. Збільшення: $\times 1000$:

1 – поверхневий епітеліоцит; 2 – проміжний епітеліоцит; 3 – ядро проміжного епітеліоцита; 4 – ядро поверхневого епітеліоцита; 5 – НСТ-гранули.

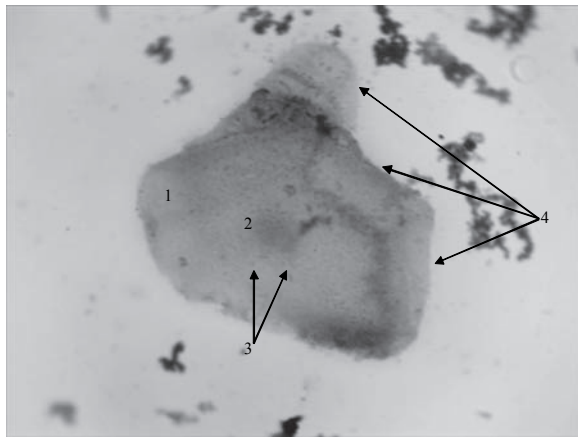


Рис. 6. Цитограма щоки. Забарвлення: за Гімзою–Романовським. Збільшення: $\times 400$:

1 – поверхневий епітеліоцит (азурпозитивний); 2 – ядерна тінь; 3 – поодинокі азурпозитивні гранули; 4 – полігональна форма клітин.

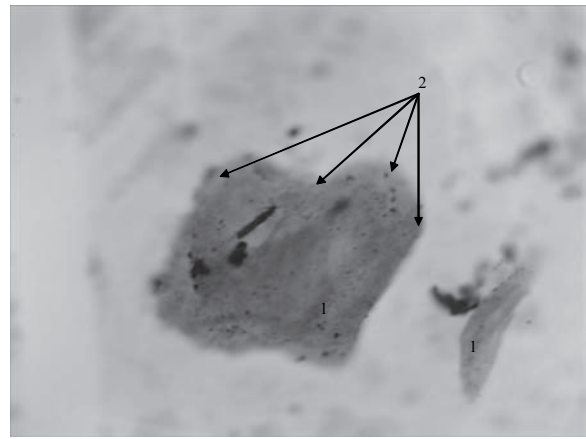


Рис. 7. Цитограма щоки. Забарвлення: за Гімзою–Романовським. Збільшення: $\times 400$:

1 – рогові лусочки; 2 – гексагональна форма рогової лусочки щоки.

процесі диференціації втратили ядро. Цитоплазма лусочок букального епітелію характеризується еозинофілією (рис. 7).

Так, у процесі вивчення особливостей перебігу процесів диференціації епітеліоцитів щоки осіб чоловічої статі молодого віку було визначено їх відсоткове співвідношення – $0:92,0 \pm 2,18:4,7 \pm 0,19:3,3 \pm 0,14$.

Одержані дані збігаються з відсотковим диференційованим співвідношенням епітеліоцитів багат шарового плоского епітелію щоки [1], проте результати наших досліджень вказують на вірогідне збільшення кількості зрілих форм епітеліоцитів у обстеженого контин-

генту осіб. Специфічність цитологічних змін забезпечує, таким чином, бар'єрну функцію щоки шляхом тенденції до зроговіння, а отже, до десквамації епітелію даної анатомічної ділянки.

ВИСНОВКИ. Відсоткове співвідношення проміжних клітин дещо подібне, що характеризує на сьогодні нормальний перебіг процесу диференціації епітелію щоки в молоді та бар'єрну функцію букального епітелію осіб чоловічої статі за рахунок вірогідного збільшення кількості рогових лусочок та, як наслідок, процесу десквамації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Быков В. Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта / В. Л. Быков // *Стоматология*. – 1997. – № 3. – С. 12–17.
2. Власова Л. Ф. Цитологический анализ поверхностных слоев эпителия слизистой оболочки рта / Л. Ф. Власова, Л. М. Непомнящих, Е. О. Резникова // *Бюл. эксперим. биологии*. – 2000. – № 1. – С. 113–116.
3. Гасюк Н. В. Эпителиоциты ротовой полости как маркеры молекулярно-генетических исследований [Электронный ресурс] / Н. В. Гасюк, О. Н. Бойченко, С. Б. Герасименко // *Математическая морфология : электронный математический медико-биологический журнал*. – 12, № 2. – Режим доступа к журн. : <http://www.smolensk.ru/user/sgma/MMORPH/N-38-html/cont.htm>.
4. Заверная А. М. Методы оценки и коррекции иммунных нарушений у больных с дистрофически-

воспалительными и воспалительно-деструктивными заболеваниями пародонта и слизистой оболочки полости рта / А. М. Заверная, А. С. Волосовец, Т. Н. Андрусенко // *Дентальные технологии*. – 2005. – № 5–6. – С. 13–15.

5. Ільченко В. І. Зміни слизової оболонки порожнини рота при деяких екзантематозних інфекціях / В. І. Ільченко, Ю. М. Вітко // *Укр. стоматол. альм.* – 2010. – № 2, ч. 2. – С. 88–89.

6. Клеточный состав мазков со слизистой оболочки полости рта при стоматите / В. Н. Почтарь, А. П. Левицкий, В. Е. Завадский, Е. П. Пустовойт // *Вісн. стоматол.* – 2006. – № 3. – С. 19–22.

7. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М. : Изд-во иностр. литер., 1962. – 742 с.

8. Behavior of tight-junction, adherens-junction and cell polarity proteins during HNF-4alpha-induced epithelial polarization / S. Satohisa, H. Chiba, M. Osanai [et al.] // *Exp. Cell. Res.* – 2005. – № 310 (1). – P. 66–78.

9. Schmalz G. Release of prostaglandin E2, IL-6 and IL-8 from human oral epithelial culture models after exposure to compounds of dental materials / G. Schmalz, H. Schweiki, K. A. Hiller // Eur. J. Oral. Sci. – 2000. – № 108. – P. 442–448.

10. The oral ecosystem: implications for education / H. Eriksen, V. Dimitrov, M. Rohlin [et al.] // J. Dent. Educ. – 2006. – **10**, № 4. – P. 192–196.

Н. В. Гасюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ И ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ЛИЦ МУЖСКОГО ПОЛА МОЛОДОГО ВОЗРАСТА В НОРМЕ

Резюме

В статье приведены результаты комплексного цитохимического и цитологического исследования клеточного состава буккального эпителия лиц мужского пола молодого возраста в норме. Полученные результаты позволяют констатировать преобладание зрелых форм эпителиоцитов в цитограммах, что обеспечивет, таким образом, барьерную функцию щеки путем тенденции к ороговению, инициируя десквамативные процессы эпителия данной анатомической области у обследованного контингента лиц.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эпителиоциты, клетки, цитоплазма, ядро, гранулы.

N. V. Hasyuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CYTOCHEMICAL AND CYTOLOGICAL OF PROCESSES OF DIFFERENTIATION OF BUCCAL EPITHELIUM IN YOUNGER MALES IN THE NORM CHARACTERISTIC

Summary

In the article the results of a comprehensive study of cytochemical and cytological cellular structure of buccal epithelium of younger males norm were shown. The results make it possible to ascertain prefer mature forms of epithelial cells in cytohrams, thus ensuring the implementation of the barrier function of the cheek by a slight tendency to keratinization, initiating processes deskvamative epithelium of the anatomical regions in individuals surveyed contingent.

KEY WORDS: epithelial cells, cytoplasm, nucleus, granules.

Отримано 27.01.15

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

СТАН ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ЛЕГЕНЯХ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

У роботі показано порушення рівноваги протеолізу (збільшення вмісту азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену) й інгібіторної системи (зниження рівня альфа-2-макроглобуліну та альфа-1-інгібітора протеїназу у легенях), особливо на 14-ту добу розвитку експериментальної пневмонії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна пневмонія, протеїназо-інгібіторна система.

ВСТУП. Пневмонія належить до актуальних питань пульмонології, становить 30–40 % від усіх захворювань легень та посідає 4-те місце серед причин смертності. В останні десятиріччя вона залишається важливою медико-соціальною проблемою, оскільки призводить до економічних збитків, спричиняє періоди непрацездатності. Незважаючи на значні досягнення у вивченні патогенезу пневмонії та великі успіхи в її лікуванні, збільшується кількість пацієнтів із тяжким перебігом захворювання і зростає смертність, а коректний діагноз пневмонії встановлюють лише в кожного третього хворого [2–4].

На сьогодні вже відомі етіологічні чинники формування пневмонії, проте патогенетичні механізми її розвитку остаточно не з'ясовано. Залишаються невивченими питання, які стосуються ролі й значення стану протеїназо-інгібіторної системи в легенях у механізмах розвитку цього захворювання, особливо в динаміці його перебігу.

Метою дослідження було з'ясувати особливості змін показників протеїназо-інгібіторної системи в легенях морських свинок за умов розвитку експериментальної пневмонії (ЕП).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 44 морських свинках-самках масою 0,20–0,24 кг із дотриманням рекомендацій стосовно проведення медико-біологічних досліджень відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). У тварин моделювали ЕП, викликану *Staphylococcus aureus* за мето-

© О. А. Ковалишин, 2015.

дом В. Н. Шляпникова, Т. Л. Солодової, С. А. Степанова [5]. Морських свинок було поділено на чотири групи по 11 тварин у кожній: 1-ша група – контроль (інтактні тварини); 2-га – самки з ЕП на 3-тю добу захворювання; 3-тя – морські свинки з ЕП на 7-му добу; 4-та – тварини з ЕП на 14-ту добу. Після цього всіх тварин декапітували. Евтаназію здійснювали під ефірним наркозом на 3-тю, 7-му і 14-ту доби ЕП, для проведення біохімічних досліджень забирали легеневу тканину. Визначали протеолітичну активність, вміст альфа-1-інгібітора протеїназу (α 1-ІП), альфа-2-макроглобуліну (α 2-М) за методом К. Н. Веремієнко, О. П. Голобородько [1]. Статистичне опрацювання описаних цифрових даних проводили за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Стан протеїназо-інгібіторної системи в легенях оцінювали за вмістом азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену, α 1-ІП та α 2-М у різні періоди (на 3-тю, 7-му і 14-ту доби) формування ЕП. У ході експерименту було встановлено, що показники азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену в легенях у ранній період розвитку хвороби (3-тя доба ЕП) залишались на рівні контрольних величин. Суттєве зростання показників системи протеолізу відбувалося в пізній період (7-ма, 14-та доби) експериментальної моделі хвороби. Вміст азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в легеневій тканині на 7-й день експерименту підвищувався на 42 % ($p < 0,05$), 44,8 % ($p < 0,05$), 46,6 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем, а на 14-й день – на 47,6 % ($p < 0,05$), 51,9 % ($p < 0,05$), 49,6 % ($p < 0,05$) відповідно відносно 1-ї групи тварин.

Аналізуючи показники протеїназ у легенях, можна зробити висновок про те, що рівень зазначених маркерів поетапно підвищувався і набув свого апогею в найвіддаленіші терміни спостереження на (7-му й 14-ту доби), що свідчило про надмірну протеолітичну активність за умов формування ЕП.

Збільшення вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в легенях на 3-й день експерименту не вплинуло на показники інгі-

біторної системи (α 1-ІП, α 2-М), вони залишались на рівні контролю. Незначне компенсаторне зростання в легеневій тканині вмісту альфа-2-макроглобуліну спостерігали на 7-му добу ЕП – на 12,3 % ($p < 0,05$) проти 1-ї групи тварин.

У тварин 4-ї групи відзначали помітне зниження в легенях рівня α 1-ІП і α 2-макроглобуліну – на 22,1 % ($p < 0,05$) та 50 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем (рис.).

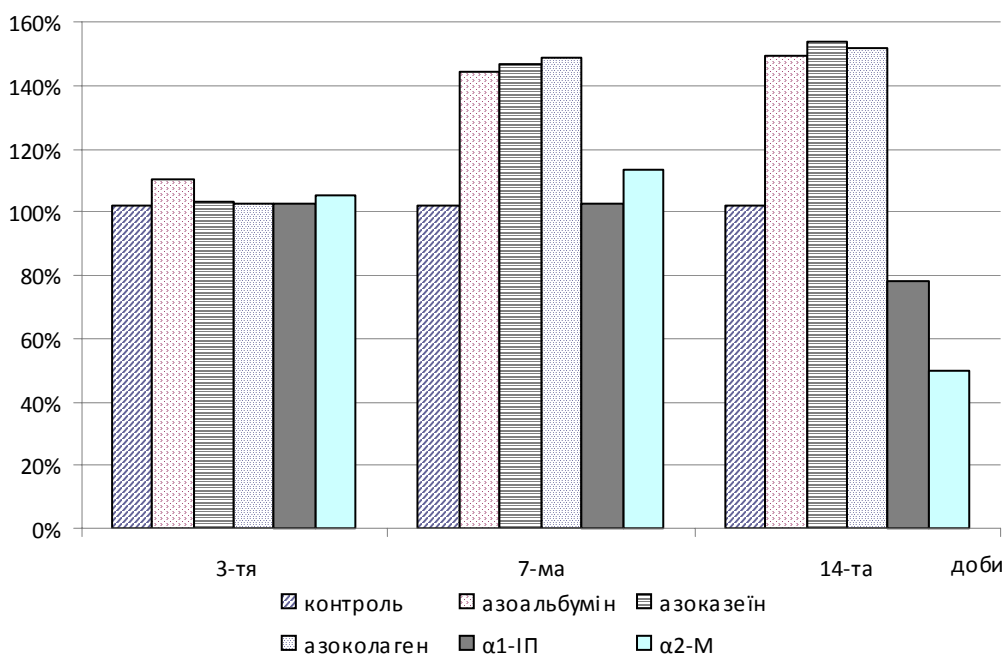


Рис. Стан протеїназо-інгібіторної системи в легенях у динаміці розвитку експериментальної пневмонії (% від контролю).

ВИСНОВОК. Визначення окремих показників протеїназ та інгібіторів у легенях морських свинок-самок показало підвищення активності азоальбуміну, азоколагену, азоказеїну і зни-

ження рівня α 2-М та α 1-ІП в легенях, що вказує на розвиток дисбалансу протеїназо-інгібіторного потенціалу, особливо на 14-ту добу експерименту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Веремеєнко К. Н. Протеоліз в нормі і при патології / К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько, А. І. Кизим. – К. : Здоров'я, 1988. – 200 с.
2. Регада М. С. Запальні хвороби легень та бронхів / М. С. Регада. – Львів, 2009. – 206 с.
3. Регада М. С. Пневмонія / М. С. Регада. – Львів : Сполом, 2005. – 138 с.

4. Регада М. С. Пульмонологія : навч. посіб. / М. С. Регада, І. Г. Гайдучок. – Львів : Сполом, 2000. – 436 с.

5. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией : метод. указ. / [В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов и др.]. – Саратов, 1988. – 30 с.

СОСТОЯНИЕ ПРОТЕИНАЗО-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Резюме

В работе показано нарушение равновесия протеолиза (увеличение содержания азоальбумина, азоказеина, азоколлагена) и ингибиторной системы (снижение уровня альфа-2-макроглобулина и альфа-1-ингибитора протеиназ в легких), особенно на 14-е сутки развития экспериментальной пневмонии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **экспериментальная пневмония, протеиназо-ингибиторная система.**

О. А. Kovalyshyn
DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

STATE OF PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN THE LUNGS UNDER THE CONDITION OF THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA

Summary

The paper demonstrates the imbalance of proteolysis (content increased asaalbanyny, azocasein, azotoluene) and inhibitory systems (reduction of the level of alpha-2-macroglobulin and alpha-1-proteinase inhibitor in the lungs), especially on the 14th day of development of experimental pneumonia.

KEY WORDS: **experimental pneumonia, proteinase-inhibitory system.**

Отримано 16.01.15

Адреса для листування: О. А. Ковалишин, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО ОБМІНУ В ЖІНОК ІЗ ЛЕЙОМІОМОЮ МАТКИ

Визначено рівень біохімічних маркерів резорбції кісткової тканини шляхом оцінки концентрації кальцію та фосфору, активності лужної фосфатази в сироватці крові, досліджено мінеральну щільність губчастих кісток поперекового відділу хребта і стан кісткової тканини в жінок із лейоміомою матки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кальцій, фосфор, лужна фосфатаза, мінеральна щільність кісткової тканини, резорбція, лейоміома матки, денситометрія.

ВСТУП. Лейоміома матки (ЛМ) – найбільш поширена доброякісна пухлина жіночої статеві системи. Це захворювання діагностують приблизно в 20 % жінок репродуктивного віку та 40–50 % жінок, старших 35 років [1]. Іноді ЛМ розвивається в 20–30-річному віці й навіть раніше. Кожне п'яте звертання до гінеколога пов'язане з даним захворюванням. На жаль, приблизно 80 % хірургічних гінекологічних втручань виконують із приводу міоми матки та її ускладнень. На сьогодні провідними ланками патогенезу ЛМ вважають гормональні зміни в організмі, основним з яких є дисбаланс естрогенних гормонів і прогестерону, а також пов'язані з цим зміни рецепторного апарату матки [4]. Тому в жінок із даною патологією повинні спостерігатись порушення обміну речовин та мікроелементів.

Тісний взаємозв'язок патологічних змін в органах репродуктивної системи зі змінами мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) спонукає до глибшого вивчення цієї патології [2, 3].

Метою даного дослідження було встановити зміни біохімічних маркерів резорбції кісткової тканини, які характеризують МЩКТ, у жінок із ЛМ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Динамічному клініко-лабораторному обстеженню підлягали 82 жінки репродуктивного віку з ЛМ. Контрольну групу склали 20 практично здорових жінок репродуктивного віку. Виконано біохімічне дослідження кальцію, фосфору та актив-

ності лужної фосфатази в сироватці крові обстежених із використанням наборів HUMAN (Німеччина) і стандартних наборів реактивів фірми "LACHEMA" (Чеська Республіка) [3].

Діагностику стану кісткової тканини проведено шляхом вивчення МЩКТ поперекового відділу хребта на рівні L_1 – L_4 за допомогою двофотонного рентгенівського денситометра (DualEnergy X-Ray Absorptiometry – DXA) фірми "Lunar corp."

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з результатами проведеного дослідження гормонального гомеостазу, всіх обстежених жінок поділено на дві групи: до 1-ї групи ввійшла 31 жінка, хвора на ЛМ, в яких діагностовано абсолютну гіперестрогенемію; до 2-ї – 51 пацієнтка з ЛМ і явищами відносної гіперестрогенемії.

Біохімічні маркери ремоделювання, які визначають у крові, доповнюють неінвазивні методи діагностики та надають безпосередню інформацію про структурно-функціональний стан кісткової тканини. Маркери метаболізму швидше реагують на вплив різних факторів щодо кісткової тканини, ніж денситометричні показники. Біохімічні показники в сироватці крові обстежених пацієнток наведено в таблиці 1.

Аналізуючи дані таблиці, встановили, що концентрація кальцію в сироватці крові жінок 1-ї групи відповідала показникам контрольної групи, в 2-й групі – була в межах норми і достовірно ($p < 0,05$) нижчою на 9 %, ніж у контрольній групі. Це свідчило про незначну

Таблиця 1 – Біохімічні показники в сироватці крові обстежених жінок

Показник	Група		
	1-ша (n=31)	2-га (n=51)	контрольна (n=20)
Кальцій, ммоль/л	2,36±0,03 p>0,05	2,19±0,01 p<0,05	2,39±0,02
Фосфор, ммоль/л	1,18±0,02 p>0,05	1,02±0,02 p<0,05	1,13±0,03
Лужна фосфатаза, Од/л	165,84±7,32 p>0,05	218,45±6,26 p<0,05	173,40±8,06

Примітка. p – достовірність між показниками обстежених жінок та жінок контрольної групи.

гіпокальціємію в пацієнок 2-ї групи порівняно з контрольною.

Рівень фосфору в 1-й та 2-й групах був у межах встановленої лабораторією норми. Однак концентрація фосфору в 2-й групі була достовірно (p<0,05) нижчою на 10 % за аналогічний показник контрольної групи. Це вказувало на відносну гіпофосфоремію в пацієнок 2-ї групи.

Як свідчать результати дослідження активності лужної фосфатази, її концентрація статистично достовірно (p<0,05) підвищувалася на 26 % в жінок 2-ї групи порівняно з контрольною. Хоча активність ферменту в пацієнок із ЛМ була в межах загальноприйнятої норми, проте відзначено відносне зростання активності лужної фосфатази в 2-й групі порівняно з контрольною.

Таким чином, суттєвих змін біохімічних показників у сироватці крові хворих 1-ї групи, що характеризували стан кісткової тканини, не виявлено. Проте в 2-й групі на фоні гіпогестагенії спостерігали підвищення активності

лужної фосфатази та зменшення рівня кальцію і фосфору порівняно з контрольною групою, що свідчило про порушення як формування, так і резорбції кісткової тканини в жінок із ЛМ. Початкові зміни біохімічних маркерів фосфорно-кальцієвого обміну, які відображають процеси патологічних порушень у кістковій тканині, допомагають діагностувати і попередити розвиток значних порушень МЩКТ, що призводять до остеопорозу.

Денситометричні показники МЩКТ у жінок 1-ї групи з ЛМ та абсолютною гіперестрогенемією свідчили про можливість розвитку в даних пацієнок остеосклеротичних змін переважно в ділянці L₂, L₃ та L₄ поперекового хребця. Результати дослідження МЩКТ поперекового відділу хребта за узагальненими показниками наведено в таблиці 2.

У пацієнок 2-ї групи з відотною гіперестрогенемією виявлено тенденцію до зменшення МЩКТ та розвитку остеопенії різного ступеня.

Таблиця 2 – Показники мінеральної щільності кісткової тканини в обстежених жінок у ділянці L₁, L₂, L₃, L₄ хребта (M±m)

Показник	Номер хребця	Група		
		1-ша (n=31)	2-га (n=51)	контрольна (n=20)
BMD, г/см ²	L ₁	1,16±0,01°	0,99±0,01°	1,08±0,01
	L ₂	1,28±0,01°	1,11±0,01 [#]	1,18±0,01
	L ₃	1,33±0,02°	1,15±0,01 [*]	1,21±0,01
	L ₄	1,33±0,02°	1,13±0,01 [*]	1,21±0,02
	L ₁ -L ₄	1,28±0,01°	1,11±0,01 [#]	1,18±0,01
Young, %	L ₁	102,61±1,12°	87,71±1,06°	95,55±0,94
	L ₂	106,74±1,17°	92,22±1,02 [#]	98,65±0,92
	L ₃	111,03±1,26°	95,88±0,96 [*]	101,80±1,20
	L ₄	110,71±1,68°	94,37±1,04 [*]	101,20±1,38
	L ₁ -L ₄	108,58±1,13°	93,61±0,89 [#]	100,05±1,02
Adult (T)	L ₁	0,23±0,11°	-1,17±0,10°	-0,43±0,09
	L ₂	0,67±0,12°	-0,78±0,10 [#]	-0,14±0,09
	L ₃	1,10±0,13°	-0,34±0,10 [*]	0,19±0,12
	L ₄	1,07±0,17°	-0,51±0,11 [*]	0,12±0,14
	L ₁ -L ₄	0,85±0,11°	-0,64±0,09 [#]	-0,01±0,10

Примітки:

- * – достовірна різниця відносно жінок контрольної групи (p<0,05).
- # – достовірна різниця відносно жінок контрольної групи (p<0,01).
- ° – достовірна різниця відносно жінок контрольної групи (p<0,001).

ВИСНОВКИ. 1. У пацієнок із ЛМ спостерігають зміни біохімічних показників, які характеризують стан кісткової тканини (кальцій, фосфор, лужна фосфатаза).

2. За результатами сенситометричного обстеження, зниження МЦКТ у вигляді остео-

пенії різного ступеня відмічають у жінок із ЛМ, в яких діагностовано явища відносної гіперестрогенемії. Тенденцію до остеосклерозу виявляють у пацієнок із даним захворюванням, в яких спостерігають абсолютну гіперестрогенемію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дубоссарская З. М. Репродуктивная эндокринология (перинатальные, акушерские и гинекологические аспекты) : учеб.-метод. пособ. / З. М. Дубоссарская, Ю. А. Дубоссарская. – Д. : Лира ЛТД, 2008. – 416 с.

2. Ермакова И. П. Биохимические маркеры костного обмена: биохимические, аналитические, клинические аспекты использования : руководство по остеопорозу / под ред. Л. И. Беневоленской. –

М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – С. 168–181.

3. Рожинская Л. Я. Остеопороз: диагностика нарушений метаболизма в костной ткани и кальций-фосфорного обмена / Л. Я. Рожинская // Качество жизни. Медицина. – 2006. – № 5. – С. 49–57.

4. Сидорова И. С. Современный взгляд на патогенез миомы матки / И. С. Сидорова, С. А. Леваков, О. В. Зайратьянц // Акушерство и гинекология. – 2006. – Прилож. – С. 30–33.

А. А. Котик

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У ЖЕНЩИН С ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ

Резюме

Определен уровень биохимических маркеров резорбции костной ткани путем оценки концентрации кальция и фосфора, активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови, исследованы минеральная плотность губчатых костей поясничного отдела позвоночника и состояние костной ткани у женщин с лейомиомой матки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кальций, фосфор, щелочная фосфатаза, минеральная плотность костной ткани, резорбция, лейомиома матки, денситометрия.

А. О. Kotyk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CHARACTERISTIC OF MARKERS OF PHOSPHORUS – CALCIUM METABOLISM IN WOMEN WITH UTERINE MYOMA

Summary

It was research the features of biochemical markers of bone system (calcium, phosphorus, alkaline phosphatase) in women with uterine myoma. The investigations of bone mineral density were performed.

KEY WORDS: calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, bone mineral density, resorption, uterine myoma, densitometry.

Отримано 15.01.15

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

СТАН ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

У роботі показано поступове зростання вмісту азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та зниження рівня в печінці альфа-2-макроглобуліну й альфа-1-інгібітора протеолізу, особливо на 24-ту, 34-ту і 44-ту доби розвитку експериментального алергічного альвеоліту. Встановлено позитивний коригувальний вплив тіотриазоліну на показники протеолізу й інгібіторів у печінці при даній моделі захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний алергічний альвеоліт, протеоліз, тіотриазолін.

ВСТУП. Проблема патогенезу, діагностики та лікування екзогенного алергічного альвеоліту (ЕАА) за останні десятиріччя набула особливої гостроти [3, 4]. Це захворювання важко піддається діагностиці через те, що перебігає під маскою різних недуг (грип, бронхіти, саркоїдоз тощо), і необхідне складне імунологічне дослідження. Разом із тим, дана патологія викликає розвиток різноманітних ускладнень, що зумовлює періоди непрацездатності та інвалідність [3, 4], тому це захворювання має соціально-економічне значення. На сьогодні до кінця не з'ясовано патогенез АА, зокрема не вивчено особливості змін стану протеїназо-інгібіторної системи та вплив на нього тіотриазоліну.

У зв'язку з цим, метою даного дослідження було вивчити порушення протеїназо-інгібіторної системи та встановити можливість коригувальної дії тіотриазоліну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження було проведено на морських свинках (самцях) масою 180–220 г, яких поділили на шість груп: 1-ша – контроль (інтактні тварини); 2-га, 3-тя, 4-та і 5-та – морські свинки з експериментальним АА, відповідно, на 14-ту, 24-ту, 34-ту і 44-ту доби; 6-та – тварини з ЕАА після застосування препарату “Тіотриазолін” у дозі 100 мг/кг маси щоденно впродовж 10 днів (з 34-ї до 44-ї доби).

Експериментальний АА відтворювали за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кириллова (1985) [2]. Декапітацію тварин здійснювали на 14-ту,

24-ту, 34-ту і 44-ту доби ЕАА до та після лікування тіотриазоліном і забирали печінку для проведення біохімічних досліджень.

Визначення протеолітичної активності здійснювали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену, альфа-1-інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІП), альфа-2-макроглобуліну ($\alpha 2$ -М) – за методом К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько (1988) [1].

Статистичне опрацювання описаних цифрових даних проводили за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Стан протеолізу в тварин визначали за вмістом азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену в печінці у динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту.

Встановлено, що рівень азоальбуміну в печінці поступово зростав на 50,9 % ($p < 0,05$), 81,1 % ($p < 0,05$), 97,2 % ($p < 0,05$) і 111,7 % ($p < 0,05$) при ЕАА, відповідно, на 14-ту, 24-ту, 34-ту і 44-ту доби проти контролю (рис.), що свідчило про стимуляцію протеолітичної активності.

Результати біохімічних досліджень показали, що вміст азоказеїну поетапно підвищувався на 14-ту, 24-ту, 34-ту і 44-ту доби експерименту, відповідно, на 27,2 % ($p < 0,05$), 39,4 % ($p < 0,05$), 52,3 % ($p < 0,05$) та 59,3 % ($p < 0,05$) відносно групи інтактних тварин (рис.), що свідчило про зростання активності протеолізу.

Вміст азоколагену в печінці збільшився на 14-ту, 24-ту, 34-ту і 44-ту доби експерименту, відповідно, на 30,8 % ($p < 0,05$), 37,1 % ($p < 0,05$), 64,2 % ($p < 0,05$) та 77,7 % ($p < 0,05$) порівняно з

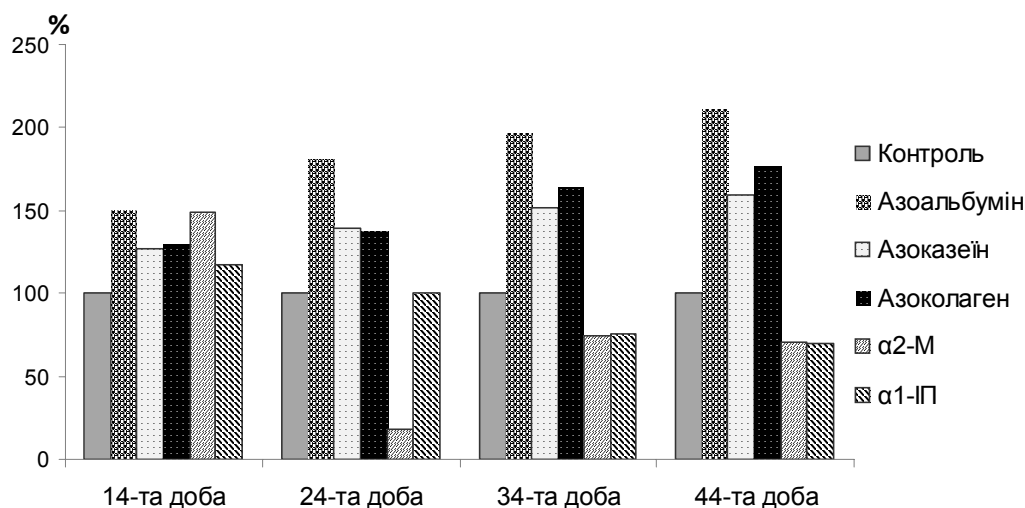


Рис. Стан протеїназо-інгібіторної системи в печінці при ЕАА (% від контролю).

1-ю групою морських свинок, що вказувало на підвищення протеолітичної активності в печінці за умов розвитку АА (рис.). Отже, проведене дослідження азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену в динаміці формування АА показало поступове зростання протеолітичної активності, яке досягнуло найвищих показників у найвіддаленіший термін спостереження (на 34-ту і 44-ту доби).

Стан інгібіторної системи в печінці оцінювали за рівнем α 2-М і α 1-ІП. Як свідчать результати досліджень, на 14-ту добу розвитку ЕАА відбувалося зростання вмісту α 2-М на 49,9 % ($p < 0,05$), а згодом, на 24-ту, 34-ту і 44-ту доби експерименту, спостерігали суттєве його зниження – на 82,6 % ($p < 0,05$), 26,7 % ($p < 0,05$) і 29,1 % ($p < 0,05$) відповідно проти контролю (рис.). Визначення іншого інгібітора протеолізу α 1-ІП показало спочатку (на 14-ту добу) його підвищення на 17,7 % ($p < 0,05$) в печінці, на 24-ту добу цей показник перебував на рівні інтактної групи тварин і зазнав помітного зменшення на 25,3 % ($p < 0,05$) і 30,4 % ($p < 0,05$) відносно контролю (рис.).

Таким чином, вивчення показників протеолітичної активності та інгібіторної системи в

печінці у динаміці формування ЕАА показало поступове зростання вмісту азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та зниження рівня α 1-ІП, α 2-М, особливо в пізні періоди розвитку (34-та, 44-та доби) цієї експериментальної моделі хвороби, що вказувало на порушення рівноваги між протеолітичною та інгібіторною системами з перевагою у бік підвищення протеолізу.

Застосування тіотриазоліну зумовлювало зниження вмісту азоальбуміну на 27,8 % ($p < 0,05$), азоказеїну – на 28,7 % ($p < 0,05$), азоколагену – на 21,3 % ($p < 0,05$) та підвищення рівня α 2-М на 18,2 % ($p < 0,05$) і α 1-ІП – на 33,6 % ($p < 0,05$) проти групи морських свинок з ЕАА, яким не вводили цього лікарського засобу, що свідчило про його коригувальний вплив на зазначені показники протеїназо-інгібіторної системи в печінці.

ВИСНОВОК. Експериментальний алергічний альвеоліт зумовлює зростання вмісту азоальбуміну, азоколагену, азоказеїну та зниження рівня інгібіторів протеаз у печінці, особливо на 34-ту і 44-ту доби експерименту. Встановлено коригувальну дію тіотриазоліну на зазначені показники при ЕАА.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Веремеєнко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим. – К. : Здоров'я, 1988. – 200 с.
2. Орехов О. О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллер-

- гическом альвеолите / О. О. Орехов, Ю. А. Кириллов // Арх. патол. – 1985. – № 10. – С. 54–61.
3. Регада М. С. Алергічні захворювання легенів / М. С. Регада. – Львів, 2009. – 342 с.
4. Регада М. С. Екзогенний алергічний альвеоліт / М. С. Регада, Р. Ю. Грицко, І. Г. Гайдучок. – Львів, 2007. – 200 с.

СОСТОЯНИЕ ПРОТЕИНАЗО-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕЧЕНИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА И КОРРЕКЦИЯ ЕГО НАРУШЕНИЙ ТИОТРИАЗОЛИНОМ

Резюме

В работе показано постепенное возрастание содержания азоальбумина, азоказеина, азоколлагена и снижение уровня в печени альфа-2-макроглобулина и альфа-1-ингибитора протеолиза, особенно на 24-е, 34-е и 44-е сутки развития экспериментального аллергического альвеолита. Установлено положительное корригирующее влияние тиотриазолина на показатели протеолиза и ингибиторов в печени при этой модели заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный аллергический альвеолит, протеолиз, тиотриазолин.

М. А. Pasichnyk
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

STATE OF PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN LIVER UNDER CONDITIONS OF FORMATION OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS AND CORRECTION OF ITS DISTURBANCES WITH THIOTRIAZOLIN

Summary

The papers shows a gradual increase of azoalbumin, azokasein, azokolagen and decrease of alpha 2-macroglobulin and alpha-1-inhibitor proteolysis in liver especially in the 24th, 34th and 44th days of experimental allergic alveolitis. It is shown a positive corrective action of thiotriazolin on indicators of proteolysis and inhibitors in liver during this model of disease.

KEY WORDS: experimental allergic alveolitis, proteolysis, thiotriazolin.

Отримано 17.12.14

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

ПОКАЗНИКИ КІСТКОВОГО ОБМІНУ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА І СИРОВАТЦІ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ

Показано, що при експериментальному пародонтиті в кістковій тканині верхньої щелепи та сироватці крові білих щурів знижуються вміст кальцію та активність лужної фосфатази і зростають рівень фосфору та активність кислої фосфатази порівняно з контрольними тваринами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, кісткова тканина, кальцій, фосфор, лужна фосфатаза, кисла фосфатаза.

ВСТУП. Хвороби пародонта є поліетіологічними захворюваннями, патогенез яких пов'язаний із патологічними процесами в організмі, що викликані порушеннями функціонування найважливіших систем організму [6].

У хворих на пародонтит порушуються процеси кісткоутворення, що проявляється зменшенням вмісту кальцію, збільшенням вмісту фосфору, підвищенням активності кислої фосфатази (КФ) і зниженням – лужної фосфатази (ЛФ) [3, 4].

Дослідження перебігу біохімічних процесів у нормі й за умов експериментального пародонтиту додатково розкриває патогенетичні механізми виникнення даної патології і дозволяє оптимально вирішити питання лікування. Тому метою даної роботи було вивчити зміни окремих біохімічних показників у тканинах пародонта білих щурів при експериментальному пародонтиті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальний пародонтит у піддослідних тварин викликали шляхом разового травмування нижнього різця за допомогою ультразвукового скейлера (ART; Великобританія) протягом 1 хв (Патент 65771 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01)). Після виникнення на 8-му добу виражених змін із боку тканин пародонта нижньої щелепи в ділянці нанесеної травматизації, які характеризувалися набряком і частковим некрозом м'якої частини пародонта, щурів забивали шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом.

У гомогенатах визначали вміст загального білка, фосфору, кальцію, активність лужної та

кислої фосфатази [1]. Отримані результати обробляли із застосуванням критеріїв Стюдента. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати проведених нами досліджень, при моделюванні експериментального пародонтиту відмічено зміни вмісту кальцію і фосфору та їх співвідношення у тканинах пародонта піддослідних тварин, що показано на рисунку.

При цьому виявлено зменшення вмісту кальцію в 1,44 раза ($p < 0,05$) – із 2,20 до 1,53 ммоль/л та збільшення вмісту фосфору в 1,33 раза ($p < 0,05$) – з 1,21 до 1,61 ммоль/л в уражених тканинах пародонта білих щурів порівняно з інтактними тваринами. Ці дані свідчать про перехід демінералізації як фізіологічного процесу в патологічний процес, особливо при співвідношенні Ca^{2+}/P нижче 1,08 [2].

Для оцінки характеру мінералізації кісток та її можливих порушень на рівні організму також визначено вміст кальцію і неорганічного фосфору в сироватці крові білих щурів з експериментальним пародонтитом (табл. 1).

При цьому, як видно з наведених даних, вміст кальцію і неорганічного фосфору в сироватці крові білих щурів мав подібну тенденцію до такого у тканинах пародонта, проте достовірних відмінностей між показниками інтактною та контрольної груп ((2,81±0,24) ммоль/л порівняно з (2,51±0,27) ммоль/л та (1,25±0,12) ммоль/л порівняно з (1,38±0,11) ммоль/л) не відмічено.

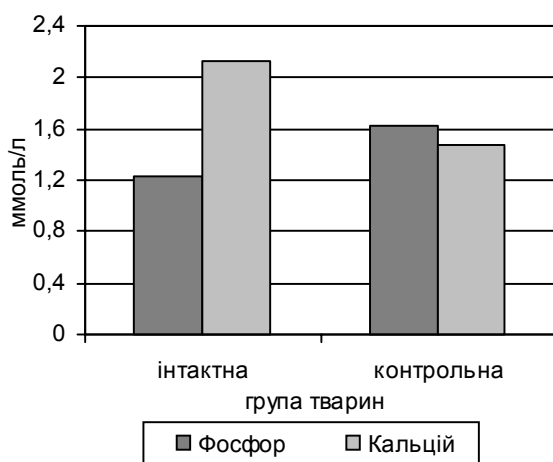


Рис. Вміст кальцію і фосфору в тканинах пародонта білих щурів з експериментальним пародонтитом.

Визначене співвідношення Ca^{2+}/P у сироватці крові білих щурів контрольної групи з експериментальним пародонтитом знизилось щодо значень в інтактній групі, проте також було недостовірним. Ці дані свідчать про відсутність при експериментальному пародонтиті істотних порушень показників кальцій-фосфорного обміну в крові (тобто на рівні цілісного організму) порівняно з такими змінами у тканинах пародонта білих щурів з експериментальним пародонтитом.

Отже, відсутність достовірних змін вмісту кальцію та неорганічного фосфору в сироватці крові білих щурів дозволяє стверджувати, що дистрофічно-запальні процеси в кістковій тканині пародонта при експериментальному пародонтиті не характеризуються суттєвими порушеннями кальцій-фосфорного гомеостазу в крові.

Таким чином, встановлено, що розвиток деструктивних змін в альвеолярній кістці лабораторних тварин зумовлений рівнем порушення метаболізму в її мінеральних компонен-

тах. Визначений нами в експерименті ступінь порушення кальцій-фосфорного обміну в щурів зі змодельованим пародонтитом підтверджується іншими клінічними та рентгенологічними змінами при цій патології через порушення метаболізму колагену, глікозаміногліканів, станом синтетичної активності остеобластів. В основі цього, очевидно, також лежать переважання катаболічної фази в обміні колагену та зниження рівня синтетичної активності остеобластів [5].

Відомо, що активність ЛФ як у кістковій тканині, так і в сироватці крові залежить перш за все від їх структурно-функціонального стану [5]. У ході досліджень встановлено, що при експериментальному пародонтиті в білих щурів активність ЛФ у тканинах пародонта знижувалась в 1,51 раза ($p < 0,05$) порівняно з такою у тварин інтактної групи (табл. 2).

Це можна пояснити зниженням остеобластичних процесів при прогресуючому пародонтиті та гальмуванням мінералізації кісткової тканини [4]. Разом із тим встановлено, що при експериментальному пародонтиті в білих щурів активність ЛФ у сироватці крові знижувалась в 1,14 раза порівняно з такою у тварин інтактної групи, проте ці дані були недостовірними. Отримані результати свідчать про локальне порушення процесів кісткоутворення в даному об'єкті дослідження.

Зворотні закономірності виявлено стосовно КФ (табл. 3), активність якої у тканинах пародонта білих щурів після моделювання пародонтиту зростала в 1,89 раза ($p < 0,05$), а в сироватці крові – в 1,13 раза ($p > 0,05$) порівняно з тваринами інтактної групи. При цьому в сироватці крові достовірних змін активності КФ, як і ЛФ, не спостерігали.

Таким чином, з одного боку, зниження активності ЛФ у гомогенаті кісткової тканини

Таблиця 1 – Вміст кальцію і фосфору в сироватці крові білих щурів з експериментальним пародонтитом ($M \pm m$)

Показник	Група тварин	
	інтактна (n=10)	контрольна (n=10)
Кальцій, ммоль/л	2,81±0,24	2,51±0,27
Фосфор, ммоль/л	1,25±0,12	1,38±0,11
Співвідношення Ca^{2+}/P	2,25±0,2	1,81±0,2

Таблиця 2 – Активність лужної фосфатази у тканинах пародонта і сироватці крові білих щурів при експериментальному пародонтиті, мккат/кг ($M \pm m$)

Об'єкт дослідження	Група тварин	
	інтактна (n=10)	контрольна (n=10)
Тканини пародонта	7,28±0,49	4,81±0,36*
Сироватка крові	8,37±0,62	7,82±0,35

Примітка. Тут і в таблиці 3: * – $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою тварин.

Таблиця 3 – Активність кислої фосфатази у тканинах пародонта і сироватці крові білих щурів при експериментальному пародонтиті, мкат/кг ($M \pm m$)

Об'єкт дослідження	Група тварин	
	інтактна (n=10)	контрольна (n=10)
Тканини пародонта	5,93±0,42	11,24±0,56*
Сироватка крові	6,81±0,55	7,74±0,62

білих щурів дослідної групи, порівняно з контрольними тваринами, свідчить про зменшення функціональної активності остеобластів, а з іншого – підвищення активності КФ вказує на зростання та активацію остеобластів [4].

ВИСНОВКИ. 1. При моделюванні експериментального пародонтиту в кістковій тканині білих щурів виявлено зменшення вмісту

кальцію в 1,44 раза та збільшення вмісту фосфору в 1,33 раза в ураженій кістковій тканині білих щурів порівняно з контрольними тваринами.

2. Також у кістковій тканині білих щурів спостерігали зниження активності лужної фосфатази в 1,51 раза та підвищення активності кислої фосфатази в 1,89 раза порівняно з контрольними тваринами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Исследование биохимических маркеров ремоделирования костной ткани при постменопаузальном остеопорозе в условиях лаборатории диспансера / Г. В. Ибрагимова, Л. П. Пашинцева, О. В. Духарева [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2001. – № 9. – С. 7–8.

2. Мазур І. П. Зміни кісткової тканини, зумовлені віком / І. П. Мазур // Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія. – 2009. – № 3. – С. 22–33.

3. Мазур І. П. Клініко-патогенетичні особливості перебігу захворювань пародонта при порушенні системного кісткового метаболізму та їх корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / І. П. Мазур. – Одеса, 2006. – 32 с.

4. Мельничук Г. М. Генералізований пародонтит і пародонтоз: маркери спадкової схильності, патогенетичні механізми метаболічних порушень та їх комплексна корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / Г. М. Мельничук. – Одеса, 2008. – 33 с.

5. Фастовець О. О. Клініко-патогенетичне обґрунтування корекції порушень метаболізму кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / О. О. Фастовець. – К., 2000. – 31 с.

6. Цепов Л. М. Заболевания пародонта: взгляд на проблему / Л. М. Цепов – М. : МЕД-пресс-информ, 2006. – 292 с.

В. Р. Мачоган

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОГО ОБМЕНА В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА И СЫВОРОТКЕ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ

Резюме

Показано, что при экспериментальном пародонтите в костной ткани верхней челюсти и сыворотке крови белых крыс снижаются содержание кальция и активность щелочной фосфатазы и возрастают уровень фосфора и активность кислой фосфатазы по сравнению с контрольными животными.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, костная ткань, кальций, фосфор, щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза.

**INDICATORS OF BONE METABOLISM IN PARODONTIUM TISSUES
AND BLOOD SERUM OF WHITE RATS AT EXPERIMENTAL PARODONTITIS**

Summary

It is shown that at experimental parodontitis in the tissue of the white rats upper jaw and serum decreases calcium and alkaline phosphatase activity and increases the level of phosphorus, and the acid phosphatase activity compared to control animals.

KEY WORDS: parodontitis, bone tissue, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, acid phosphatase.

Отримано 24.11.14

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

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ПРИ ЗМІНЕНІЙ РЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ

Досліджено особливості змін активності ферментів антиоксидантного захисту в слизовій оболонці пародонта тварин. Встановлено, що у групі тварин з нормоергічним типом запальної реакції активність супероксиддисмутази змінюється в бік підвищення несуттєво, а каталази – коливається в межах контролю. У тварин з гіпоергічним типом запальної реакції активність ферментів антиоксидантного захисту змінюється тільки на сьому добу експерименту. В групі тварин з гіперергічним типом запалення відбувається активація ферментів антиоксидантного захисту, і їх активність є найвищою з усіх досліджуваних груп.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, типи запальної реакції, антиоксидантна система.

ВСТУП. Захворювання пародонта є однією з найактуальніших проблем у медицині через значну поширеність, комплексний характер ураження, залучення до патологічного процесу не лише тканини пародонта, але й інших органів і систем [6, 7]. В Україні, за даними численних епідеміологічних досліджень, поширеність захворювань пародонта серед дорослого населення становить від 92 до 98 %. При цьому дана патологія уражає як доросле населення, так і дітей [7].

Провідна роль у виникненні запального процесу в пародонті належить патогенній мікрофлорі, але на сьогодні відомі й інші етіологічні чинники, зокрема травматичний [1, 9, 15, 16]. Будь-який пошкоджувальний чинник викликає в тканинах пародонта комплекс біохімічних, імунологічних і морфофункціональних змін. Вираження цих змін у кожному організмі буде різним, що залежить від особливостей реактивності організму [2–4].

Загальноприйнятою точкою зору є те, що при різних за місцем дії і локалізації травми процесах основним внутрішньоклітинним процесом є порушення структури біомембран і активація пероксидного окиснення ліпідів. На противагу системі пероксидного окиснення ліпідів існує антиоксидантна система (АОС), діяльність якої направлена на утилізацію токсичних продуктів [3, 8, 12].

© І. Я. Цвинтарна, 2015.

Метою даної роботи було дослідити динаміку показників антиоксидантного захисту в пародонті тварин при нормо-, гіпо- та гіперергічному типах запалення.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 120 білих нелінійних щурах-самцях масою 170–210 г віком 5–6 місяців. Його виконано відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [13], Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001). Пародонтит у щурів моделювали за методикою А. І. Воложина і С. І. Виноградової [5]. Тварин виводили з експерименту на 7-му, 10-ту і 14-ту доби після накладання лігатури. Гіпоергічний тип запальної реакції моделювали шляхом внутрішньом'язового введення алкілуючого цитостатика циклофосфану [11], гіперергічний – внутрішньом'язового введення пірогеналу [11], нормоергічний – за допомогою експериментального пародонтиту без введення будь-яких речовин [5].

Для вивчення системи антиоксидантного захисту було використано біохімічні методи визначення супероксиддисмутази (СОД) [14] та каталази (КАТ) [10].

Дослідженню підлягав гомогенат ясен піддослідної тварини.

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Манна–Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Біохімічне дослідження слизової оболонки тканин пародонта дозволило виявити такі особливості змін ферментів АОС.

Як видно з таблиці 1, у досліджуваній групі тварин (з нормоергічним типом запалення) спостерігали підвищення активності СОД. Зокрема, на сьому добу СОД зростала в 1,6 раза, на десяту дещо знижувалася, але залишалася вищою від контролю в 1,4 раза, а на чотирнадцяту практично була вищою від рівня контролю в 1,5 раза.

Активність ферменту КАТ достовірно підвищувалася відносно показників контрольної групи тварин на сьому добу в 1,2 раза, на десяту і чотирнадцяту доби – була приблизно в межах контролю.

Дещо інші закономірності спостерігали у тварин з гіпоергічним типом запалення (табл. 2).

Активність СОД, порівняно з контролем, на сьому добу зросла в 1,3 раза, а на десяту та чотирнадцяту доби достовірно від контролю не відрізнялась.

Активність КАТ була на сьому добу в 1,1 раза вищою від контролю, а на десяту і чотирнадцяту доби достовірно від контролю не відрізнялась, як і СОД.

За умови нормального обміну СОД підтримує концентрацію супероксидних радикалів на певному рівні, тим самим захищаючи клітинні структури від їх шкідливих впливів. Але коли число вільних радикалів зростає, навантаження на даний фермент збільшується і баланс може порушуватися.

У групі тварин з гіперергічним перебігом запального процесу спостерігали такі зміни показників АОС: так, на сьому добу показники активності СОД достовірно збільшились відносно контролю в 1,6 раза, а на десяту і чотирнадцяту доби підвищились у 1,7 раза (табл. 3).

Активність каталази протягом усього експерименту була такою: на сьому добу дослідження активність КАТ підвищилась у 1,3 раза, на десяту добу зросла у 2 рази, а на чотирнадцяту – у 2,5 раза.

Виражене підвищення СОД і КАТ на чотирнадцяту добу експерименту в слизовій

Таблиця 1 – Активність СОД та КАТ у слизовій оболонці тварин з нормоергічним типом запалення при пародонтиті (M±m)

Показник	Контроль (n=12)	Сьомо доба експерименту (n=12)	Десята доба експерименту (n=12)	Чотирнадцята доба експерименту (n=12)
СОД, од. акт.	0,483±0,008	0,75±0,02*	0,67±0,06**	0,71±0,06*
КАТ, мккат/кг	0,499±0,01	0,61±0,02*	0,54±0,02**	0,56±0,02**

Примітки. Тут і в таблицях 2 та 3 наведені результати достовірно відрізняються від показників контрольної групи тварин:

- * – p≤0,01.
- ** – p≤0,05.

Таблиця 2 – Активність СОД та КАТ у слизовій оболонці тварин з гіпоергічним типом запалення при пародонтиті (M±m)

Показник	Контроль (n=12)	Сьомо доба експерименту (n=12)	Десята доба експерименту (n=12)	Чотирнадцята доба експерименту (n=12)
СОД, од. акт.	0,483±0,008	0,66±0,02*	0,50±0,02	0,43±0,07
КАТ, мккат/кг	0,499±0,01	0,54±0,01**	0,51±0,02	0,41±0,04

Таблиця 3 – Активність СОД та КАТ у слизовій оболонці тварин з гіперергічним типом запалення при пародонтиті (M±m)

Показник	Контроль (n=12)	Сьомо доба експерименту (n=12)	Десята доба експерименту (n=12)	Чотирнадцята доба експерименту (n=12)
СОД, од. акт.	0,483±0,01	0,77±0,03*	0,81±0,03*	0,82±0,02*
КАТ, мккат/л	0,499±0,01	0,63±0,07*	0,97±0,07**	1,27±0,03*

оболонці пародонта тварин з гіперергічним типом запалення вказує на посилення ферментної ланки антиоксидантного захисту для стримування розвитку окисного стресу.

ВИСНОВКИ. 1. Супероксиддисмутаза і каталаза у всіх групах дослідження змінювалися порівняно з контролем, і їх активність залежала від терміну дослідження та типу запальної реакції.

2. При нормоергічному типі запалення активність ферментів АОС була вищою впродовж усього дослідження. Це свідчить про те, що в даній групі тварин відзначали достатню ефективність антиоксидантного захисту.

3. У групі тварин з гіпоергічним типом запалення активність СОД та КАТ була незначно

вищою від контролю лише на сьому добу експерименту. На десяту і чотирнадцяту доби дослідження активність ферментів АОС достовірно щодо контролю не змінювалася, що може свідчити про зниження рівня антирадикального захисту тканин пародонта.

4. У тварин з гіперергічним типом запальної реакції відбувалося найбільш виражене зростання активності ферментів СОД та КАТ у слизовій оболонці пародонта. Це дає підставу вважати, що в даній групі дослідження місцева адаптивна реакція є найвищою.

Перспективи подальших досліджень. У майбутньому доцільним буде дослідити показники системи антиоксидантного захисту в різні періоди експериментального пародонтиту за умови застосування коригувальних чинників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абасканова П. Д. Перекисное окисление липидов и системы антиоксидантной защиты мембран эритроцитов, плазмы крови у кроликов с искусственно вызванным пародонтитом и влияние различных методов лечения / П. Д. Абасканова // Медицина и образование в Сибири. – 2011. – № 1. – С. 11–16.

2. Авдеев О. В. Динаміка перекисного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи у пародонті в експерименті / О. В. Авдеев, А. Б. Бойків // Вісник стоматології (спецвипуск). – 2012. – № 6 (79). – С. 2–4.

3. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении пародонтита / П. В. Иванов, И. В. Маланин, А. В. Стоматов, Ю. В. Грибовская // Фундаментал. исследования. – 2008. – № 11. – С. 23–27.

4. Владимирюв Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимирюв, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.

5. Воложин А. И. Патогенез экспериментального пародонтита у кроликов / А. И. Воложин, С. И. Виноградова // Стоматология. – 1991. – № 4. – С. 10–12.

6. Годована О. І. Аспекти етіології та патогенезу запальних і дистрофічно-запальних захворювань пародонту / О. І. Годована // Новини стоматології. – 2010. – № 3. – С. 69–73.

7. Грудянов А. И. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, Е. В. Фоменко. – М. : Медицинское информационное агентство, 2010. – 96 с.

8. Деньга О. В. Антиоксидантно-прооксидантная система десны при экспериментальном периодонтите и его лечении / О. В. Деньга, Л. Б. Цевух, А. П. Левицкий // Укр. стоматол. альм. – 2008. – № 2. – С. 10–11.

9. Курбатова С. С. Патогенетичне лікування хворих на генералізований пародонтит: обґрунтування, ефективність, прогноз : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / С. С. Курбатова. – Івано-Франківськ, 2007. – 21 с.

10. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Г. И. Иванова, Н. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 3–8.

11. Мисула І. Р. Морфологічні зміни серцевого м'яза щурів при гіпоергічному та гіперергічному перебігу адреналінової міокардіопатії в експерименті / І. Р. Мисула, А. Б. Бойків // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2008. – № 1 (8). – С. 47–50.

12. Назарян Р. С. Динаміка моделювання порушень прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі та тканинах пародонта щурів / Р. С. Назарян, В. В. Гаргін // Актуал. проблеми суч. медицини. – 2007. – 7, вип. 4 (20). – С. 34–37.

13. 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.

14. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

15. Bulkina N. V. Modern aspects of inflammatory periodontal disease. Etiology and pathogenesis. Features of refractory periodontitis. Clinical manifestations / N. V. Bulkina, V. M. Morgunova // Scientific Journal Fundamental Research. – 2012. – 2. – P. 415–420.

16. Charlene W. J. / The microbial Aetiology of Periodontal Diseases // Periodontal Diseases – A Clinical's Guide. – New York, 2012. – P. 3–54.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПАРОДОНТА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА ПРИ ИЗМЕНЕННОЙ РЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА

Резюме

Исследованы особенности изменений активности ферментов антиоксидантной защиты в слизистой оболочке пародонта животных. Установлено, что в группе животных с нормоэргическим типом воспалительной реакции активность супероксиддисмутазы изменяется в сторону повышения несущественно, а каталазы – колеблется в пределах контроля. У животных с гипоэргическим типом воспалительной реакции активность ферментов антиоксидантной защиты изменяется только на седьмые сутки эксперимента. В группе животных с гиперэргическим типом воспаления происходит активация ферментов антиоксидантной защиты, и их активность является самой высокой из всех исследуемых групп.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, типы воспалительной реакции, антиоксидантная система.

I. Ya. Tsvyntarna

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF PARAMETERS OF ANTIOXIDANT DEFENSE OF ORAL MUCOUS MEMBRANE IN EXPERIMENTAL PARODONTITIS WITH MODIFIED REACTIVITY

Summary

The features change activity of antioxidant enzymes in the mucosa of parodontium in the animals. It is established that in the group of animals with normoergic type of inflammatory reaction superoxide dismutase varies upwards not essential, and catalase - ranges of control. In animals with hypoergic type of inflammatory reaction activity of antioxidant enzymes changed only on the seventh day of the experiment. In the group of animals with hyperergic type of inflammatory activation of antioxidant enzymes and their activity is the highest of all studied groups.

KEY WORDS: parodontitis, inflammatory reaction types, antyoxidant system.

Отримано 21.11.14

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

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО КЕРАТИТУ НА ТЛІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ І ПНЕВМОНІЇ

У роботі наведено порівняльну характеристику результатів досліджень процесів пероксидного окиснення ліпідів та оцінку функціонального стану системи антиоксидантного захисту на 1-шу, 14-ту і 21-шу доби розвитку експериментального бактеріального кератиту на тлі бронхіальної астми та пневмонії з наступною депресією антиоксидантної системи, що свідчить про порушення про- й антиоксидантних процесів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бактеріальний кератит, бронхіальна астма, пневмонія, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, супероксиддисмутаза, каталаза.

ВСТУП. Відомо, що вільні радикали (ВР) відіграють важливу роль у підтриманні транспорту електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, які регулюють спряження дихання з окисним фосфорилуванням і лежать в основі окисних процесів у мітохондріях. Окисні процеси з участю активованих кисневих метаболітів – невід'ємна частина існування живих організмів. Вони виконують функцію між- і внутрішньоклітинних месенджерів, модуляторів та індукторів у біохімічній регуляції й реалізації метаболічних процесів, є найбільш мобільною ланкою в адаптаційній перебудові організму при екстремальних впливах [17].

Установлено, що при екстремальних впливах в організмі активуються окисно-відновні процеси, які призводять до утворення ліпо- і гідропероксидів, подальше розкладання яких сприяє утворенню ендогенного кисню, необхідного для життєдіяльності. Подвійна властивість активованих кисневих метаболітів припускає, що у фізіологічних умовах існує деяка рівновага між продукуванням ВР та їх нейтралізацією, а також різні механізми її підтримки.

Швидкість вільнорадикального окиснення (ВРО) в органах і тканинах підтримується на певному рівні. При стресі та різних патологічних станах ВРО є неспецифічною ланкою патогенезу багатьох захворювань [8].

© Б. Б. Кравець, М. С. Регада, 2015.

Слід підкреслити, що зміна ВРО звичайно передуює появі клінічних симптомів пошкодження, а також порушує структурно-функціональну організацію біомембран і є одним із провідних механізмів пошкодження клітини [10]. Синдром пероксидації – патогенетичний фактор при низці хронічних захворювань [5]. Найбільш активно ВРО перебігає в ліпідах. Це вільнорадикальні молекули ненасичених гліцеридів і жирних кислот цитоплазми клітин, плазми крові й лімфи, які є токсичними, викликають катаболічні процеси [11].

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) – один із важливих окисних процесів у тваринних організмах.

Певну роль у розвитку патології відіграють проміжні та кінцеві продукти пероксидного окиснення, які мають цитотоксичні й мутагенні ефекти [2–4, 13]. Внаслідок цього процесу зі стабільних молекул ліпідів утворюються радикали, які піддаються поступовому руйнуванню.

У фізіологічних умовах існує рівновага між продукуванням ВР та їх нейтралізацією, а також різні механізми її підтримки. Стаціонарний рівень ВРО і ПОЛ в організмі підтримується завдяки активності ферментних і неферментних антиоксидантних систем. Остання включає антиоксиданти, локалізовані як у гідрофобному мембранному (токоферол), так і гідрофільному внутрішньоклітинному й неклітинному середовищі (тіолові сполуки, селенові похідні, система

глутатіону), а також три основні групи ферментів (антирадикальний фермент супероксиддисмутаза (СОД), антипероксидний фермент каталаза й головний сироватковий антиоксидант – фермент церулоплазмін) [16].

Початкові стадії процесу ПОЛ контролюються супероксиддисмутазою, яка дезактивує супероксидний радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект активних форм кисню (АФК) [7]. Пероксид водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніона, розкладається каталазою. Гідропероксиди ліпідів відновлюються глутатіонпероксидазою і глутатіонтрансферазою.

Зсув антиоксидантного захисту викликає посилення ПОЛ. Це супроводжується зміною конформації ліпідів, що призводить до порушення структурних і функціональних властивостей біологічних мембран, підвищення їх лабільності й проникності, розбалансування ферментних систем мембран, порушення електронних транспортних ланцюгів мітохондрій [15].

Тісно пов'язані з виділенням АФК процеси ПОЛ спричиняють пошкодження клітинних мембран, посилюють їх проникність, потенціюють запалення бронхів, викликають гіперкоагуляцію. У результаті дії ВР окисненню піддаються всі молекули, але найбільшу небезпеку становить окиснення ненасичених ліпідів – ПОЛ [14].

Метою цього дослідження було з'ясувати стан про- та антиоксидантної систем крові морських свинок при експериментальному бактеріальному кератиті (БК) на тлі бронхіальної астми (БА) і пневмонії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на морських свинках-самцях масою тіла 0,35–0,40 кг, поділених на чотири групи по 10 тварин у кожній: 1-ша – інтактні морські свинки (контроль); 2-га – 1-ша доба експерименту; 3-тя – 14-та доба розвитку експериментального захворювання; 4-та – 21-ша доба модельного процесу. Всіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Дослідження проводили, дотримуючись науково-практичних рекомендацій щодо утримання лабораторних тварин і роботи з ними та положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у бронхах визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за методом В. Б. Гаврилова,

М. І. Мишкорудної (1989) [6] і малонового діальдегіду (МДА) за методом Є. Н. Коробейникова (1989) [12]. Ступінь активності антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ферментів – супероксиддисмутази за методом R. Fried (1975) [20], каталази за методом R. Holmes, C. Masters (1970) [21].

Експериментальну модель БА відтворювали на морських свинках за методом В. І. Бабича (1979) [1]. Експериментальну пневмонію моделювали за методом В. Н. Шляпникова, Т. Л. Солодової, С. А. Степанова та ін. (1988) [18]. Експериментальний бактеріальний кератит моделювали за методикою О. П. Сотникової та ін. (2010) [19]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Надлишкове неферментне вільнорадикальне окиснення ліпідів у тканинах тваринного організму призводить до характерних змін – синдрому пероксидації, який включає деструкцію мембран, інактивацію і трансформацію ферментів, порушення процесів поділу клітин.

Зростання інтенсивності ПОЛ за умов розвитку тканинної гіпоксії є одним із вагомих факторів патогенезу бронхіальної астми. При цьому захворюванні порушуються окисно-відновні процеси, що, у свою чергу, спричинює зміни метаболізму кисню, утворення активних його форм. Останні можуть відігравати роль у формуванні автоімунного процесу, оскільки одна з АФК – пероксид водню – є відносно стійкою, здатною до тривалої дифузії та окисної модифікації ендogenous макромолекул, що викликає появу тканинних структур із властивостями автоантигенів.

Посилення продукування АФК, особливо за умов виснаження антиоксидантного захисту, що характерно для хворих з легеневою патологією, пов'язане також із приєднанням вірусної та бактеріальної інфекцій.

Як свідчать результати досліджень процесу вільнорадикального окиснення, ранній період (1-ша доба) розвитку БК, БА і пневмонії характеризувався зростанням рівня в крові експериментальних тварин дієнових кон'югатів на 37,54 % ($p < 0,05$) проти контролю (табл.). Пізніше, на 14-ту і 21-шу доби формування цих експериментальних моделей хвороб, відбувалося подальше підвищення вмісту ДК – на 85,04 і 103,23 % відповідно ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами (табл.), що вказувало на інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, яке було найбільш виражене в пізній період захворювання.

Таблиця – Результати темпу зростання показників у крові тварин (%)

Показник	Порівняно з контролем		
	1-ша доба	14-та доба	21-ша доба
ДК	37,54	85,04	103,23
МДА	24,10	70,40	75,69
СОД	26,31	49,75	-33,87
Каталаза	20,87	61,78	-41,17

У ході аналізу рівня МДА як маркера інтенсифікації процесів ПОЛ у крові експериментальних тварин встановлено, що цей показник зростає на 24,10 % ($p < 0,05$), 70,40 % ($p < 0,05$) та 75,69 % ($p < 0,05$), відповідно, на 1-шу, 14-ту і 21-шу доби порівняно з групою здорових морських свинок (табл.).

Отже, дослідження як первинних, так і кінцевих продуктів ПОЛ у динаміці розвитку БА дозволило констатувати надмірне їх утворення, яке було найвищим у пізній термін (21-ша доба) спостереження.

Процеси вільнорадикального окиснення гальмує у клітині антиоксидантна система захисту, яка включає антиоксиданти ПОЛ на стадії ініціювання утворення вільних радикалів (токофероли, поліфеноли) або продукування активних форм кисню – ферментна система захисту. За умов нормального обміну СОД підтримує стаціонарну концентрацію супероксидних радикалів на певному рівні, захищаючи цим самим клітинну структуру як від шкідливої дії радикалів кисню, так і від появи гідроксильних радикалів [15].

У літературі значну роль у розвитку запальних процесів відводять супероксидним радикалам, тому велику увагу приділяють вивченню зміни активності СОД при деяких захворюваннях, таких, як БА, пневмонія, гемолітична анемія, ішемія, низці неврологічних захворювань [9].

На фоні БК, БА та пневмонії відбулася стимуляція оксидативних реакцій, що спричинювало порушення параметрів антиоксидантної системи крові. Встановлено, що активність СОД підвищилася на 26,31 % ($p < 0,05$), а каталази – на 20,87 % ($p < 0,05$) на 1-шу добу відносно 1-ї групи експериментальних тварин

(табл.). Однак пізніше, на 14-ту добу, спостерігали подальше зростання активності СОД на 49,75 % і каталази на 61,78 % ($p < 0,05$) (табл.). У пізній термін, на 21-шу добу формування експериментальних моделей хвороб, відзначали зниження активності СОД на 33,87 % і каталази на 41,17 % ($p < 0,05$) проти контролю (табл.), що свідчило про виснаження активності антиоксидантної системи.

Отримані результати вказують на порушення рівноваги між прооксидантною та антиоксидантною системами крові в період розвитку БК, БА і пневмонії.

ВИСНОВКИ. При БК, БА та пневмонії включаються механізми як ПОЛ, так і антиоксидантного захисту.

Порушення процесів пероксидного окиснення ліпідів відіграє важливу роль у розвитку бактеріального кератиту, ускладненого бронхіальною астмою та пневмонією. Основні показники інтенсивності й динаміки ВРО в живих системах – це продукти ВРО, що є каталізаторами даного процесу, і стан антиоксидантної системи. Таким чином, процеси пероксидного окиснення ліпідів розглядають як один із важливих механізмів виникнення клітинної патології, яка лежить в основі багатьох негативних ефектів.

Перспективи подальших досліджень. Визначення продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту крові може слугувати додатковим критерієм діагностики запального стану при БК, БА і пневмонії, тому доцільним є вивчення цих показників у процесі лікування. Своєчасна діагностика та корекція порушень ПОЛ сприяють попередженню прогресування запального процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабич В. И. Модификация метода экспериментальной модели бронхиальной астмы у морских свинок / В. И. Бабич // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. – Львов, 1979. – Т. 3. – С. 159.

2. Білоус Т. М. Показники місцевого запалення дихальних шляхів у дітей із астма-фенотипом різного початку / Т. М. Білоус // Клініч. та експерим. патологія. – 2012. – 11, № 3. – С. 11–14.

3. Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю. А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – **69**, вып. 1. – С. 53–66.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестн. РАМН. – 1998. – № 7. – С. 3–51.
5. Вознесенский О. Н. Биоантиоксиданты – облигативные факторы питания / О. Н. Вознесенский, В. Н. Бобырев // Вопр. мед. хим. – 1992. – № 2. – С. 21–25.
6. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К.: Здоровье, 1989. – С. 170–171.
7. Говта Л. Загальний механізм патології / Л. Говта // Медико-біологічні студії екосистем: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. – 2008. – Т. 20. – С. 25–31.
8. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // Журн. АМН України. – 2004. – **10**, № 1. – С. 131–150.
9. Дитятковська Є. М. Стан перекисного окиснення ліпідів у хворих на поліноз / Є. М. Дитятковська // Ринологія. – 2011. – № 3. – С. 11–16.
10. Зинчук В. В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В. В. Зинчук, М. В. Борисюк // Усп. физиол. наук. – 1999. – **30**, № 3. – С. 38–48.
11. Кожевников Ю. Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии (обзор) / Ю. Н. Кожевников // Вопр. мед. химии. – 1985. – № 1. – С. 2–7.
12. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
13. Липид-модифицирующий компонент в патогенетической терапии / [А. П. Власов, В. Г. Крылов, Т. В. Тарасова и др.]. – М.: Наука, 2008. – 374 с.
14. Продукти вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 4. – С. 9–13.
15. Стежка В. А. Сезонні та циркадні ритми взаємопов'язаного фізіологічного функціонування систем вільнорадикального окиснення та ендогенних біоантиоксидантів у людини / В. А. Стежка, О. В. Падакіна // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 1. – С. 213–215.
16. Стежка В. А. Функціональне состояние системи свободнорадикального окислення як патогенетически обоснованный критерий гигиенической оценки воздействия на организм факторов производственной и окружающей среды / В. А. Стежка // Довкілля та здоров'я. – 1999. – № 1. – С. 2–9.
17. Тимочко М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобилінська // Мед. хімія. – 1999. – **1**, № 1. – С. 19–25.
18. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями и их ассоциацией: мет. указ. / укл. В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов и др. – Саратов, 1988. – 30 с.
19. Эффективность биопелоидов в лечении экспериментального травматического кератита / Е. П. Сотникова, Г. С. Фесюнова, А. Б. Абрамова [и др.] // Офтальмол. журн. – 2010. – № 4. – С. 55–59.
20. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide radical / R. Fried // Biochemie. – 1975. – **57**, № 5. – P. 657–660.
21. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – **11**, № 1. – P. 45–48.

Б. Б. Кравец, М. С. Регада

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА НА ФОНЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ПНЕВМОНИИ

Резюме

В работе приведены сравнительная характеристика результатов исследований процессов пероксидного окисления липидов и оценка функционального состояния системы антиоксидантной защиты на 1-е, 14-е и 21-е сутки развития экспериментального бактериального кератита на фоне

бронхиальной астмы и пневмонии с последующей депрессией антиоксидантной защиты, что свидетельствует о нарушении про- и антиоксидантных процессов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бактериальный кератит, бронхиальная астма, пневмония, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, супероксиддисмутаза, каталаза.

B. B. Kravets, M. S. Regeda
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF VIOLATIONS OF PROCESSES OF PEROXIDE LIPIDS OXIDATION AND ANTIRADICAL DEFENCE IN BLOOD IN THE DYNAMICS OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL BACTERIAL KERATITIS ON A BACKGROUND OF BRONCHIAL ASTHMA AND PNEUMONIA

Summary

Comparative description over of results of researches of processes is in process brought of peroxide lipids oxidation and estimation of the functional state of the system of the antioxidant securing for 1-th, 14-th and 21-th twenty-four hours of development of experimental bacterial keratitis on a background bronchial asthma and pneumonia with next depression of the antioxidant system that testifies to violation about pro- and antioxidant processes.

KEY WORDS: bacterial keratitis, bronchial asthma, pneumonia, malonic dialdehyde, dienic conyugate, superoxide dismutase, katalase.

Отримано 01.12.14

Адреса для листування: Б. Б. Кравець, вул. Репіна, 5 а/4, Львів, 79014, e-mail: bohdan.kravets@gmail.com.

ОСОБЛИВОСТІ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ТА БІЛКОВОУТВОРЮВАЛЬНОЇ ФУНКЦІЙ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ В СТАТЕВОЗРІЛИХ САМОК БІЛИХ ЩУРІВ ТА ЇХ ВПЛИВ НА РЕПРОДУКЦІЮ

Проблема порушень функції репродуктивної системи займає одне з провідних місць серед гінекологічних захворювань і продовжує бути актуальною, оскільки призводить до втрати працездатності та зниження репродуктивної функції. Значна роль у цьому належить не лише генетично детермінованим особливостям організму, але й супутній патології. У жінок часто спостерігають поєднання порушень функції репродуктивної системи з хронічними гепатитами різного генезу. Це спонукало нас до проведення експериментальної роботи з метою детального вивчення та аналізу вказаної проблеми. Було змодельовано хронічний токсичний гепатит у статевозрілих самок білих щурів. Вивчено результати клінічних, гістологічних досліджень, показники імунного та гормонального статусу, стан ферментативної і білковоутворювальної функцій печінки в піддослідних тварин, а також їх репродуктивну функцію за умов експериментального токсичного гепатиту. Обстежено 60 статевозрілих самок білих щурів, у яких змодельовано хронічний токсичний гепатит. Досліджено клінічні прояви захворювання, стан ферментативної та білковоутворювальної функцій печінки і репродуктивну функцію цих тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ферментативна та білковоутворювальна функції печінки, хронічний токсичний гепатит, репродуктивна функція.

ВСТУП. Порушення функції репродуктивної системи в жінок залишаються актуальною проблемою, незважаючи на вагомий науковий досягнення в її вивченні. Зростання захворюваності репродуктивної системи призводить не лише до втрати працездатності, але й до зниження репродуктивної функції. У жінок часто спостерігають поєднання порушень функції репродуктивної системи з хронічними гепатитами різного генезу [3, 5, 8]. З метою більш детального вивчення та аналізу вказаної проблеми, виявлення змін, які мають вплив на патогенез захворювання, проведено експериментальне дослідження. Було змодельовано хронічний токсичний гепатит у статевозрілих самок білих щурів. Вивчено результати клінічних, біохімічних досліджень у піддослідних тварин, а також їх репродуктивну функцію за умов експериментального токсичного гепатиту. Обстежено 60 самок білих щурів репродуктивного віку, в яких змодельовано хронічний токсичний гепатит.

Метою даного дослідження було вивчити клінічні прояви захворювання, визначити показ-

ники імунної системи і стан репродуктивної функції піддослідних тварин за умов експериментального хронічного токсичного гепатиту [2, 4, 6].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено експериментальну частину роботи. Змодельовано хронічний токсичний гепатит. Моделлю токсичного ураження тварин слугувала інтоксикація тетрахлорметаном (CCl_4). Тетрахлорметан вводили через день внутрішньошлунково у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 2 г/кг маси тіла щура. Виводили тварин з експерименту за умов знеболювання тіопентал-натрієм. Обстежено 60 статевозрілих самок білих щурів, яких поділили на 4 групи: до 1-ї групи ввійшли 20 самок, в яких після завершення експерименту досліджували біохімічні показники, оцінювали клінічні прояви гепатиту; до 2-ї – 20 самок, гепатит в яких лікували шляхом введення гепатопротекторного засобу (2,5 % розчину тіотриазоліну по 0,1 мл підшкірно щоденно протягом 20 днів), аналогічні дослідження проводили після завершення лікування; до 3-ї – 15 самок, в яких досліджували репродуктивну

функцію; контрольну групу склали 5 здорових статевозрілих самок білих щурів. У піддослідних тварин визначали рівень загального білка, загального білірубін, аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), тимолової проби [1, 7, 9–11].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Середній вік самок білих щурів у дослідних групах склав від 6 до 8 місяців, у контрольній групі – 6 місяців. Маса піддослідних тварин в експериментальних та контрольній групах становила в середньому 190–195 г. Контрольна і всі дослідні групи були ідентичними за віком, масою, харчуванням, умовами утримування. У піддослідних тварин 1–3 груп було змодельовано тетрахлорметановий хронічний гепатит. Спостерігали за поведінкою щурів, їх руховою активністю, функцією травного тракту. Агресивну поведінку в перший тиждень експерименту відмічали у всіх піддослідних тварин. Наступного тижня спостерігали адинамію в 16 (80,0 %) щурів 1-ї групи, 18 (90,0 %) – 2-ї групи

і 13 (86,7 %) – 3-ї групи. Зниження апетиту відзначено у всіх тварин 1–3 груп. У третини щурів кожної експериментальної групи була відраза до їжі. Діарея мала місце в 17 (85,0 %) самок 1-ї групи, 18 (90,0 %) – 2-ї групи, 12 (80,0 %) – 3-ї групи. В контрольній групі виконували аналогічні дослідження. Визначені показники підтверджували літературні дані [1, 2, 7, 9–11]. Через 3 місяці в 3-й дослідній групі проводили аналіз реалізації репродуктивної функції. Виявлено, що у 9 самок (60,0 %) вагітність не настала.

Під час біохімічних досліджень у тварин 1-ї групи одержано такі показники: загальний білірубін – (20,99±0,41) мкмоль/л (p<0,05); загальний білок – (35,63±0,94) г/л (p<0,05); АлАТ – (133,37±2,36) Од/л (p<0,05); АсАТ – (406,05±1,93) Од/л (p<0,05); ЛФ – (941,79±19,36) Од/л (p<0,05); тимолова проба – (3,56±0,14) Од/л (p<0,05). У щурів 2-ї групи отримано такі результати: загальний білірубін – (4,58±0,20) мкмоль/л (p<0,05); після лікування показники загального білка підвищились до (71,69±1,88) г/л (p<0,05); достовірно знизилась АлАТ – (77,64±2,36) Од/л і АсАТ – (260,89±5,83) Од/л (p<0,05); рівень ЛФ досягнув (383,96±13,01) Од/л (p<0,05), тимолової проби – (1,20±0,06) Од/л (p<0,05) (табл.). Результати наших досліджень відповідають літературним даним [1, 2, 6, 7, 9–11].

Таблиця – Показники біохімічних досліджень при експериментальному токсичному гепатиті

Показник	1-ша експериментальна група (n=20)	2-га експериментальна група (n=20)	Контрольна група (n=5)
	без лікування	після лікування	
Загальний білок, г/л	35,63±0,94*	71,69±1,88**	71,10±1,45
Загальний білірубін, мкмоль/л	20,99±0,41*	4,58±0,20**	4,04±0,01
АлАТ, Од/л	133,37±2,36*	77,64±2,36**	83,24±2,60
АсАТ, Од/л	406,05±1,93*	260,89±5,83**	259,36±3,48
ЛФ, Од/л	941,79±19,36*	383,96±13,01**	400,20±10,62
Тимолова проба, Од/л	3,56±0,14*	1,20±0,06**	1,42±0,06

Примітка.* – достовірність порівняння з показниками без лікування (p<0,05); ** – достовірність порівняння з показниками після лікування (p<0,05).

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному токсичному гепатиті відбувається достовірне підвищення рівня трансаміназ.

2. За умов експериментального токсичного гепатиту спостерігають зниження рівня білка в крові у 2 рази.

3. Застосування метаболічної та гепатопротекторної терапії при експериментальному токсичному гепатиті призводить до поліпшення загального стану піддослідних тварин та достовірно покращує показники функції печінки.

4. У 60,0 % самок білих щурів за умов експериментального токсичного гепатиту порушується репродуктивна функція.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано продовжити дослідження ланок патогенезу порушень функції репродуктивної системи з метою оптимізації їх лікування, а також проблем реалізації репродуктивної функції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вивчення ліпотропної дії поліфенольних екстрактів з насіння винограду на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту / А. Л. Загайко, С. В. Заїка, О. А. Красільнікова, І. В. Сенюк // Укр. біофармац. журн. – 2012. – № 1–2 (18–19). – С. 46–49.
2. Голубєва М. Г. Лікувальний вплив амізону на перебіг експериментального алкогольно-тетрахлорметанового гепатиту / М. Г. Голубєва // Ліки. – 2003. – № 5–6. – С. 71–73.
3. Дубоссарская З. М. Теория и практика гинекологической эндокринологии / З. М. Дубоссарская. – Днепропетровск, 2005. – 409 с.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Перший національний конгрес з біоетики, Київ, 2001 р. // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.
5. Концепція державної цільової соціальної програми профілактики, діагностики та лікування вірусних гепатитів на період до 2016 року МОЗ України [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://aiddu.org.ua/wp-content/uploads/2014/10/unifikovaniy-protokol-gepatiti-2014.pdf>.
6. Короленко Т. А. Субклеточное распределение кислых гидролаз печени крыс при токсическом гепатите / Т. А. Короленко, А. Е. Кондрикова, В. Г. Титова // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1975. – 80, № 7. – С. 35–36.
7. Рикало Н. А. Экспериментальна модель хронічного тетрахлорметанового гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало // Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2009. – 9, № 2. – С. 116–118.
8. Швец Н. И. Лекарственные поражения печени, связанные с приемом антибиотиков / Н. И. Швец, Т. М. Бенца // Суч. гастроентерол. – 2009. – № 3. – С. 43–49.
9. Bhadauria M. Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats / M. Bhadauria, S. K. Nirala, S. Shukla // Food Chem. Toxicol. – 2008. – 46 (8). – P. 2703–2712.
10. Neoptolemos J. P. Fast fact: Diseases of the pancreas and biliary tract / J. P. Neoptolemos, M. S. Bhutani. – Oxford: Health Press, 2006. – P. 112–117.
11. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats / I. Kus, N. Colakoglu, H. Pekemez // Acta Histochem. – 2004. – 106 (4). – P. 289–297.

Л. Е. Лымарь

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ И БЕЛКОВООБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМОК БЕЛЫХ КРЫС И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РЕПРОДУКЦИЮ

Резюме

Проблема нарушений функции репродуктивной системы занимает одно из ведущих мест среди гинекологических заболеваний и продолжает быть актуальной, так как приводит к потере трудоспособности и снижению репродуктивной функции. Значительная роль в этом принадлежит не только генетически детерминированным особенностям организма, но и сопутствующей патологии. У женщин часто наблюдают сочетание нарушений функции репродуктивной системы с хроническими гепатитами различного генеза. Это побудило нас к проведению экспериментальной работы с целью детального изучения и анализа указанной проблемы. Было смоделировано хронический токсический гепатит у половозрелых самок белых крыс. Изучено результаты клинических, гистологических исследований, показатели иммунного и гормонального статуса, состояние ферментативной и белковообразовательной функций печени у подопытных животных, а также их репродуктивную функцию в условиях экспериментального токсического гепатита. Обследовано 60 половозрелых самок белых крыс, у которых смоделировано хронический токсический гепатит. Исследовано клинические проявления заболевания, состояние ферментативной, белковообразовательной функций печени и репродуктивную функцию этих животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ферментативная и белковообразовательная функции печени, хронический токсический гепатит, репродуктивная функция.

FEATURES OF ENZYMATIC AND PROTEIN- SYNTHESIZING FUNCTION OF THE LIVER IN EXPERIMENTAL CHRONIC TOXIC HEPATITIS IN MATURE FEMALE OF WHITE RATS AND THEIR IMPACT ON REPRODUCTION

Summary

The problem of functional disorders of the reproductive system is one of the leading places among gynecological diseases and continues to be relevant because not only leads to disability, but also to reduce the implementation of reproductive function. A significant role in this belongs not only genetically determined characteristics of the organism, but comorbidity. In women of reproductive age often there is a combination of the reproductive system dysfunction with chronic hepatitis of different genesis. This prompted us to conduct experimental work to detailed study and analysis of this problem. We simulated chronic toxic hepatitis in mature female rats. We studied the results of clinical, histological studies, indicators of immune and hormonal status, condition of enzymatic and protein- synthesizing liver function in experimental animals and their reproductive function in experimental toxic hepatitis. The study involved 60 sexually mature female rats, which simulated chronic toxic hepatitis. The clinical manifestations of the disease, condition of enzymatic and protein- synthesizing liver function and reproductive function of animals were investigated.

KEY WORDS: enzymatic and protein- synthesizing liver function, chronic toxic hepatitis, reproductive function.

Отримано 16.01.15

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

Н. Р. Дем'янчук¹, Б. М. Белявська², Л. Є. Лаповець¹, В. М. Акімова¹
 ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО¹
 КОМУНАЛЬНА МІСЬКА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ ШВИДКОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ², ЛЬВІВ

РІВЕНЬ ІL-8 У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ГРУДНОМУ МОЛОЦІ ПРИ ГНІЙНИХ ЛАКТАЦІЙНИХ МАСТИТАХ

Досліджено вміст ІL-8 у сироватці крові та грудному молоці жінок із лактостазом, гнійним лактаційним маститом і практично здорових жінок, які лактують. Встановлено підвищену концентрацію сироваткового ІL-8 у жінок із лактаційним маститом. Рівень досліджуваного хемокіну більш виражено зростає у грудному молоці жінок із лактостазом і лактаційним маститом, що вказує на локальність запальної реакції, активацію клітин неспецифічної резистентності організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ІL-8, запальний процес, лактостаз, лактаційний мастит, грудне молоко.

ВСТУП. Мастит – це запалення паренхіми молочної залози, що найчастіше (82–87 % випадків) виникає в післяпологовий період у жінок, які годують груддю (лактаційний мастит). Багато факторів пов'язують із підвищеним ризиком розвитку маститу, однак провідними є застій молока (лактостаз), інфекція, зниження загальної стійкості організму жінки [4, 8, 11, 13]. За останні роки встановлено важливу роль цитокінів у ініціації запалення, формуванні уродженого та набутого імунітету при різних інфекційних процесах [2, 6, 14].

Наведені в літературі дані про цитокіновий профіль при лактаційних маститах є нечисленими і неоднозначними. Це визначає актуальність їх подальшого дослідження для оцінки системного і місцевого імунітету, зокрема регуляції міграції клітин до осередку запалення в молочної залозі.

Метою роботи було визначити вміст ІL-8 у сироватці крові та грудному молоці при гнійних формах лактаційних маститів для оцінки активності, характеру і прогнозу запального процесу в молочної залозі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджено сироватку крові та грудне молоко 65 жінок віком від 18 до 36 років (середній вік – (26±5) років). Нормативні показники вмісту ІL-8 вивчено у 15 практично здорових жінок, які годують груддю, аналогічного віку (1-ша група), до 2-ї групи ввійшли 20 жінок із лактостазом, 3-тю групу

склали 30 жінок, у яких розвинувся гнійний лактаційний мастит. Вміст інтерлейкіну визначали методом імуноферментного аналізу (набір реагентів “Інтерлейкін-8-ИФА-БЕСТ”, Новосібірськ, Російська Федерація). Результати досліджень аналізували математичним методом – шляхом статистичної обробки одержаних даних із використанням методу варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 6 (Statsoft, USA) [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що ІL-8 продукується, головним чином, ендотеліальними клітинами, моноцитами, макрофагами під впливом бактерійних ендотоксинів і цитокінів (ІL-1, TNF, ІL-6 та ін.). ІL-8 виконує функцію хемотаксичного фактора для нейтрофілів, посилює їх прилипання до ендотеліальних клітин, сприяючи проникненню із судинного русла в інфіковану тканину [5, 10, 12]. Результати дослідження сироватки крові та грудного молока жінок із гнійним лактаційним маститом свідчать про зміни продукції ІL-8. Отримані результати наведено в таблиці.

Встановлено, що рівень ІL-8 у сироватці крові жінок, які ввійшли до 2-ї групи, в 1,6 раза більший від норми ($p < 0,05$; при нормі (2,4±0,09) пг/мл). Вміст ІL-8 у жінок 3-ї групи перевищував даний показник контрольної групи в 5 разів, а показник 2-ї групи – у 3 рази ($p < 0,05$). Таким чином, показники продукування ІL-8 лейкоцитами периферичної крові в обох групах жінок вищі за показники контрольної групи.

© Н. Р. Дем'янчук, Б. М. Белявська, Л. Є. Лаповець, В. М. Акімова, 2015.

Таблиця – Вміст IL-8 у сироватці крові та грудному молоці при гнійних лактаційних маститах (M±m)

IL-8, пг/мл	Група		
	1-ша (контрольна) n=15	2-га (лактостаз) n=20	3-тя (лактаційний мастит) n=30
Сироватка крові	2,4±0,09	3,9±0,38*	11,84±0,92*#
Грудне молоко	3,63±0,12	26,64±1,68*	50,77±1,58*#

Примітки:

- * – вірогідність відмінності показників порівняно з контрольною групою (p<0,05).
- # – вірогідність відмінності показників порівняно з 2-ю групою (p<0,05).

Високий рівень IL-8 в жінок, у яких виник лактаційний мастит, відображав активність запального процесу, а також свідчив про деструктивні процеси в паренхімі молочної залози під дією активованих нейтрофілів. Можливо, таке продукування цитокіну зумовлене двома причинами. По-перше, IL-8, як і інші хемокіни, синтезувався різними типами клітин, у даному випадку – нейтрофілами, лімфоцитами і моноцитами периферичної крові. По-друге, концентрація інтерлейкіну швидко зростала при активації клітини-продуцента – нейтрофіли самі починали продукувати IL-8, що призводило до додаткової стимуляції процесу виділення даного цитокіну.

Материнське молоко – це природний унікальний біологічний продукт з оптимальним співвідношенням усіх необхідних для дитини поживних речовин. Доведено, що грудне молоко містить велику кількість захисних імунних факторів (імуноглобуліни, лізоцим, олігосахариди й ін.), а також широкий спектр цитокінів і хемокінів [3, 7, 9]. Макрофаги є основною популяцією клітин у грудному молоці здорових жінок, які лактують, тоді як нейтрофіли переважають при запаленні молочної залози [7].

При дослідженні вмісту IL-8 у грудному молоці встановлено підвищення його концентрації в обох групах порівняно з показниками контрольної групи. У групі жінок із

лактостазом рівень IL-8 був у 7,6 раза більшим від норми (p<0,05). При розвитку лактаційного маститу він перевищував норму в 13,9 раза, а показники жінок, у яких виник лактостаз, – в 1,9 раза (p<0,05). Такі результати свідчать про значну активацію неспецифічної резистентності організму.

При розвитку запального процесу важливе значення має міграція нейтрофілів та інших клітин із крові в грудне молоко через епітелій молочних альвеол [7, 9]. За присутності IL-8 відбуваються процеси активації і дегрануляції нейтрофілів, які супроводжуються генерацією активних форм кисню, оксиду азоту, викидом лізоциму та інших медіаторів [5, 12]. Імовірно, підвищення продукування IL-8 сприяє швидкому завершенню запального процесу.

ВИСНОВКИ. 1. Виявлено ознаки гострого запального процесу в жінок із лактостазом.

2. Підвищена концентрація сироваткового IL-8 у жінок, в яких виник лактаційний мастит, зумовлена індукцією великої кількості бактеріальних антигенів у паренхімі молочної залози, що є ознакою запальної реакції організму.

3. Високий рівень хемокіну в грудному молоці свідчить про виражену участь клітин неспецифічної резистентності в реалізації запалення при лактостазі й лактаційних маститах.

4. Визначати вміст IL-8 можна для оцінки активності запального процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В. Боровиков. – СПб. : Питер, 2001. – 656 с.
2. Горюк Г. І. Сучасні уявлення про роль цитокінів у розвитку запалення та пухлинної прогресії / Г. І. Горюк, І. С. Кармазіна // Здобутки клініч. експерим. медицини. – 2008. – № 2. – С. 15–19.
3. Иммуногенные факторы грудного молока при его длительном хранении в условиях низких

температур / Е. И. Кондратьева, Д. Э. Хапачева, А. И. Тлиф, Л. А. Подпорина // Вопр. совр. педиатрии. – 2013. – **12**, № 1. – С. 172–176.

4. Ласачко С. А. Послеродовой мастит и лактостаз: тактика ведения // Основы репродуктивной медицины : практ. руковод. / С. А. Ласачко, О. Н. Долгошапка ; под ред. В. К. Чайки. – 2-е изд., испр. и доп. – Донецк : ЧП "Лавис", 2011. – С. 489–509.

5. Нікітін Є. В. Роль цитокінів у патогенезі інфекційних захворювань / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан, С. К. Сервецький // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 1. – С. 51–67.

6. Посібник з лабораторної імунології / [Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик, Г. Б. Лебець та ін.]. – Львів, 2014. – 290 с.

7. Протасова Н. В. Иммунология грудного молока / Н. В. Протасова, Н. А. Барабаш, Т. В. Переводчикова // *Мать и дитя*. – 2012. – № 3. – С. 60–67.

8. Пустотина О. А. Лактационный мастит и лактостаз / О. А. Пустотина, Ю. А. Павлютенкова // *Росс. вестн. акушера-гинеколога*. – 2007. – № 2. – С. 55–57.

9. Abou-Dakn M. Stillen / M. Abou-Dakn // *Die Geburtshilfe*. – 2011. – P. 1105–1123.

10. Ansorge S. Immunologie / S. Ansorge, M. Tager // *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. – 2014. – P. 893–930.

11. Eiermann W. Entzündungen der Brustdrüsen / W. Eiermann, B. Ataseven // *Die Gynakologie*. – 2013. – P. 609–616.

12. Martin S. Neutrophile Granulozyten: zentrale Säule des angeborenen Immunsystems / S. Martin, F. Weber // *Allergo Journal*. – 2013. – **22**, № 2. – P. 100–101.

13. Strauss A. Entzündliche Erkrankungen der weiblichen Brust / A. Strauss, L. Sanders, C. Strauss // *Der Gynakologe*. – 2014. – **47**, № 2. – P. 111–123.

14. Sudowe S. Zytokine regulieren Qualität der Immunantwort / S. Sudowe // *Allergo Journal*. – 2013. – **22**, № 3. – P. 166–167.

Н. Р. Демьянчук¹, Б. М. Белявская², Л. Е. Лаповец¹, В. Н. Акимова¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО¹
ГОРОДСКАЯ КОММУНАЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА НЕОТЛОЖНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ
ПОМОЩИ², ЛЬВОВ

УРОВЕНЬ IL-8 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ГРУДНОМ МОЛОКЕ ПРИ ГНОЙНЫХ ЛАКТАЦИОННЫХ МАСТИТАХ

Резюме

Исследовано содержание IL-8 в сыворотке крови и грудном молоке женщин с лактостазом, гнойным лактационным маститом и практически здоровых кормящих женщин. Установлено повышенную концентрацию сывороточного IL-8 у женщин с лактационным маститом. Уровень исследуемого хемокина более выражено возрастает в грудном молоке женщин с лактостазом и лактационным маститом, что указывает на локальность воспалительной реакции, активацию клеток неспецифической резистентности организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: IL-8, воспалительный процесс, лактостаз, лактационный мастит, грудное молоко.

N. R. Demianchuk¹, B. M. Beliavska², L. Ye. Lapovets¹, V. M. Akimova¹
DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY¹
COMMUNAL CITY CLINICAL EMERGENCY MEDICAL CARE HOSPITAL², LVIV

CONCENTRATION OF IL-8 IN BLOOD SERUM AND BREAST MILK WITH PURULENT LACTATION MASTITIS

Summary

The analysis of IL-8 concentration in blood serum and breast milk of the females, suffering from lactostasis, purulent lactation mastitis and of practically healthy lactating ones was carried out. An increased concentration of IL-8 was established with the females that suffer from lactation mastitis. The level of the analyzed chemokine distinctly increases in breast milk with lactostasis and lactation mastitis, it being the evidence of inflammatory reaction locality, as well as of the body non-specific resistance cells activation.

KEY WORDS: IL-8, inflammatory process, lactostasis, lactation mastitis, breast milk.

Отримано 16.01.15

Адреса для листування: Н. Р. Дем'янчук, вул. О. Гірника, 1/13, Львів, 79054, Україна, e-mail: Dem.natalia@i.ua.

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Метою даного дослідження було проаналізувати взаємозв'язки показників систем пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту при різних ступенях хронічного обструктивного захворювання легень з урахуванням віку хворих. Отримані результати показали, що захворювання супроводжується вираженими змінами в системі пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту, про що свідчать збільшення кількості малонового діальдегіду та зменшення кількості супероксиддисмутази в сироватці крові. При прогресуванні хронічного обструктивного захворювання легень має місце достовірне зростання рівня малонового діальдегіду в сироватці крові на фоні пригніченої активності ферменту антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази. З віком вміст малонового діальдегіду в сироватці крові пацієнтів збільшується, а супероксиддисмутази – зменшується. Зміни мають достовірний характер.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічне обструктивне захворювання легень, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза.

ВСТУП. Незважаючи на те, що в останні роки досягнуто значних успіхів у лікуванні хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), воно продовжує залишатись серйозною проблемою медицини. Значне поширення його у світі та Україні, відсутність даних про зниження рівня захворюваності, значні економічні збитки дають підставу вважати проблему діагностики даного захворювання пріоритетною. Згідно із сучасними даними, в основі патофізіології незворотної обструкції дихальних шляхів у хворих на ХОЗЛ лежить хронічний запальний процес, що супроводжується значним підвищенням активності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) біологічних мембран клітин і тісно пов'язаний з клінічними особливостями перебігу захворювання [5, 10].

Внаслідок окисного стресу в організмі накопичуються токсичні продукти ПОЛ, що є однією з причин розбалансування регуляції гомеостазу, які призводять до серйозних метаболічних порушень, зміни імунного статусу, погіршення функціонального стану різних систем організму [1]. У фізіологічних умовах інтенсивність процесів ПОЛ регулюється системою антиоксидантного захисту (АОЗ), яка захищає

© С. В. Лотоцька, 2015.

клітини й організм у цілому від токсичної дії вільних радикалів кисню і перекисів ліпідів, а також знешкоджує токсичні продукти, що проявляють мембранодеструктивний ефект [8]. Порушення окисно-антиоксидантного балансу призводить до окисного стресу, який є одним із провідних факторів розвитку хронічного неспецифічного запального процесу [2]. Дисбаланс у системі ПОЛ–АОЗ сприяє виникненню синдрому ендогенної метаболічної інтоксикації, зумовлює порушення цитокінового гомеостазу, викликає фрагментацію протеїнів, підвищує процеси деструкції мембран і клітин та концентрацію пептидів середньої молекулярної маси тощо [4].

Метою даного дослідження було проаналізувати взаємозв'язки показників систем ПОЛ та АОЗ при різних ступенях ХОЗЛ з урахуванням віку хворих.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Спостерігали за 132 хворими на ХОЗЛ, які перебували на стаціонарному лікуванні в I терапевтичному відділенні Тернопільської комунальної міської лікарні № 2. Усі добровільно погодились брати участь у дослідженні. Середній вік склав $(57,3 \pm 1,3)$ року, чоловіків було 82 (62,12 %), жінок – 50 (37,88 %).

Для встановлення діагнозу використовували рекомендації Глобальної стратегії діагностики, менеджменту та попередження ХОЗЛ (Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease) (2011), Адаптованої клінічної настанови “Хронічне обструктивне захворювання легень” (2013), Уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги та медичної реабілітації “Хронічне обструктивне захворювання легень” (2013) [9, 11, 13].

За класифікацією ВООЗ, усі хворі належали до п’яти вікових категорій: молодий вік (15–29 років) – 2 (1,5 %) пацієнти, зрілий (30–44 роки) – 11 (8,3 %), середній (45–59 років) – 69 (52,3 %), похилий (60–74 роки) – 41 (31,1 %) і старечий (75 років і старші) – 9 (6,8 %) хворих.

Обстежуваних було поділено на чотири групи: 1-шу (контрольну) склали 20 здорових людей, зіставних за віком і статтю; 2-гу – 25 хворих (18,9 %) з бронхообструкцією легкого ступеня тяжкості (GOLD 1); 3-тю – 57 пацієнтів (43,2 %) з бронхообструкцією середнього ступеня тяжкості (GOLD 2); 4-ту – 50 хворих (37,9 %) з тяжкою бронхообструкцією (GOLD 3).

Про інтенсивність процесів ПОЛ судили за вмістом малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові, який визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою за методом В. Н. Орехович [6]. Для вивчення антирадикального захисту досліджували активність одного з основних його ферментів – супероксиддисмутази (СОД) за методом С. Чеварі та ін. [12]. Ці показники у крові визначали спектрофотометричним методом. Достовірність відмінностей між групами оцінювали непараметричним методом за U-критерієм Вілкоксона (Манна-Уїтні) [7]. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що тривалий рецидивний перебіг захворювання супроводжувався виснаженням захисних механізмів і порушенням процесів ПОЛ. Так, згідно з даними таблиці 1, зі збільшенням тяжкості захворювання в пацієнтів підвищувався рівень МДА. Якщо при першому ступені ХОЗЛ цей показник зріс в 1,3 раза ($>0,05$) порівняно з контролем, то при другому і третьому ступенях був, відповідно, у 2 ($p<0,05$) і 2,2 ($p<0,05$) раза більшим.

Активність процесів ПОЛ у разі загострення ХОЗЛ супроводжувалася вірогідним зниженням контамінаційної здатності основного ферменту антиоксидантного захисту – СОД. Зниження рівня даного показника було пропорційним до ступеня захворювання. Так, при першому ступені вміст СОД зменшився, порівняно з контролем, в 1,2 раза ($p<0,05$), при другому – в 1,3 раза ($p<0,05$), а при третьому – в 1,6 раза ($p<0,05$).

Порівнювали показники ПОЛ у пацієнтів зрілого, середнього, похилого і старечого віку (табл. 2).

Як свідчать дані таблиці 2, з віком рівень СОД у сироватці крові пацієнтів зменшувався статистично достовірно порівняно зі здоровими людьми, за винятком осіб зрілого віку. Порівнюючи між собою пацієнтів різних вікових груп, з’ясували, що зміни кількості СОД у старечому віці були найбільш вираженими, і цей показник знизився, порівняно з хворими зрілого віку, на 67 % ($p<0,05$). Встановлено, що з віком вміст СОД у сироватці крові мав тенденцію до зменшення.

Разом із тим, вміст МДА в сироватці крові зростав ($p<0,05$), порівняно з контрольною групою, практично в усіх вікових групах обстежуваних, окрім зрілого. При збільшенні віку пацієнтів даний показник мав тенденцію до збільшення.

Таким чином, у результаті комплексної оцінки наведених результатів було отримано підтвердження, що ХОЗЛ супроводжується

Таблиця 1 – Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в сироватці крові хворих на ХОЗЛ ($M\pm m$)

Показник	1-ша група (n=20)	2-га група (n=25)	3-тя група (n=57)	4-та група (n=50)	P_{II-III}	P_{II-IV}	P_{III-IV}
МДА, мкмоль/л	2,86±0,21	3,61±0,33	5,94±0,66	6,18±0,29	<0,05	<0,05	<0,05
p_k		>0,05	<0,05	<0,05			
СОД, ум. од./мг	64,22±3,73	55,24±2,82	50,48±3,82	40,28±2,18	<0,05	<0,05	<0,05
p_k		<0,05	<0,05	<0,05			

Примітки:

1. p_k – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи.
2. P_{II-III} , P_{II-IV} , P_{III-IV} – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Таблиця 2 – Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в сироватці крові хворих на ХОЗЛ різного віку (M±m)

Показник	Контроль (n=20)	Вікова категорія				p ₁	p ₂	p ₃	p ₄	p ₅	p ₆
		зрілий вік (n=11)	середній вік (n=69)	похилий вік (n=41)	старечий вік (n=9)						
МДА	2,86±0,21	3,58±0,53	5,62±0,53	6,01±0,43	5,92±0,74	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
p _k		>0,05	<0,05	<0,05	<0,05						
СОД	64,22±3,73	53,8±3,87	48,41±2,72	47,33±4,18	35,98±2,86	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
p _k		>0,05	<0,05	<0,05	<0,05						

Примітки:

1. p_k – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи.
2. p₁ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ зрілого і середнього віку.
3. p₂ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ зрілого і похилого віку.
4. p₃ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ зрілого і старечого віку.
5. p₄ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ середнього і похилого віку.
6. p₅ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ середнього і старечого віку.
7. p₆ – достовірність відмінностей між показниками хворих на ХОЗЛ похилого і старечого віку.

активацією вільнорадикальних процесів, коли створюються умови для додаткового накопичення в організмі пацієнтів різноманітних ендотоксинів, зниженням антиоксидантної функції. Оксиданти формують дисбаланс у системі протеоліз–антипротеоліз. Внаслідок окисного стресу, який виникає при ХОЗЛ, в організмі накопичуються токсичні продукти ПОЛ, що є однією з причин розбалансування регуляції гомеостазу і призводить до серйозних метаболічних порушень, зміни імунного статусу, порушення функціонального стану різних систем [14, 15]. Відомо, що у хворих на ХОЗЛ процеси ПОЛ проходять інтенсивно і залежать від прояву легеневої недостатності [3]. Інтенсифікація ПОЛ призводить до набряку слизової оболонки бронхів за рахунок виходу біологічно активних речовин із погіршенням мікроциркуляції тканин. Продукти ПОЛ знижують мукоциліарний транспорт, підвищують проникність мембран, як наслідок – виникнення гіперсекреції. Активація процесів ПОЛ зумовлює пошкодження клітинних мембран та їх рецепторного апарату, спричиняючи бронхоспазм і дисбаланс β-адренергічної системи.

Тому аналіз отриманих даних показав, що з віком зростають показники ПОЛ на фоні пригніченої активності ферментів АОЗ.

У хворих на ХОЗЛ відмічали зміни показників у системі вільнорадикального окиснення, що свідчило про нестабільність компенсаторних можливостей системи АОЗ (зокрема СОД), яка може бути одним із чинників частих рецидивів захворювання. Ефективний контроль за станом процесів у системі ПОЛ–АОЗ відіграє важливу роль в оцінці перебігу ХОЗЛ і корекції захисних функцій організму.

ВИСНОВКИ. 1. ХОЗЛ супроводжується вираженими змінами в системі ПОЛ–АОЗ, про що свідчать збільшення кількості МДА та зменшення кількості СОД у сироватці крові.

2. При прогресуванні ХОЗЛ має місце зростання рівня МДА в сироватці крові на фоні пригніченої активності ферменту антиоксидантного захисту – СОД.

3. З віком вміст МДА в сироватці крові пацієнтів збільшується, а СОД – зменшується. Зміни суттєві порівняно з контрольною групою.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Габор М. Л. Стан антиоксидантного захисту, процеси перекисного окислення ліпідів та цитокіновий статус у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / М. Л. Габор, О. І. Лемко // Укр. мед. альм. – 2010. – **13**, № 3. – С. 40–42.
2. Иванов О. С. Состояние про- и антиоксидантной активации у детей с аллергическими заболе-

ваниями респираторного тракта / О. С. Иванов, В. В. Лазарев, Е. В. Гамиева // Аллергол. и иммунол. – 2009. – **10**, № 2. – С. 195.

3. Изменения перекисного окисления липидов при бронхиальной обструкции / Е. А. Вострикова, О. В. Кузнецова, И. Т. Ветлугаева [и др.] // Пульмонология. – 2006. – № 1. – С. 64–67.

4. Карімов І. З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології / І. З. Карімов // Лаб. діагностика. – 2005. – № 1 (31). – С. 7–13.
5. Масік Н. П. Етіопатогенетичні механізми полісистемних порушень у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень / Н. П. Масік // Укр. терапевт. журн. – 2007. – № 4. – С. 118–123.
6. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М. : Медицина, 1977. – 268 с.
7. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
8. Регеда М. С. Роль порушень перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в трахеї морських свинок у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту та їх корекція тіотріазолоном / М. С. Регеда, М. Л. Байда // Екперим. та клініч. фізіологія і біохімія. – 2013. – № 1. – С. 47–51.
9. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги та медичної реабілітації “Хронічне обструктивне захворювання легень” : наказ МОЗ України від 27.06.13 № 555. – К. : Міністерство Охорони Здоров'я України, 2013. – 92 с.
10. Фещенко Ю. І. Хронічні обструктивні захворювання легень: проблемні питання / Ю. І. Фещенко // Нова медицина. – 2005. – № 1. – С. 18–20.
11. Хронічне обструктивне захворювання легень. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах : наказ МОЗ України від 27.06.13 № 555.
12. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
13. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (Updated 2011) // Medical Communications Resources, 2012. – Access mode: <http://www.goldcopd.org>.
14. Increased oxidative stress in asymptomatic current chronic smokers and GOLD stage 0 COPD / P. Ryttila, T. Rehn, H. Ilumets [et al.] // Respir. Res. – 2006. – **28**, № 7. – P. 69.
15. Yigla M. Oxidative stress indices in COPD–Bronchoalveolar lavage and salivary analysis / M. Yigla, Y. Berkovich, R. M. Nagler // Arch. Oral. Biol. – 2007. – **52**, № 1. – P. 36–43.

С. В. Лотоцкая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ

Резюме

Целью данного исследования было проанализировать взаимосвязи показателей систем пероксидного окисления липидов и антиоксидантной защиты при различных степенях хронического обструктивного заболевания легких с учетом возраста больных. Полученные результаты показали, что заболевание сопровождается выраженными изменениями в системе пероксидного окисления липидов и антиоксидантной защиты, о чем свидетельствуют увеличение количества малонового диальдегида и уменьшение количества супероксиддисмутазы в сыворотке крови. При прогрессировании хронического обструктивного заболевания легких имеет место достоверное возрастание уровня малонового диальдегида в сыворотке крови на фоне подавленной активности фермента антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы. С возрастом содержание малонового диальдегида в сыворотке крови пациентов увеличивается, а супероксиддисмутазы – уменьшается. Изменения носят достоверный характер.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническое обструктивное заболевание легких, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза.

CHANGING RATES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Summary

The aim of the research was to analyze the relationship of performance lipid peroxidation and antioxidant protection at different stages of chronic obstructive pulmonary disease, considering the age of the patients. The results showed that the disease is accompanied by marked changes in the system lipid peroxidation-antioxidant protection, as evidenced by the increasing number of malonic dialdehyde and reducing superoxide dismutase in serum. With the progression of chronic obstructive pulmonary disease has been a significant increase in malonic dialdehyde in serum oppressed against the background activity of antioxidant enzymes – superoxide dismutase. With increasing age malonic dialdehyde content in the serum of patients increased, and superoxide dismutase – decreased. Changes were reliable.

KEY WORDS: chronic obstructive pulmonary disease, malonic dialdehyde, superoxide dismutase.

Отримано 16.01.15

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

РОЛЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ У ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ І КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ КОРВІТИНОМ

Результати дослідження показали неспроможність системи антиоксидантного захисту утилізувати продукти пероксидного окиснення ліпідів при експериментальній пневмонії за умов стресу та її виснаження в пізні періоди (6-та і 10-та доби) захворювання. При використанні корвітину, що має мембраностабілізуювальну, імунокоригувальну, протизапальну дію, зменшилась пошкоджувальна дія продуктів пероксидного окиснення ліпідів і значно підвищився антиоксидантний захист. Це свідчить про коригувальний вплив корвітину на показники прооксидантної та антиоксидантної систем і дає можливість для подальшого вивчення і проведення експериментальних досліджень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту, експериментальна пневмонія, іммобілізаційний стрес, корвітин.

ВСТУП. Пневмонія займає провідне місце в структурі захворюваності органів дихання. Питання, яке стосується патогенезу, ранньої діагностики та терапії, набуло особливої гостроти і є одним з актуальних у сучасній пульмонології. Захворювання складає 30–40 % від усіх захворювань легень, а у структурі загальної патології – лише 0,33 %, та посідає четверте місце серед причин смертності. Летальність від пневмонії зростає від 1 до 9 %, а за умови розвитку тяжких її ускладнень у реанімаційних відділеннях сягає 40–50 %. Захворювання у XXI ст. залишається важливою медико-соціальною проблемою, тому що призводить до значних економічних збитків, спричиняє періоди непрацездатності. На сьогодні у практичній роботі лікаря часто зустрічається як гіпо-, так і гіпердіагностика пневмонії. Як відомо, несвоєчасна і хибна діагностика та неправильне лікування викликають розвиток тяжких ускладнень [4, 6, 7].

Залишається не повністю з'ясованим патогенез розвитку пневмонії, не вивчено питання, які стосуються ролі прооксидантної (дієнові кон'югати, малоновий діальдегід) та антиоксидантної (супероксиддисмутаза, каталаза) систем у печінці в різні періоди розвитку пневмонії за умов іммобілізаційного стресу.

Що стосується корекції порушень вільнорадикального окиснення і стану антиоксидант-

ного захисту за умов формування різних патологічних процесів в організмі, то перспективним є застосування біофлавоноїдів, серед яких особливе місце займає природний флавоноїд – кверцетин, а саме його водорозчинна форма – корвітин. Даний препарат має антиоксидантні, протизапальні, протинабрякові, антигістамінні та імуномодельючі властивості [1].

Тому метою даного дослідження було з'ясувати роль процесів ліпопероксидації та антиоксидантної системи в патогенезі експериментальної пневмонії (ЕП) за умов іммобілізаційного стресу (ІС) в експерименті й обґрунтувати доцільність застосування корвітину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на 48 морських свинках (самцях) масою 180–220 г, яких поділили на шість груп: 1-ша – контрольні (інтактні) тварини (8); 2-га – тварини з ЕП та ІС (8) на 1-шу добу до лікування; 3-тя – тварини з ЕП та ІС (8) на 3-тю добу до лікування; 4-та – тварини з ЕП та ІС (8) на 6-ту добу до лікування; 5-та – тварини з ЕП та ІС (8) на 10-ту добу до лікування; 6-та – тварини з ЕП та ІС на 10-ту добу після лікування корвітином, який вводили внутрішньом'язово у дозі 40 мг/кг маси впродовж 10 днів.

Експериментальну модель пневмонії відтворювали шляхом інтраназального зараження тварин культурою *Staphylococcus aureus* за

методом В. Н. Шляпникова, Т. Л. Солодової, С. А. Степанова [8], іммобілізаційний стрес – за методом П. Д. Горизонтова, О. І. Белоусова (1983) шляхом нетравматичної фіксації тварин на спині впродовж 3 год [3].

Потім декапітували інтактних тварин та морських свинок під ефірним наркозом на 1-шу, 3-тю, 6-ту і 10-ту доби розвитку ЕП та ІС до та після лікування корвітином на 10-ту добу експерименту.

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної [2], малонового діальдегіду (МДА) – за методом Є. Н. Коробейникова [5], активність супероксиддисмутази (СОД) – за методом R. Fried [9], каталази (КТ) – за R. Holmes [10].

Опрацьовували цифрові дані методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під час експериментальних досліджень спостерігали зміну активності системи антиоксидантного захисту та пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у динаміці розвитку експериментальної пневмонії за умов іммобілізаційного стресу.

Вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду визначали для оцінки інтенсивності процесів ПОЛ. Дієнові кон'югати – первинні продукти ПОЛ. Серед показників ПОЛ одним із найважливіших є малоновий діальдегід – кінцевий продукт ліпопероксидації, і його частка складає 40 % від усіх продуктів окиснення ліпідів.

За умови поєднання патологічних процесів – експериментальної пневмонії та іммобілізаційного стресу вже на 1-шу добу спостерігали значне зростання в печінці показників як ПОЛ, так і антиоксидантної системи: збіль-

шення СОД на 111 % ($p < 0,05$) і КТ на 80 % ($p < 0,05$), а також підвищення активності МДА на 50 % ($p < 0,05$) та ДК на 65,2 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем, що свідчило про активацію процесів пероксидації та антиоксидантної системи в морських свинок (рис. 1). На 3-тю добу ЕП та ІС надалі зберігалося накопичення продуктів ПОЛ – зростання ДК на 100 % ($p < 0,05$) і МДА на 61,5 % ($p < 0,05$) та паралельно зростали показники СОД на 123 % ($p < 0,05$) і каталази на 7 % ($p < 0,05$) відповідно до величин інтактних тварин, що вказувало на продовження стимуляції прооксидантних та антиоксидантних систем і на збереження рівноваги між ПОЛ та антиоксидантною системою. Пізніше, на 6-ту добу, відзначали виснаження антиоксидантної системи – зменшення СОД на 47 % ($p < 0,05$) і каталази на 61 % ($p < 0,05$) та значне нагромадження продуктів пероксидного окиснення ліпідів у печінці – зростання вмісту ДК на 95,6 % ($p < 0,05$) і МДА на 77 % ($p < 0,05$) проти величин інтактних тварин, що свідчило про значну стимуляцію прооксидантної і пригнічення антиоксидантної систем. На 10-ту добу ЕП та ІС до лікування встановлено подальше пригнічення антиоксидантного захисту – зниження СОД на 56 % ($p < 0,05$) і КТ на 63 % ($p < 0,05$) та продовження накопичення продуктів ПОЛ – збільшення ДК на 104 % ($p < 0,05$) і МДА на 92 % ($p < 0,05$) порівняно з 1-ю групою тварин.

Після десятиденного лікування корвітином морських свинок з ЕП за умов ІС спостерігали значне пригнічення ПОЛ – зменшення ДК на 34 % ($p < 0,05$) і МДА на 30 % ($p < 0,05$) та зростання показників антиоксидантної системи – збільшення СОД на 96 % ($p < 0,05$) і КТ на 85 % ($p < 0,05$) порівняно з групою інтактних тварин, яких не піддавали дії цього препарату (рис. 2).

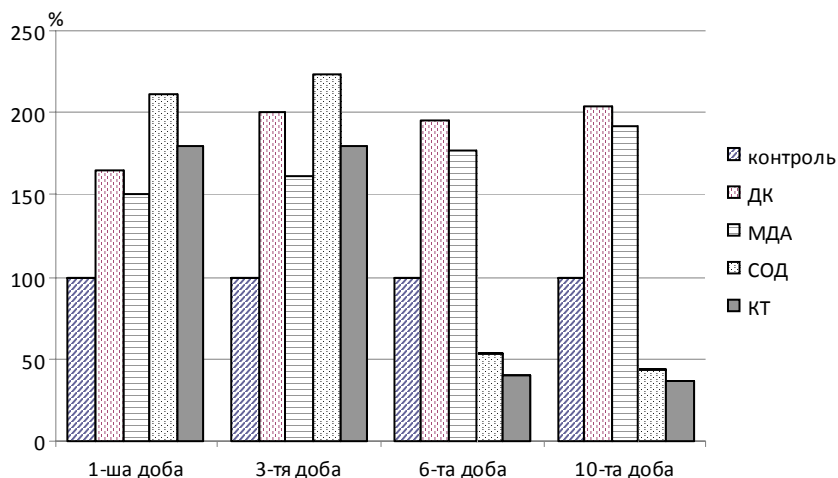


Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ і стан антиоксидантної системи в печінці у динаміці розвитку ЕП за умов ІС (% від контролю).

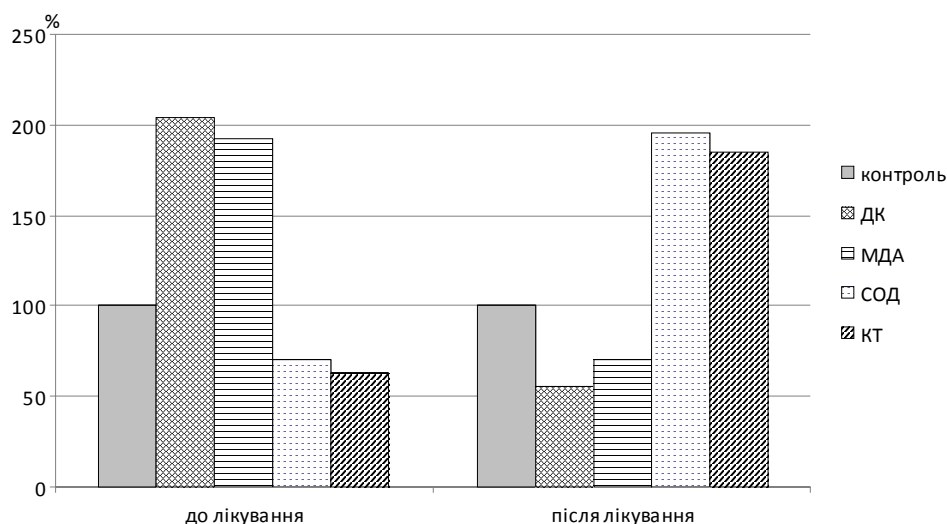


Рис. 2. Вплив корвітину на вміст ДК і МДА та активність СОД і КТ у печінці на 10-ту добу ЕП за умов ІС (% до та після лікування корвітином).

ВИСНОВКИ. Антиоксидантна система не спроможна утилізувати продукти ПОЛ при експериментальній пневмонії за умов стресу, відзначено її виснаження в пізні періоди (6-та і 10-та доби) захворювання. При застосуванні корвітину, що має мембраностабілізуючу, імунокоригувальну, протизапальну дію, змен-

шилась пошкоджувальна дія продуктів ПОЛ та значно підвищився антиоксидантний захист. Це свідчить про коригувальний вплив корвітину на показники прооксидантної та антиоксидантної систем і дає можливість для подальшого вивчення і проведення експериментальних досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Биофлавоноиды как органопротекторы кверцетин, корвитин, квертин / под ред. А. А. Мобейко. – К. : Наукова думка, 2012. – 274 с.
2. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К. : Здоровье, 1989. – С. 170–171.
3. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотов. – М. : Медицина, 1983. – 338 с.
4. Казанцев В. А. Пневмония / В. А. Казанцев, Б. Б. Удальцов. – СПб. : Спец.Лит, 2003. – 118 с.
5. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
6. Регада М. С. Пневмония / М. С. Регада. – 3-е вид. – Львів : Сполом, 2005. – 138 с.
7. Регада М. С. Пульмонологія : навч. посіб. / М. С. Регада, І. Г. Гайдучок. – 2-ге вид. – Львів : Сполом, 2000. – 436 с.
8. Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патогенными бактериями, и их ассоциаций : метод. рек. / [В. Н. Шляпников, Т. Л. Солодова, С. А. Степанов и др.]. – Саратов : Саратовский медицинский институт, 1988. – 30 с.
9. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii / R. Fried // Biochemie. – 1975. – 57, № 5. – P. 657–660.
10. Holmes R. epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holms, C. Masters // FEBSLett. – 1970. – 11, № 1. – P. 45–48.

РОЛЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПЕЧЕНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ И ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И КОРРЕКЦИЯ ИХ НАРУШЕНИЙ КОРВИТИНОМ

Резюме

Результаты исследования показали несостоятельность системы антиоксидантной защиты утилизировать продукты пероксидного окисления липидов при экспериментальной пневмонии в условиях стресса и ее истощение в поздние периоды (6-е и 10-е сутки) заболевания. При использовании корвитина, который обладает мембраностабилизирующим, иммунокорригирующим, противовоспалительным действиями, уменьшилось повреждающее действие продуктов пероксидного окисления липидов и значительно повысилась антиоксидантная защита. Это свидетельствует о корректирующем влиянии корвитина на показатели прооксидантной и антиоксидантной систем и дает возможность для дальнейшего изучения и проведения экспериментальных исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пероксидное окисление липидов, система антиоксидантной защиты, экспериментальная пневмония, иммобилизационный стресс, корвитин.

N. M. Ferents, V. R. Yurevych
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN LIVER IN THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA AND IMMOBILIZATION STRESS AND CORRECTION OF THEIR VIOLATIONS BY CORVITIN

Summary

The results showed the inability of the antioxidant system recycled products of lipid peroxidation in experimental pneumonia under stress and its depletion in the early periods of the disease. When using Corvitin that has membrane stabilizing, immunotherapy, anti-inflammatory action, decreased damaging effect of lipid peroxidation products and a significant increase in antioxidant protection. This demonstrates the impact of adjustment on indicators Corvitin prooxidant and antioxidant systems and provides an opportunity for further study and experimental research.

KEY WORDS: lipid peroxidation, antioxidant protection system, experimental pneumonia, immobilization stress, Corvitin.

Отримано 20.01.15

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

СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТВАРИН З ПОЛІТРАВМОЮ ПІСЛЯ ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ КОРЕКЦІЇ

У статті показано зміни показників антиоксидантного захисту за умов політравми при внутрішньочеревному введенні препарату ліпофлаону та комплексу ліпофлаону, пентоксифіліну і селективного інгібітора iNOS – N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідину (1400W). Встановлено, що проведення комплексної корекції призводить до більш вираженої зміни активності антиоксидантних ферментів, ніж використання монопрепарату. Найсуттєвіший ефект запропонованої комбінації спостерігають на 7-му добу експерименту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма, ліпофлаон, пентоксифілін, каталаза, супероксиддисмутаза, селективний інгібітор iNOS – N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідин (1400W).

ВСТУП. Травматизм серед молодого і працездатного населення (вікова група до 35 років) є основною причиною смерті, а серед підлітків та юнаків цей показник досягає 80 % [1].

Одним з основних положень усіх сучасних концепцій патогенезу різних захворювань, у тому числі й тяжкої травми, є порушення структури клітинної мембрани, універсальним фактором пошкодження якої є пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) [2, 7]. Стаціонарний рівень вільнорадикального окиснення і ПОЛ в організмі підтримується завдяки активності ферментних і неферментних антиоксидантних систем. Початкові стадії процесу вільнорадикального окиснення контролюються супероксиддисмутазою (СОД), яка дезактивує супероксидний радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект активних форм кисню. Пероксид водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніона, розкладається каталазою (КТ). Важлива роль у метаболізмі пероксиду водню належить каталазі, яка міститься в клітині у великій концентрації. Каталаза значно поширена в тканинах, і особливо висока її активність в еритроцитах.

Проте донині до кінця нез'ясованим залишається питання щодо ролі активності антиоксидантних ферментів у патогенезі системних відхилень при політравмі [5]. Різноманітність змін в організмі постраждалих з політравмою вимагає розробки нових і вдосконалення відомих методів лікування. Досі не

вивчали вплив ліпофлаону, пентоксифіліну та селективного інгібітора iNOS – N-(3-(амінометил)бензил)ацетамідину (1400W) у комплексному лікуванні травматичної хвороби [8].

Метою даної роботи було вивчити вплив комплексу препаратів, а саме ліпофлаону, пентоксифіліну та селективного інгібітора iNOS – 1400W, на активність антиоксидантних ферментів за умов множинної травми.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 40 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Дослідження виконували відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Як прототип було вибрано модель тяжкої скелетної травми [4], відповідно до якої тварин спочатку іммобілізували на 2 год, а далі під тіопентало-натрієвим знеболюванням (60 мг·кг⁻¹ маси тіла) в асептичних умовах викликали кровотечу зі стегнової вени (близько 20 % об'єму циркулюючої крові, 1 мл якої вводили у паранефральну зону для формування гематоми). Потім з оперативного доступу щипцями Люера ламали стегнову кістку, рану на стегні зашивали.

Тварин утримували ізольовано одна від одної і поділили на три групи: до 1-ї ввійшли інтактні щури, які перебували у стандартних умовах віварію; тваринам 2-ї групи вводили ліпофлавін внутрішньочеревно щоденно в дозі 25 мг/кг маси щура протягом 7 днів; щури 3-ї групи з політравмою отримували внутрішньочеревно комплекс ліпофлавіну (25 мг/кг), селективного інгібітора iNOS – 1400W (“Sigma”, США; 1,5 мг/кг) та пентоксифіліну (2 % водного розчину в дозі 25 мг/кг).

Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 1-шу, 3-тю і 7-му доби експерименту, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Для оцінки стану АОЗ у крові визначали активність каталази [3] та супероксиддисмутази [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведення комплексної корекції супроводжувалось більш швидким відновленням активності КТ і СОД у печінці на фоні змодельованої політравми порівняно з монотерапією ліпофлавіном (2-га група). Так, на 1-шу добу активність

КТ у печінці тварин з політравмою, яким проводили корекцію комплексом ліпофлавіну, пентоксифіліну та 1400W, на 5,4 % була вищою, ніж у групі щурів, яким внутрішньочеревно вводили лише ліпофлавін. На 3-тю добу активність досліджуваного ензиму більшою мірою була вищою у цих самих тварин. Комплекс досліджуваних чинників найбільш виражений коригувальний вплив проявив на 7-му добу експерименту. В цей термін досліджуваність каталази у печінці тварин, які отримували комплексну терапію, на 8,7 % статистично достовірно перевищувала досліджуваний показник у щурів, яким вводили лише ліпофлавін (табл.). Можна припустити, що проведення комплексної корекції сприяє більш інтенсивному відновленню активності КТ у ранній період травматичної хвороби.

Активність захисного ферменту СОД мала таку динаміку. На 1-шу добу експерименту вона на 26,1 % статистично достовірно перевищувала активність СОД у тварин, які отримували лише ліпофлавін. На 3-тю і 7-му доби спостереження активність СОД була, відповідно, на 14 і 32,3 % більшою, ніж у щурів, яким проводили монотерапію ліпофлавіном.

Таблиця – **Активність антиоксидантних ферментів у печінці щурів з політравмою після комплексної корекції (M±m, n=10)**

Показник	Група тварин						
	1-ша (контроль)	2-га (ліпофлавін)			3-тя (комплексна корекція)		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
КТ, мкат·кг ⁻¹	3,98±0,28	3,33±0,16	3,38±0,16	3,4±0,12	3,52±0,03	3,6±0,05	3,72±0,10 p<0,05
СОД, ум. од./мг	4,83±0,15	2,76±0,17	3,34±0,31	2,74±0,38	3,73±0,10 p<0,05	3,88±0,12 p<0,05	4,04±0,15 p<0,05

ВИСНОВОК. Запропонована комплексна корекція сприяє швидшому відновленню актив-

ності антиоксидантних ферментів у печінці при експериментальній політравмі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян В. В. Политравма: проблема и практические вопросы / В. В. Агаджанян // Политравма. – 2006. – № 1. – С. 5–8.
2. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // Журн. Акад. мед. наук України. – 2004. – **10**, № 1. – С. 131–150.
3. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, Н. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

4. Пат. 63997 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання політравми / Козак Д. В. ; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського. – № u 201104110 ; заявл. 05.04.11 ; опубл. 25.10.11, Бюл. 20.
5. Підручна С. Р. Активність глутатіонової ланки ферментативної антиоксидантової системи в патогенезі тяжкого травматичного ураження / С. Р. Підручна // Літопис травматології та ортопедії. – 2013. – № 1–2 (25–26). – С. 15–17.
6. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения

ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

7. Multiple organ dysfunction during resuscitation is not postinjury multiple organ failure / D. J. Ciesla, E. E. Moore, J. L. Johnson [et al.] // Arch. Surg. – 2004. – **139**. – P. 590–594.

8. Pentoxifylline prevents the transition from the hyperdynamic to hypodynamic response during sepsis / S. Yang, M. Zhou, D. J. Koo, P. Wang // Am. J. Heart and Circulatory Physiology. – 1999. – **277** (Issue 3). – P. 1036–1044.

Е. О. Кулянда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЖИВОТНЫХ С ПОЛИТРАВМОЙ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ КОМПЛЕКСНОЙ КОРРЕКЦИИ

Резюме

В статье показаны изменения показателей антиоксидантной защиты в условиях политравмы при внутрибрюшинном введении препарата липофлавона и комплекса липофлавона, пентоксифиллина и селективного ингибитора iNOS – N-(3-(аминометил)бензил)ацетамидина (1400W). Установлено, что проведение комплексной коррекции приводит к более выраженному изменению активности антиоксидантных ферментов, чем использование монопрепарата. Более существенный эффект предложенной комбинации наблюдают на 7-е сутки эксперимента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма, липофлавон, пентоксифиллин, каталаза, супероксиддисмутаза, селективный ингибитор iNOS – N-(3-(аминометил)бензил)ацетамидин (1400W).

О. О. Kulyanda

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

ANTIOXIDANT PROTECTION STATUS OF ANIMALS WITH POLYTRAUMA AFTER COMPREHENSIVE CORRECTION

Summary

The article presents the changes in rates of antioxidant protection in conditions of polytrauma when administered intraperitoneally drug Lipoflavin and complex Lipoflavin, pentoxifylline and selective inhibitor of iNOS – N-(3-(aminomethyl)benzyl) atsetamidyn (1400W). It is shown that the use of complex correction leads to a more pronounced change in antioxidant enzyme activity than the use of mono-drugs. The most significant effect of the proposed combination observed on the 7th day of the experiment.

KEY WORDS: polytrauma, Lipoflavin, pentoxifylline, catalase, superoxide dismutase, selective inhibitor of iNOS – N-(3-(aminomethyl)benzyl) atsetamidyn (1400W).

Отримано 16.01.15

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

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ В МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ І ПЕРЕБІГУ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПАРОДОНТІ

У статті проаналізовано літературні дані щодо ролі інфекційних, метаболічних та імунопатогенетичних порушень у розвитку запальних процесів у тканинах пародонта. Показано, що зміни мікробіоценозу порожнини рота, імунопатогенетичні порушення, оксидативний стрес є ініціаторами розвитку запальних процесів у тканинах пародонта. При цьому звертається увага на джерела утворення активних форм кисню, їх роль у мембранних процесах як посередників утворення простагландинів, цитокінів, які визначають характер запальної реакції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, мікробіоценоз, імунопатогенез, запальний процес, активні форми кисню, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

Генералізований пародонтит (ГП) належить до поліетіологічних захворювань із різними механізмами розвитку. Серед факторів ризику вирішальне значення мають порушення мікробіоценозу порожнини рота і дисбаланс імунної системи організму, недостатність антиоксидантного захисту та транскапілярного обміну в навколорізних тканинах [11, 12, 26, 34].

У механізмах розвитку запально-деструктивних процесів у тканинах пародонта важливу роль відіграють порушення мікроциркуляції і транскапілярного обміну на тлі вираженої гіпоксії. З усіх наслідків і ускладнень гіпоксії найбільш серйозними є інтенсифікація вільнорадикального окиснення та пригнічення антиоксидантного захисту біологічних тканин і середовищ [12, 27]. Активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – пусковий механізм стресорних пошкоджень з порушенням метаболізму клітин, які перш за все пов'язані з пошкодженням клітинних і субклітинних мембран [7, 17].

Активація ПОЛ і зниження антиоксидантної активності сприяють накопиченню вільного й етерифікованого холестеролу, лізофосфатидів, кардіоліпіну, фосфатидилхоліну, зменшенню неетерифікованих жирних кислот та ін. [31, 51, 55]. Ці зміни порушують динамічну стабільність мембран еритроцитів і сприяють розвитку патологічного процесу в пародонті [8, 25, 28].

Наукові факти свідчать про важливу ініціюючу роль оксидативного стресу в патогенезі запального процесу і пародонтитів зокрема, що дозволяє розглядати процес пероксидації

© А. Є. Демкович, 2015.

ліпідів та нагромадження токсичних його продуктів у слині разом із зниженням антиоксидувального її потенціалу як потенційні предиктори запального ураження пародонта [6, 59]. Зокрема, встановлено, що порушення антиоксидантного захисту у хворих на ГП, виявлене на підставі змін активності каталази, церулоплазміну та насиченості трансферину залізом і збільшення рівня дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів у сироватці крові, призводить до розвитку синдрому ендогенної інтоксикації у хворих [2, 12, 21].

Одним із головних ферментів антирадикального захисту, які здатні інактивувати пероксид водню, є каталаза (КТ). Вона перебуває в синергічних відношеннях із супероксиддисмутазою, тому визначення їх активності має суттєве значення для оцінки антиоксидантної системи організму [14, 58]. Установлено, що в ротовій рідині пацієнтів із хронічним генералізованим пародонтитом знижується активність каталази та супероксиддисмутази [21].

Поряд із тим одним із важливих показників мінерального обміну є лужна фосфатаза. Цей фермент міститься у кістковій тканині, в основному в мембранах остеобластів, тому є безпосереднім маркером активності остеобластів щодо кісткоутворення. Підвищення його активності в сироватці крові при лікуванні хворих на генералізований пародонтит I-III ступенів можна визнати як ознаку підсиленого кісткового формування [1]. У процесі розвитку модельованого пародонтиту відбувається інтенсифікація активності остеокластів. Марке-

ром остеокластичної активності вважають кислу фосфатазу [69].

На даному етапі розвитку вчення про причини виникнення і розвитку генералізованого пародонтиту вважають, що вирішальну роль відіграє дисфункція імунної системи. Це викликало підвищений інтерес до вивчення поліморфізму та експресії генів, які кодують транскрипцію медіаторів, зокрема цитокінів [2]. Так, сучасними методами молекулярної медицини було підтверджено попередні дослідження генетичної природи ГП [10, 19]. Відомо, що імунна система реагує на мікробну бляшку, яка більшою чи меншою мірою утворюється в усіх людей. При цьому в одних ГП розвивається, в інших – ні. Отже, однієї генетичної схильності до виникнення і розвитку цього захворювання недостатньо, оскільки ГП, як і будь-яка інша хвороба (фенотип), зумовлюється генотипом, середовищем та взаємодією між ними [2]. Однак епігеномні механізми реалізації спадкової інформації, тобто експресії генів, при хворобах пародонта залишаються нез'ясованими [2, 9]. Немає відповіді також на багато запитань щодо механізмів розвитку та прогресування хвороб пародонта, відсутня єдина концепція їх лікування, що також потребує подальшої розробки. Це пов'язано зі структурно-функціональними змінами спадкового апарату соматичних клітин у хворих на ГП і підтверджується наявністю сильних достовірних кореляцій показників функціонального стану геному із вмістом макро- й мікроелементів та активністю ферментів. Виявлений дисбаланс мінерального та ферментного гомеостазу вказує на його участь у патогенезі ГП і пародонтозу [22].

При захворюваннях пародонта мають місце суттєві метаболічні порушення, які призводять до функціонального напруження адаптаційно-приспосувальних реакцій організму й лежать в основі патогенетичних процесів їх розвитку та прогресування, що доведено за допомогою кореляційного і кластерного аналізу клінічних, цитогенетичних, біохімічних та імунологічних порушень. Отже, генетична схильність до захворювань пародонта реалізується фенотипово у клінічних, цитогенетичних, біохімічних та імунних змінах [2].

Таким чином, порушення мінерального гомеостазу, зміни активності металоферментів і металозалежних ферментів, що відповідають за різні види обміну, посилення пероксидації, зростання синдрому ендогенної інтоксикації, пригнічення антиоксидантного захисту організму й розбалансованість продукції цитокінів, які виявлено під час комплексних досліджень,

свідчать про те, що розвиток і прогресування ГП та пародонтозу відбуваються на тлі складних порушень гомеостатичної рівноваги в організмі. Дані зміни зумовлені генетичною слабкістю транспортних процесів, бо наявність в органах і клітинах мікроелементів, ферментів, цитокінів та інших речовин залежить від активності генів, що їх кодують, а порушення в них спричиняють слабкість контролюючої системи гомеостазу [2]. Водночас установлено, що при запаленні в пародонті змінюються клітинний фенотип і генетична транскрипційна програма [43]. За останніми даними, ці зміни відбуваються ще до розвитку запалення: як тільки розпізнавальні рецептори ідентифікують мікроорганізм як чужорідний, вони активуються і передають у клітину сигнал для вивільнення фактів транскрипції з нуклеотидів ДНК, завдяки чому клітина активується та синтезує властивий їй набір цитокінів [35, 41]. Крім того, відомо, що в основі спадкової схильності до хвороб лежить широкий генетичний балансовий поліморфізм популяції людини за ферментами, структурними та транспортними білками, антигенами [13]. Підтверджено це положення стосовно ГП і пародонтозу, що дозволило розглядати етіологію й патогенез захворювань пародонта з позицій генетичного сприяння, метаболічних та імунних порушень [2, 47].

Описуючи потенційні генетичні фактори ризику розвитку пародонтиту, можна виходити з чотирикомпонентної моделі захворювання, що включає такі елементи [10]:

- сполучнотканинну основу пародонта, яка включає в себе дентин кореня зуба, цемент, циркулярну і трансептальну зв'язки, острівці Маласе, кісткову альвеолу, епітеліальну і матриксну частини, що покривають ясна; судини, що проникають у зв'язки з кісткової альвеоли; поряд із позаклітинним матриксом до складу пародонта входять формувальні клітини: цементобласти, остеобласти, фібробласти та їх попередники, найбільш масовим білком пародонта є колаген I типу, імпрегнований колагеном інших типів та іншими фібрилярними білками, а також аморфні аніонні протеоглікани;

- матриксні металопротеїнази, що зумовлюють розпад колагену та інших білків сполучнотканинного матриксу, і білкові тканинні інгібітори, які регулюють їх активність;

- місцеві позаклітинні фактори регуляції транскрипції клітин сполучної тканини та імунної системи (фактори росту, лімфокіни, хемокіни), а також їх рецептори; роль цих факторів багато в чому зводиться до регуляції експресії та активації матриксної металопротеїнази, впливу

на ріст і міграцію основних клітин пародонта, рівень синтезування ними матриксних білків; крім того, первинні месенджери модулюють антигенонезалежну й антигеноспецифічну реакції клітин імунної системи на інвазію в пародонт нормальної і патогенної мікрофлори;

– генералізовані фактори крові, що включають у себе насамперед елементи системи специфічної (антигенозалежної) відповіді організму на антигени, а також системи розпізнавання та інактивації антиген-антитільних комплексів; до цієї групи можна зарахувати поверхневі маркери лімфоцитів, зокрема антигенозалежні рецептори, компоненти комплексів гістосумісності I і II класів, імуноглобуліни, а також компоненти комплементу, фактори згортання крові та фібринолізу [10].

Протеолітичну деградацію колагену I типу вважають одним із ключових факторів неконтрольованого руйнування позаклітинного матриксу пародонта [37, 61]. Колагенолітична активність властива перш за все матриксним металопротеїназам (ММП) – представникам мультигенного сімейства, що складається з більше ніж 20 цинкозалежних ендopeптидаз, субстратами яких, крім більшості компонентів позаклітинного матриксу, можуть бути також інші протеази, хемотаксичні молекули, латентні форми факторів росту, розчинні й мембрано-асоційовані білки, що зв'язують фактори росту, цитокіни [16, 61].

З усіх відомих ММП найбільшою протеолітичною активністю відносно колагену I типу володіє колагеназа нейтрофілів або ММП-8, активність якої, за даними експериментальних та клінічних досліджень, пов'язана з патологічними змінами в пародонті [38, 42]. Широка субстратна специфічність матриксних металопротеїназ, що включає в тому числі й запальні цитокіни, визначає їх участь не тільки в процесах деструкції пародонта, а й у модуляції запальної реакції [62].

Однією з гіпотез, які пояснюють патогенез запальних захворювань пародонта, є хронічне пошкодження ендотелію [13], яке досліджують методами діагностики дисфункції ендотелію, що ґрунтуються на визначенні циркулюючих ендотеліальних маркерів у плазмі крові: ендотеліну-1 (ЕТ-1), NO, факторів Віллебранда та некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), L-аргініну. Особливу увагу в індукції судинного порушення приділяють ендотеліну-1 – найпотужнішому ендogenous вазоконстриктору, який відіграє велику роль у регулюванні системного й локального судинного тону, функціонування гемомікроциркуляторного русла [19]. З огляду

на сучасні положення клінічної імунології, можна вважати, що саме цитокиновий профіль крові має суттєве значення для загальної характеристики імунопатогенезу більшості хронічних хвороб, у тому числі стоматологічного профілю [3, 32]. Зокрема, сучасні дослідження довели важливе значення цитокінів у міжклітинній взаємодії, що лежить в основі патогенезу хронічного запалення тканин пародонта, включаючи механізми розвитку дистрофічно-запальних уражень із наступним остеопорозом і резорбцією альвеолярної кістки, наслідком чого є порушення функції чи навіть втрата зубів [24].

При проведенні імунологічних досліджень у хворих на генералізований пародонтит було встановлено, що вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові суттєво підвищений [4, 23]. Розвиток патологічного процесу та його загострення у хворих на ГП супроводжується підвищенням концентрації ЕТ-1 і прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 у сироватці пародонтальної крові. При цьому спостерігають пряму кореляційну залежність між тяжкістю ГП і рівнем маркерів дисфункції ендотелію, що може слугувати діагностичним тестом перебігу патологічного процесу й оцінки ефективності лікування хворих на ГП [24]. Прозапальні цитокіни ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α підсилюють експресію адгезивних молекул, стимулюють прокоагуляційну активність ендотелію, порушують метаболізм ліпідів, збільшують вміст ліпопротеїнів дуже низької щільності, що призводить до зміни функції ендотелію і підвищення секреції ЕТ-1 та прокоагулянтів [40, 60].

Генералізований пародонтит, як і будь-який інший імунозалежний патологічний процес, супроводжується змінами цитокинового профілю. Провідними прозапальними цитокінами визнано цитокіни першої хвилі – ІЛ-1 і ФНП [4, 18]. Прозапальний цитокін ІФН- γ (ІФН II типу) характеризує хронічне запалення і разом з ІЛ-1 та ФНП- α відіграє центральну роль у його розвитку [48]. Цитокін ІЛ-12 – один з основних прозапальних цитокінів другої хвилі [20]. Деструктивно-запальний процес у пародонті перш за все стримують ІЛ-4 та ІЛ-10 [18, 66].

Баланс про- і протизапальних цитокінів відображає індекс запальної активності, який визначають за формулою (ФНП- α +ІЛ-6+ІЛ-8) / ІЛ-10. Відбувається секреція прозапальних ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α , а також протизапального ІЛ-10, що регулює цей процес. Таким чином, моноцити залучаються до запального каскаду [24]. У цьому процесі беруть активну участь і лімфоцити. Після антигенної стимуляції CD4+ Т-клітини диференціюються в Т-хелпери 1-го і

2-го типів, які здатні до секреції різних цитокінів. Т-хелпери 1-го типу секретують прозапальні цитокіни (ФНП- α , інтерферон- γ , ІЛ-2, ІЛ-12), а Т-хелпери 2-го типу – протизапальні (ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13) [30, 33]. При цьому дисбаланс про-і протизапальних цитокінів може мати несприятливі наслідки в розвитку ускладнень при запальних процесах у тканинах пародонта [63].

Доведено, що переважання Th1 типу імунної відповіді пов'язане з резистентністю до захворювання або його стабільного клінічного перебігу, а домінування Th2 типу є ознакою прогресування патологічного процесу [5, 15]. Тому за продукцією цитокінів можна визначити форму і тяжкість хвороби. При ГП Т-хелпери Th1 типу відіграють провідну роль у процесах руйнування альвеолярної сітки. Активовані Т-хелпери Th1 типу стимулюють остеокластогенез внаслідок гіперсинтезу прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП- α). З іншого боку, Т-хелпери Th2 типу, навпаки, гальмують остеокластогенез та активність остеобластів, оскільки продукують ІЛ-4 й ІЛ-10. Отже, високу захворюваність на ГП серед дорослого населення пов'язують із формуванням вторинних імуносупресивних станів, на тлі яких знижується ефективність стандартного лікування [5, 15].

Оптимальну дію цитокінів визначає рівновага різних за біологічною активністю інтерлейкінів, порушення цієї регуляції є умовою виникнення патологічних станів і хвороб. Прозапальним цитокінам моноклеарів властива синергічна дія, вони контролюють усі етапи формування локального запалення. До них належать: а) продукція факторів активації гемокоагуляції [45]; б) посилення активності нейтрофілів і моноцитів/макрофагів [46]; в) ініціація системної запальної відповіді й синтез білків гострої фази запалення в гепатоцитах [56]; г) індукція морфологічних і функціональних змін в ендотеліальних клітинах [33, 50, 64]. ІЛ-10 відносять до протизапальних факторів, що контролюють дію прозапальних цитокінів. Він

здатний модулювати численні клітинні процеси, які відіграють важливу роль у виникненні, прогресуванні й стабілізації атеросклеротичної бляшки [36, 67], а також у регуляції метаболізму холестерину в макрофагах за рахунок стимуляції як зворотного його захоплення з модифікованих ліпопротеїнів, так і вилучення з клітин [33, 49, 53]. ІЛ-10 пригнічує вивільнення лізосомальних ферментів нейтрофілами і моноцитами, гальмує продукування ними металопротеїназ, пригнічує синтез прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1, ІЛ-6) і хемокінів (ІЛ-8 тощо) фагоцитуючими клітинами. Цей цитокін здатний значно пригнічувати продукти окиснення, підсилювати синтез NO активованими макрофагами [54], експресію рецептора для фактора активації тромбоцитів нейтрофілами і моноцитами, перешкоджати програмою загибелі клітин – апоптозу, сприяє зростанню і диференціюванню моноцитів у макрофаги [33].

Активация секреції прозапальних цитокінів відображає посилення процесів імунної відповіді на різного виду запалення. Саме збільшення кількості ІЛ-1 β стало чіткою специфічною особливістю захисних механізмів запального процесу в тканинах пародонта [30, 44, 68]. Отже, швидкість активації продуцентів цього цитокіну (моноцитами, макрофагами, стромальними, епітеліальними клітинами), що супроводжувалася високою його концентрацією у хворих на ГП, імовірно, має біологічне значення: забезпечення першої лінії антиінфекційного захисту на рівні системи цитокінів, яка стала основою для будь-яких форм імунної відповіді.

Отже, заходи патогенетичної профілактики і терапії ГП необхідно розробляти з урахуванням місцевих та загальних факторів, що відіграють вирішальну і провідну роль у механізмах розвитку пародонтиту [29], асоціативно впливаючи на імунну, ендокринну, нервову, кровотворну системи й метаболічні процеси [39, 52, 57, 65].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдеев О. В. Ступінь активності фосфатаз при експериментальному пародонтиті та за його корекції / О. В. Авдеев // Клініч. стоматологія. – 2013. – № 3–4. – С. 13–17.
2. Алгоритм виникнення й розвитку генералізованого пародонтиту та пародонтозу, схема комплексного лікування генералізованого пародонтиту / Г. М. Мельничук, А. М. Політун, Л. Є. Ковальчук [та ін.] // Совр. стоматология. – 2013. – № 1. – С. 35–40.
3. Ассоциация полиморфизма генов цитокинов с пародонтитом / А. Н. Петрин, В. Н. Царев, Л. В. Акуленко [и др.] // Мед. генетика. – 2011. – **10**, № 12. – С. 23–27.
4. Ахмедов Г. Д. Клиническая эффективность цитокинолтерапии инфекционно-воспалительных осложненной хирургических вмешательств в полости рта / Г. Д. Ахмедов // Стоматология. – 2012. – № 3. – С. 53–55.
5. Белозеров А. П. Т-хелперы-17 (Th17) – новая субпопуляция эффекторных CD4+ лимфоцитов и их

- роль в патології / А. П. Белозеров // Лаб. діагностика. – 2011. – № 1. – С. 57–63.
6. Бутюгин И. А. Состояние системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита в смешанной слюне у больных хроническим генерализованным пародонтитом / И. А. Бутюгин, И. А. Волчегорский // Клинич. лаб. диагностика. – 2014. – № 2. – С. 44–47.
7. Бутюгин И. А. Сравнительный анализ эффективности местного применения антиоксидантов в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / И. А. Бутюгин, Н. В. Корнилова, О. В. Абрамов // Стоматология. – 2013. – **92**, № 1. – С. 31–34.
8. Волчегорский И. А. Сравнительный анализ состояния системы “перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита” в слюне больных хроническим пародонтитом легкой и средней тяжести / И. А. Волчегорский, Н. В. Корнилова, И. А. Бутюгин // Стоматология. – 2010. – № 6. – С. 24–27.
9. Генетические факторы предрасположенности к пародонтиту / А. Н. Петрин, А. В. Сафонова, С. Д. Арутюнов [и др.] // Стоматолог. – 2009. – № 4. – С. 32–37.
10. Генетические факторы предрасположенности к развитию агрессивного пародонтита: белки матрикса, матриксины и их регуляторы / О. А. Зорина, О. А. Борискина, О. А. Леонович [и др.] // Стоматология. – 2013. – **92**, № 1. – С. 76–83.
11. Грималюк Т. Ю. Эндо-пародонтальная патология: вариант решения / Т. Ю. Грималюк, Т. Г. Хохрина // Эндодонтия. – 2011. – № 1–2. – С. 79–82.
12. Залізник М. С. Інтегральний коефіцієнт процесів антиоксидантного захисту – пероксидного окиснення ліпідів у хворих на генералізований пародонтит, поєднаний з остеоартрозом / М. С. Залізник, В. В. Сопотницька, Х. В. Погорецька // Клініч. стоматологія. – 2011. – № 4. – С. 11–14.
13. Зорина О. А. Взаимосвязь полиморфизма генов некоторых коллагенов с развитием заболеваний пародонта / О. А. Зорина, О. А. Борискина, Д. В. Ребриков // Стоматология. – 2013. – № 4. – С. 28–30.
14. Кресюн В. Й. Роль порушень функціонального стану прооксидантно-антиоксидантної системи в селезінці морських свинок у патогенезі алергічного альвеоліту та їх корекція тіотриазоліном / В. Й. Кресюн, С. Б. Добрянський, М. С. Резеда // Одес. мед. журн. – 2010. – № 6 (122). – С. 37–39.
15. Лоскутова І. В. Імунотерапія генералізованого пародонтиту / І. В. Лоскутова, Н. М. Копельян // Фітотерапія. – 2011. – № 2. – С. 63–66.
16. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах / Л. Н. Рогова, Н. В. Шестернина, Т. В. Замечник [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – **18**, № 2. – С. 86.
17. Мельничук Г. М. Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в сироватці крові дітей, хворих на гранулюючий періодонтит постійних зубів хронічного та загостреного перебігу, під впливом лікування / Г. М. Мельничук, І. Р. Костюк // Совр. стоматология. – 2012. – № 3. – С. 25–28.
18. Мельничук Г. М. Зміни в цитокиновому спектрі сироватки крові на фоні комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням спіруліни / Г. М. Мельничук // Новини стоматології. – 2011. – № 1. – С. 48–52.
19. Мельничук Г. М. Цитогенетичні маркери хвороб пародонту / Г. М. Мельничук // Совр. стоматология. – 2011. – № 1. – С. 47–51.
20. Мельничук Г. М. Цитокиновий спектр ротової рідини у хворих на генералізований пародонтит / Г. М. Мельничук // Дентальні технології. – 2010. – № 3–4. – С. 18–20.
21. Мисула І. Р. Зміна показників пероксидного окиснення ліпідів при поєднанні пародонтиту з адреналіновою кардіоміодистрофією за нормергічного типу запальної реакції / І. Р. Мисула, І. О. Суховолец // Клініч. стоматологія. – 2011. – № 4. – С. 56–58.
22. Мікроелементний спектр цільної крові та ротової рідини у разі захворювань тканин пародонта / Г. М. Мельничук, Г. М. Ерстенюк, А. С. Мельничук [та ін.] // Галиц. лікар. вісник. – 2009. – № 4. – С. 63–65.
23. Мудра В. М. Вивчення рівня прозапальних цитокинів (ФНП α , ІL-1 β мононуклеарів хворих на хронічний генералізований пародонтит, які потребують дентальної імплантації / В. М. Мудра // Імплантологія, пародонтологія, остеологія. – 2011. – № 4. – С. 10–16.
24. Мудра В. М. Концентрація прозапальних цитокинів (ФНП α , ІL-1 β) у сироватці крові та їхня продукція в культурах мононуклеарів хворих на хронічний генералізований пародонтит, які підлягають дентальній імплантації / В. М. Мудра // Укр. морфол. альм. – 2011. – **9**, № 1. – С. 85–88.
25. Нагірний Я. П. Основні тенденції у розробці нових препаратів для лікування пародонтиту і гінгівіту / Я. П. Нагірний, І. В. Стефанів, Є. М. Горбань // Клініч. стоматологія. – 2011. – № 4. – С. 22–26.
26. Назаренко З. Ю. Сучасні аспекти епідеміології, етіології та патогенезу хронічних форм періодонтитів / З. Ю. Назаренко // Вісн. проблем біології і медицини. – 2011. – № 1. – С. 23–27.
27. Окислительный стресс и комплексная антиоксидантная энергокоррекция в лечении пародонтита / И. А. Омаров, С. Б. Болевич, Т. Н. Саватеева-Любимова [и др.] // Стоматология. – 2011. – **90**, № 1. – С. 10–17.
28. Омаров И. А. Окислительный стресс и комплексная антиоксидантная энергокоррекция в лечении пародонтита / И. А. Омаров // Стоматология. – 2011. – **90**, № 1. – С. 10–17.
29. Палійчук І. В. Динаміка показників стану місцевого імунітету та мікробіоценозу ротової порожнини при лікуванні хворих з кандидозним протезним стоматитом / І. В. Палійчук, Р. В. Куцик, М. М. Рожко // Совр. стоматология. – 2012. – № 3. – С. 76–79.
30. Сергеева И. Е. Диагностические показатели локального иммунного ответа у больных генерализованным пародонтитом / И. Е. Сергеева // Лікар. справа. – 2011. – № 1–2. – С. 132–135.

31. Тюпка Т. І. Гематологічні показники на стан пероксидації ліпідів при експериментальному стоматиті та їх корекція / Т. І. Тюпка, А. І. Лабунець // Фармакол. і лікар. токсикол. – 2010. – № 1–2. – С. 79–81.
32. Уштан С. В. Вміст цитокінів у крові при травматичних ушкодженнях слинних залоз / С. В. Уштан, Л. Є. Лаповець, В. М. Горицький // Новини стоматології. – 2012. – № 1. – С. 28–30.
33. Цитокиновий профіль мононуклеарів у хворих на гострий інфаркт міокарда, ускладнений серцевою недостатністю / Т. І. Гавриленко, О. М. Пархоменко, Н. О. Рижкова [та ін.] // Фізіол. журн. – 2012. – **58**, № 6. – С. 13–28.
34. Antioxidant status and oxidative stress in patients with chronic ITP / C. Q. Jin, H. X. Dong, P. P. Cheng [et al.] // Scand. J. Immunol. – 2013. – **77**, № 6. – P. 482–487.
35. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis / S. M. Jaradat, K. T. Ababneh, S. A. Jaradat [et al.] // Oral Dis. – 2012. – **18**, № 3. – P. 271–279.
36. Cellular actors, Toll-like receptors, and local cytokine profile in acute coronary syndromes / C. A. Wyss, M. Neidhart, L. Altwegg [et al.] // Eur. Heart J. – 2010. – № 31. – P. 1457–1469.
37. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines / T. Sorsa, T. Tervahartiala, J. Leppilahti [et al.] // Pharmacol. Res. – 2011. – **63**, № 2. – P. 108–113.
38. Costa P. P. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes / P. P. Costa, G. L. Trevisan, G. O. Macedo // Journal Periodontol. – 2010. – **81**, № 3. – P. 384–391.
39. Effect of non-surgical periodontal therapy on serum levels of TNF- α , IL-6 and C-reactive protein in periodontitis subjects with stable coronary heart disease / S. Y. Zhou, X. Q. Duan, R. Hu [et al.] // Chin. J. Dent. Res. – 2013. – **16**, № 2. – P. 145–151.
40. Endothelin-1 stimulates proinflammatory cytokine expression in human periodontal ligament cells via mitogen-activated protein kinase pathway / L. Liang, J. Yu, W. Zhou [et al.] // J. Periodontol. – 2014. – **85**, № 4. – P. 618–626.
41. Epigenetic regulation of TNFA expression in periodontal disease / S. Zhang, S. P. Barros, A. J. Moretti [et al.] // J. Periodontol. – 2013. – **84**, № 11. – P. 1606–1616.
42. Expression analysis of matrix metalloproteinase-9 in epithelialized and nonepithelialized apical periodontitis lesions / E. Carneiro, R. Menezes, G. P. Garlet [et al.] // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radio. Endod. – 2009. – **107**, № 1. – P. 127–132.
43. Gingival tissue transcriptomes identify distinct periodontitis phenotypes / M. Kebschull, R. T. Demmer, B. Grun [et al.] // J. Dent. Res. – 2014. – **93**, № 5. – P. 459–468.
44. Heled Y. Cytokines and their role in hyperthermia and heat stroke / Y. Heled, C. Fleischmann, Y. Epstein // J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. – 2013. – **24**, № 2. – P. 85–96.
45. How much is too much? Interleukin-6 and its signaling in atherosclerosis / H. Schuett, M. Luchtefeld, C. Grothusen [et al.] // Thromb. Haemost. – 2009. – **102**, № 2. – P. 215–222.
46. IL-8 and cardiovascular disease / S. Apostolakis, K. Vogiatzi, V. Amanatidou [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2009. – № 84. – P. 353–360.
47. Induction of immune response and prevention of alveolar bone loss with recombinant Porphyromonas gingivalis peptidylarginine deiminase / C. Zhu, J. Yang, J. Sun [et al.] // Arch. Oral Biol. – 2013. – **58**, № 12. – P. 1777–1783.
48. Inflammatory cytokines IFN- γ , IL-4, IL-13 and TNF- α alterations in schistosomiasis: a meta-analysis / L. Yu, X. Sun, F. Yang [et al.] // Parasitol. Res. – 2012. – **110**, № 4. – P. 1547–1552.
49. Interleukin-10 facilitates both cholesterol uptake and efflux in macrophages / X. Han, S. Kitamoto, Q. Lian [et al.] // J. Biol. Chem. – 2009. – **284**, № 47. – P. 32950–32958.
50. Interleukin-6 inhibits endothelial nitric oxide synthase activation and increases endothelial nitric oxide synthase binding to stabilized caveolin-1 in human vascular endothelial cells / M. J. Hung, W. J. Cherng, M. Y. Hung [et al.] // J. Hypertens. – 2010. – **28**, № 5. – P. 940–951.
51. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia: a systematic review / S. Gupta, N. Aziz, L. Sekhon [et al.] // Obstet. Gynecol. Surv. – 2009. – **64**, № 11. – P. 750–759.
52. Long-term clinical and hematologic effects of non-surgical treatment on aggressive periodontitis / X. E. Wang, L. Xu, H. X. Meng [et al.] // Zhonghua Kou Qiang. – 2013. – **48**, № 8. – P. 467–471.
53. Metabolic syndrome, periodontal infection, and dental caries / P. Timonen, M. Niskanen, L. Suominen-Taipale [et al.] // J. Dent. Res. – 2010. – **10**, № 89. – P. 1068–1073.
54. Nitric oxide and oral cancer: a review / S. Korde Choudhari, G. Sridharan, A. Gadbaile [et al.] // Oral Oncol. – 2012. – **48**, № 6. – P. 475–483.
55. Oxidative stress in asthma / U. M. Sahiner, E. Birben, S. Erzurum [et al.] // World Allergy Organ. – 2011. – **4**, № 10. – P. 151–158.
56. Probing the mechanical properties of TNF- α stimulated endothelial cell with atomic force microscopy / S. Y. Lee, A. M. Zasko, T. Novellino [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2011. – № 6. – P. 179–195.
57. Proteomics for the discovery of biomarkers and diagnosis of periodontitis: a critical review / Y. A. Guzman, D. Sakellari, M. Arsenakis [et al.] // Expert Rev. Proteomics. – 2014. – **11**, № 1. – P. 31–41.
58. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms / A. Valavanidis, T. Vlachogianni, K. Fiotakis [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2013. – **10**, № 9. – P. 3886–3907.
59. Reactive oxygen species in periodontitis / P. Dahiya, R. Kamal, R. Gupta [et al.] // J. Indian. Soc. Periodontol. – 2013. – **17**, № 4. – P. 411–416.
60. Relationship between gingival angiopoietin-1 concentrations and depth of the adjacent gingival

sulcus / S. R. Lester, J. L. Bain, F. G. Serio [et al.] // J. Periodontol. – 2009. – **80**, № 9. – P. 1447–1453.

61. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis / U. K. Gursoy, E. Kononen, P. Pradhan-Palikhe [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2010. – **37**, № 6. – P. 487–493.

62. Smoking affects diagnostic salivary periodontal disease biomarker levels in adolescents / A. M. Heikkinen, T. Sorsa, J. Pitkaniemi [et al.] // Journal Periodontol. – 2010. – **81**, № 9. – P. 1299–1307.

63. Souza P. P. The role of cytokines in inflammatory bone loss / P. P. Souza, U. H. Lerner // Immunol. Invest. – 2013. – **42**, № 7. – P. 555–622.

64. The activation of CD14, TLR4 and TLR2 by mmLDL induces IL-1, IL- β and IL-10 secretion in human monocytes and macrophages / L. Chaves-Sanches, K. Chaves-Rueda, M. V. Legorreta-Haquet [et al.] // Lipid. Health. Dis. – 2010. – № 9. – P. 117–119.

65. The adjunctive effect of tenoxicam during non-surgical periodontal treatment on clinical parameters

and gingival crevicular fluid levels of MMP-8 and TNF- α in patients with chronic periodontitis – randomized, double-blind clinical trial / O. Ozgoren, H. Develioglu, G. Guncu [et al.] // Adv. Clin. Exp. Med. – 2014. – **23**, № 4. – P. 559–565.

66. Wilson E. B. The role of IL-10 in regulating immunity to persistent viral infections / E. B. Wilson, D. G. Brooks // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 2011. – № 350. – P. 39–65.

67. Wrigly B. J. The role of monocytes and inflammation in the pathophysiology of heart failure / B. J. Wrigly, G. Y. Lip, E. Shantsila // Eur. J. Heart Fail. – 2011. – **13**, № 11. – P. 1161–1171.

68. Youn Y. The role of cytokines in seizures: interleukin IL-1 β , IL-1Ra, IL-8, and IL-10 / Y. Youn, I. K. Sung, I. G. Lee // Korean J. Pediatr. – 2013. – **57**, № 6. – P. 271–174.

69. Zhao R. Immune regulation of osteoclast function in postmenopausal osteoporosis: a critical interdisciplinary perspective / R. Zhao // Int. J. Med. Sci. – 2012. – **9**, № 9. – P. 825–832.

А. Е. Демкович

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ И ТЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПАРОДОНТЕ

Резюме

В статье проанализированы литературные данные о роли инфекционных, метаболических и иммунопатогенетических нарушений в развитии воспалительных процессов в тканях пародонта. Показано, что изменения микробиоценоза полости рта, иммунопатогенетические нарушения, оксидационный стресс являются инициаторами развития воспалительных процессов в тканях пародонта. При этом обращается внимание на источники образования активных форм кислорода, их роль в мембранных процессах в качестве посредников образования простагландинов, цитокинов, которые определяют характер воспалительной реакции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, микробиоценоз, иммунопатогенез, воспалительный процесс, активные формы кислорода, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система.

A. Ye. Demkovych

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PATHOGENETIC FACTORS IN THE MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND COURSE OF PARODONTIUM INFLAMMATORY PROCESSES

Summary

The article presents an analysis of published materials on the role of infectious, metabolic and immune pathogenic disorders inflammatory processes development in parodontium tissues. It is shown that change cavity mouth microbiocoenose, oxydative stress are the initiators of inflammation in parodontium tissues. This draws attention to the sources of the formation of reactive oxygen species and their role in membrane processes as mediators formation of prostaglandins, cytokines which determine the nature of the inflammatory response.

KEY WORDS: periodontitis, microbiocoenosis, immunopathogenesis, inflammation, reactive oxygen species, lipid peroxidation, antioxidant system.

Отримано 20.01.15

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

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ГЕПАТОРЕНАЛЬНОГО СИНДРОМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

У статті наведено провідні ідеї науковців щодо механізмів розвитку гепаторенального синдрому. Гепаторенальний синдром – тяжка функціональна гостра ниркова недостатність у хворих, які мають виражену печінкову недостатність у результаті гострого чи хронічного захворювання печінки, при одночасній відсутності іншої причини ниркової недостатності. Патогенез ураження нирок при захворюваннях печінки складний і на сьогодні недостатньо вивчений, а тому без більш повної картини механізмів розвитку цього синдрому та ідентифікації факторів, які впливають на тонус і ремоделювання судинного русла нирок, не можливе формування інформативних діагностичних підходів та успішної терапевтичної стратегії. Особливу увагу в роботі приділено проблемам серцевої дисфункції, включаючи тяжкі розлади кровообігу, що призводить до зниження ниркової перфузії; дії різних цитокінів та інших медіаторів на ниркову вазоконстрикцію і системну вазодилатацію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: патогенез, гепаторенальний синдром.

На сучасному етапі розвитку суспільства проблема патології печінки займає одне з провідних місць [5, 6]. За останні 10 років в Україні розповсюдженість хронічного гепатиту збільшилась у 2,2 раза, а цирозу печінки – на 60 % [2]. Коли ушкоджується печінка, то серед клінічних проявів хвороби виникає також низка таких міжорганних та міжсистемних синдромів, як гепаторенальний, гепатолієнальний, гепатоцеребральний, гепатопанкреатичний, гепатогастральний, гепатопульмональний, а також ознаки ураження системи кровообігу і зміни реологічних властивостей крові [7].

Печінка і нирки – органи, функціонально нерозривно пов'язані між собою. Антитоксична функція печінки і видільна функція нирок є фізіологічними процесами, що доповнюють один одного, тому немає нічого дивного, що між печінкою та нирками – двома важливими "фільтрами" організму існують найтісніші взаємозв'язки, як у нормі, так і при патології, і що ці два органи часто можуть уражатися одночасно або послідовно. Перші відомості про співіснування захворювань печінки та нирок з'явилися майже 150 років тому. Наприкінці XIX ст. доповіді науковців [13] вказували на тісний взаємозв'язок між прогресуючим захворюванням печінки, асцитом та нирковою

недостатністю за відсутності значних гістологічних змін нирки.

Уперше термін "гепаторенальний синдром" (ГРС) був запропонований Р. Merklen у 1916 р., а прийнятий – у 1939 р. на пропозицію Wh. Nunnenbruch. Сьогодні під ГРС розуміють функціональну олігуричну прогресуючу, але зворотну патологію нирок, що виникає при тяжких захворюваннях печінки з печінковою недостатністю, коли виключено інші фактори, які сприяють ураженню нирок [1, 10]. До захворювань печінки, при яких найчастіше розвивається ГРС, належать [3]: цироз, особливо алкогольний, ускладнений асцитом, при якому проводять діуретичну терапію; печінкова енцефалопатія, стравохідно-шлунково-кишкова кровотеча; печінкова недостатність; гострі вірусні гепатити; гепатоцелюлярна карцинома; метастатичне ураження печінки; гемігепатоектомія; гостра жирова печінка у вагітних. При цирозі печінки й асциті щорічний ризик виникнення гепаторенального синдрому складає 8–20 %, через 5 років цей показник підвищується до 40 % [4].

Залежно від тяжкості клінічних проявів та прогнозу виділяють дві форми (типи) ГРС. І тип ГРС – гострий, швидко прогресує. Його діагностика ґрунтується на двократному підвищенні початкового рівня креатиніну в сироватці крові понад 2,5 мг/дл або зниженні більше ніж

© М. І. Куліцька, Д. Б. Миронюк, І. Я. Криницька, О. З. Яремчук, 2015.

на 50 % кліренсу креатиніну до рівня менше 20 мл/хв протягом двох тижнів. ГРС I типу часто виникає при цирозі печінки алкогольної етіології з гострим алкогольним гепатитом, фульмінантною печінковою недостатністю, а також при некомпенсованому цирозі печінки іншої етіології [10, 11]. II тип ГРС характеризується поступовим, протягом декількох місяців, зниженням функції нирок, що визначається підвищеним рівнем сироваткового креатиніну від 1,5 до 2,5 мг/дл. Провідним клінічним синдромом при ГРС II типу є рефрактерний асцит.

На сьогодні виділено чотири взаємопов'язані шляхи, що належать до механізмів розвитку ГРС. Можливий вплив кожного із цих шляхів на ниркову вазоконстрикцію і розвиток ГРС. Дані шляхи включають у себе: розширення периферійних артерій черевної порожнини з локальною гіперциркуляцією і подальшою нирковою вазоконстрикцією; стимуляцію симпатичної нервової (СНС) та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем (РААС); порушення функцій серця, зокрема тяжкі розлади кровообігу, що призводять до зниження ниркової перфузії; дію різних цитокінів і вазоактивних медіаторів на ниркову вазоконстрикцію. Виділяють також прогресуючу інфекцію, гіпотонію, поліорганну недостатність, які часто стають причинами смерті на етапі очікування трансплантації.

A. Gattoni та ін. вважають, що одним із пускових факторів при ГРС може бути затримка натрію в організмі, що зумовлює виникнення асциту. Її можуть спричинити синусоїдна гіпертензія та зростання гідростатичного тиску у вісцеральному кровообігу, що через підвищену кровоциркуляцію призводить до виникнення асциту [12].

Встановленим фактором при ураженні печінки є системна вазодилатація. За умов порушення функції печінки з портальною гіпертензією зменшується ефективний об'єм циркулюючої крові у вісцеральних органах шляхом збільшення опору кров'яного потоку через циротичну печінку та внаслідок розширення кровоносних судин черевного русла, спричиненого підвищеним продукуванням локальних вазодилаторів. Оксид азоту (NO) часто вважають основним чинником у розвитку периферійної вазодилатації, водночас невідомо, чи є NO головним фактором локальної гіперциркуляції. При гепаторенальному синдромі ниркова вазоконстрикція посилюється, незважаючи на підвищення рівня NO. Було б доречно запитати, чому ниркова вазоконстрикція зберігається, незважаючи на прогресування системної вазодилатації. H. M. Wadei та ін. [13] дослідили,

що з прогресуванням захворювання печінки і до розвитку ГРС кровоциркуляція в стегновій артерії зменшується, а в брижових – продовжує зростати.

P. Lurch та ін. [8] показали, що підвищення в плазмі крові рівня симетричного диметиларгініну, природного інгібітора ендотеліальної синтази, при термінальній печінковій недостатності може протидіяти зростанню рівня NO і, відповідно, сприяти нирковій вазоконстрикції при гепаторенальному синдромі. Низький ефективний об'єм циркулюючої крові зменшує чутливість барорецепторів у синокаротидному синусі з подальшою компенсаторною активацією СНС та РААС і виділенням вазопресину. Це призводить до посилення кровоциркуляції і, як наслідок, збільшення серцевого викиду, зниження системного судинного опору, гіпотонії та вазоконстрикції ниркових судин.

З прогресуванням цирозу печінки відзначають подальше розширення кровеносних судин вісцеральних органів, у результаті чого утворюється порочне коло, яке сприяє більш системній вазодилатації та подальшій нирковій вазоконстрикції. Ця гіпотеза забезпечує раціональне і просте пояснення гемодинамічних змін, які відбуваються при цирозі печінки та ГРС, проте не підтверджена в дослідженнях на людині. Дослідження J. Fernandez та ін. показують, що ступінь печінкової недостатності прямо пропорційний ступеню гіпердинамічної циркуляції та обернено пропорційний рівню артеріального тиску з найбільшими змінами з боку гемодинамічної системи в пацієнтів із ГРС. До того ж, певного значення набуло питання щодо ролі наднирковозалозної недостатності в патогенезі гепаторенального синдрому. Так, J. Fernandez та ін. [9] стверджують, що відновлення гемодинаміки розвитку наднирковозалозної недостатності відбувається при лікуванні хворих за допомогою кортизолу.

Поліпшення гемодинамічних та нейрогормональних параметрів і покращення стану при системному введенні судинозвужувальних препаратів забезпечують додаткову підтримку при розширенні периферійних кровоносних судин за умови ниркової гіперперфузії та вазоконстрикції.

Важливо відзначити, що J. Fernandez та ін. [9] продемонстрували взаємозв'язок між зниженою перфузією у стегновій артерії та нирках пацієнтів з декомпенсованим цирозом печінки, в тому числі хворих із ГРС. Відмічено також схожі взаємозв'язки між мозковим кровообігом, кровообігом верхніх кінцівок і нирок. Крім того, результати досліджень на тваринних моделях та людях із цирозом печінки

показали, що вісцеральна кровоциркуляція є основним судинним руслом, відповідальним за периферійну вазодилатацію, особливо при прогресуючому цирозі печінки. Ці дані дозволяють припустити, що на ранній стадії як внутрішньоорганні, так і периферійні судини розширюються, що пояснює механізми розвитку гіперциркуляції.

Вплив СНС на розвиток гепаторенального синдрому досить широко досліджували V. Stadlbauer та ін. [17]. У пацієнтів із цирозом печінки, як відомо, посилюється дія симпатичної нервової системи. D. R. Kostreva та ін. [14] продемонстрували, що збільшення внутрішньопечінкового тиску, внаслідок лігування великої порожнистої вени у наркотизованих собак, призводить до підвищення ниркової симпатоміметичної активності. Цей рефлекс зберігається, незважаючи на деіннервацію синокаротидної пазухи та двосторонню шийну ваготомію, і ліквідується лише після пересічення передніх печінкових нервів.

Подальші дослідження вказують на затримку іонів натрію всередині клітин та формування асцити в собак з модельованим цирозом печінки після печінкової деіннервації. Точно так само P. Lurch та ін. у своїй праці [8] показали зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) та ниркового плазмообігу після викликання набряку гепатоцитів шляхом внутрішньочеревної ін'єкції глутаміну. При пошкодженні ниркових, печінкових або спинномозкових нервів зменшення швидкості клубочкової фільтрації та ниркового плазмообігу не спостерігають.

На підставі цих досліджень запропоновано ввести поняття "гепаторенальний рефлекс". Він активується внаслідок підвищення печінкового синусоїдального тиску чи зменшення синусоїдального кровотоку. Аналогічним до гепаторенального рефлексу є спленоренальний рефлекс, який спостерігають на тваринних моделях з портальною гіпертензією. Підтримка цієї концепції в людей основана на праці H. M. Wadei та ін. [13], які продемонстрували гостре зниження ниркового кровообігу в пацієнтів із цирозом печінки після позаяремного внутрішньопечінкового шунтування. В іншому дослідженні поперекова симпатектомія підвищує ШКФ у 5 пацієнтів із ГРС (ШКФ < 25 мл/хв), але не в трьох інших (ШКФ > 25 мл/хв), припускають, що дія ниркової симпатичної іннервації сприяє вазоконстрикції внутрішньониркових судин у відібраній групі пацієнтів із ГРС.

Таким чином, на сьогодні не можна виділити першочергову роль гепаторенального або спленоренального рефлексу у виникненні ГРС

у людини. Проте симпатоадреналова система може відігравати істотну роль у механізмах розвитку ГРС в окремих пацієнтів із ГРС.

Значну увагу в науковій літературі приділено серцевій дисфункції, яка є чи не одним з основних патогенетичних факторів розвитку гепаторенального синдрому. Довгий час існувала думка, що при гепаторенальному синдромі функція серця нормальна або навіть підвищена. Така точка зору базувалася на даних ряду досліджень за участю хворих на цироз печінки без азотемії з чи без асцити, в ході яких було встановлено, що ГРС розвивається за умов низького загального периферійного опору судин та збільшеного серцевого викиду, зумовленого надзвичайно високою активністю РААС і СНС.

Роль серцевої дисфункції при гепаторенальному синдромі вивчали L. Ruiz-del-Arbol та ін. [19], які продемонстрували зниження серцевого викиду під час діагностики спонтанного бактеріального перитоніту без зміни системного судинного опору в пацієнтів із цирозом печінки та згодом прогресуючим ГРС. Серцевий викид у подальшому зменшується після розвитку інфекції у групі хворих із ГРС, але без наявності ниркової недостатності. У цій же групі в 66 пацієнтів із цирозом печінки, загостреним асцитом і нормальним рівнем сироваткового креатиніну вивчали системні та печінкові гемодинамічні зміни. На початку дослідження артеріальний тиск і серцевий викид були значно зниженими, тоді як активність СНС була суттєво вищою у хворих із розвинутим ГРС, в яких у подальшому зменшувався серцевий викид та розвивалась ниркова дисфункція.

Механізми порушення серцевої функції є досить складними і можуть включати в себе: нейрогуморальну гіперактивність, яка призводить до гіпертрофії міокарда та фіброзування з порушенням релаксації м'язових волокон; зменшення передачі сигналу від β -адренергічних рецепторів; інгібуючу дію циркулюючих цитокінів, зокрема $\text{TNF}\alpha$ та NO , на функцію шлуночків.

У хворих на алкоголізм змінний ступінь алкогольної кардіоміопатії також може бути одним із факторів розвитку. Результати даного дослідження демонструють, що зниження серцевого викиду ідентифікує групу пацієнтів, які перебувають у зоні ризику розвитку ГРС, чи є причиною його виникнення. Проте ці результати суперечать попереднім даним, що вказують на поганий взаємозв'язок між зменшенням серцевого викиду та зниженням ниркового кровотоку. Звичайно, можливо й те, що деякі пацієнти із цирозом печінки, незважаючи

на їх високий серцевий викид, мають відносно пригнічену серцеву відповідь на дію стресу, що сприяє розвитку системної гіпотензії та ниркової гіпоперфузії. При відсутності підвищеної метаболічної діяльності серцева дисфункція залишається клінічно прихованою, її зазвичай спостерігають при цирозі. Клінічний досвід показує, що серцевий резерв може бути зменшений і гостра серцева недостатність може проявлятися в пацієнтів після позаяремного внутрішньопечінкового шунтування чи пересадки печінки.

Аналізуючи дослідження S. S. Lee, можна зробити висновок, що порушення інотропної функції серця при гепаторенальному синдромі викликане зниженням венозного притоку до міокарда, а порушення хронотропної функції – пригніченням β -адренорецепторів, які зумовлені хронічною гіперстимуляцією СНС [15].

Серцева дисфункція явно потребує подальших досліджень, щоб визначити, чи вона безпосередньо спричиняє ГРС, чи просто слугує маркером альтернативного фактора, який бере участь у розвитку ГРС.

На сьогодні значну увагу приділяють активності вазоактивних посередників у механізмах виникнення гепаторенального синдрому. Оскільки показники ниркового кровообігу істотно варіюють у пацієнтів, які страждають від цирозу печінки з та без ГРС, інші чинники, що беруть участь у регуляції внутрішньониркової гемодинаміки і швидкості клубочкової фільтрації, можуть бути задіяні при ГРС [16]. Ці чинники включають вазоактивні фактори, які впливають як на системний, так і на нирковий кровообіг.

Вивчені вазоактивні фактори включають у себе NO, TNF α , ендотелін, глюкагон і внутрішньониркові судинорозширювальні простагландини. Із системних факторів NO заслуговує особливої уваги [18]. Продукція оксиду азоту підвищується в результаті позитивної регуляції ендотеліальної нітроген-оксидсинтазної (eNOS) активності внаслідок збільшення напруги зсуву у вісцеральне і велике кола кровообігу, так само, як і опосередкованої eNOS-активації. Також було встановлено зростання спонтанної eNOS-активності. У досліджах на тваринах відзначено, що NO є ланкою, відповідальною за зниження артеріального тиску у відповідь на дію ендогенних вазоконстрикторів у вісцеральному кровообігу. Крім того, пригнічення синтезу NO усуває порушення кровообігу і нейрогуморальної активності в щурів із цирозом печінки. У людини із цирозом печінки й асцитом пригнічення eNOS-активності сприяє зниженню кровопостачання передпліччя і підвищенню судинного опору. Аналогічно гостре пригні-

чення eNOS-активності сприяє збільшенню судинного опору у великому колі кровообігу при некомпенсованому цирозі печінки і виділенню нирками простагландину E₂ [13].

У хворих на цироз печінки й асцит концентрація сироваткового NO більша, ніж у здорових пацієнтів чи в тих, які мають компенсований цироз печінки. Тому підвищені показники сироваткового NO залежать від активності РААС та рівня антидіуретичного гормону, а також від низького рівня екскретованих нирками іонів натрію [8].

Концентрація NO є вищою в сироватці крові, взятої з портальної вени, ніж у периферійних кровоносних судинах, припускають, що продукція NO збільшується у вісцеральному колі кровообігу. Існують припущення щодо ролі NO у вазодилатації периферійних судин, проте все ще є певні розбіжності стосовно ролі NO як первинного фактора в механізмі виникнення та підтримки гіперциркуляції. Крім того, судинорозширювальний ефект NO вважають протилежною відповіддю на звуження судин нирок. Однак при гепаторенальному синдромі ниркова вазоконстрикція дедалі прогресує, незважаючи на підвищення рівня NO [16]. Це припущення повністю не підтверджено, але P. Lurch та ін. [8] вважають, що зростання показників сироваткового диметиларгініну, природного eNOS-інгібітора, при термінальних ураженнях печінки може протидіяти збільшенню рівня NO і сприяє вазоконстрикції за умов ГРС.

У нирках вазоконстрикція врівноважена завдяки збільшенню локального вироблення судинорозширювальних простагландинів і калікреїнів. Порівняно зі здоровими людьми виділення нирками судинорозширювальних простагландинів є вищим, ніж у пацієнтів із цирозом печінки та асцитом. Крім того, введення інгібіторів циклооксигенази хворим на цироз печінки та асцит сприяє розвитку так званого синдрому, який суттєво не відрізняється від ГРС, проте вказує на роль судинорозширювальних простагландинів у підтримці ШКФ [13].

До того ж, результати імуногістохімічних досліджень вказують на зменшення забарвлення циклооксигенази при фарбуванні препаратів ниркової мозкової речовини в пацієнтів із ГРС, тоді як цей фермент виявляють у нирках хворих з іншими причинами гострої ниркової недостатності. Фактори, які пов'язані зі зменшенням вироблення простагландинів при ГРС, не відомі, проте інтенсивна ниркова вазоконстрикція може вказувати на зниження синтезу простагландинів. І навпаки, введення пацієнтам із

ГРС внутрішньонирково або у велике коло кровообігу простагландинів не поліпшує функції нирок, припускають, що зниження вироблення простагландинів не є єдиним фактором при гепаторенальному синдромі.

Питання порушення наднирковозалозної діяльності за умов гепаторенального синдрому вивчали J. Fernandez та ін. Вони досліджували виражене зниження функцій кори надниркових залоз у пацієнтів із цирозом печінки і тяжкою бактеріальною інфекцією, яка найчастіше призводить до виникнення гепаторенального синдрому [9].

Отже, при гепаторенальному синдромі розвивається поліорганна дисфункція, яка

характеризується гострими порушеннями з боку серцево-судинної системи, печінки, нирок, надниркових залоз, головного мозку (схема). Оскільки патогенетичні механізми гепаторенального синдрому на сучасному етапі залишаються до кінця нез'ясованими, то й не існує його ефективного лікування, і ортотопічна трансплантація печінки на сьогодні є єдиним успішним методом. Без більш повної картини механізмів розвитку цього синдрому та ідентифікації факторів, які впливають на тонус і ремоделювання судинного русла нирок, не можливе формування інформативних діагностичних підходів і успішної терапевтичної стратегії.



Схема. Патогенетичні механізми ГРС.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гепаторенальний синдром в практиці сімейного лікаря (критерії діагнозу та лікування) / В. М. Савченко, Є. Я. Ніколенко, О. В. Сокруто, К. В. Вовк // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія "Медицина". – 2009. – № 855, вип. 17. – С. 63–72.

2. Звягинцева Т. Д. Хронические диффузные заболевания печени сочетанной этиологии: подходы к лечению с позиций доказательной медицины / Т. Д. Звягинцева // Здоров'я України. – 2011. – № 11–12. – С. 264–265.

3. Маммаев С. Н. Гепаторенальный синдром 1-го и 2-го типа: современное состояние проблемы /

С. Н. Маммаев, А. М. Каримова / Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктोल. – 2008. – **18**, № 6. – С. 5.

4. Можливість використання шкали meld в прогнозуванні тривалості життя у хворих на цироз печінки з гепаторенальним синдромом / В. І. Русин, Є. С. Сірчак, Х. В. Футько, В. В. Авдєєв // Український Журнал Хірургії. – 2010. – № 1. – С. 14–17.

5. Нагорнов И. В. Возможности неинвазивной констатации стадии фиброза у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени / И. В. Нагорнов, Т. Г. Раевнева, С. С. Горохов // Мед. журн. – 2011. – № 2. – С. 72–75.

6. Передерий В. Г. Сравнительная эффективность применения гепатопротекторов при хронических диффузных заболеваниях печени / В. Г. Передерий, В. В. Чернявский, В. П. Шипулин // Суч. гастроентерол. – 2008. – № 3 (41). – С. 81–83.
7. Стан системи кровообігу у хворих на дифузні ураження печінки: огляд сучасної літератури та опис власного клінічного випадку / О. О. Абрагамович, М. Л. Коцовська, М. О. Абрагамович, У. О. Абрагамович // Acta Medica Leopoliensia. – 2011. – № 3. – С. 114–125.
8. Accumulation of symmetric dimethylarginine in hepatorenal syndrome / P. Lurch, M. D. Mauricio, J. M. Vila [et al.] // Exp. Biol. Med. – 2006. – **231**. – P. 70–75.
9. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: effect of treatment with hydrocortisone on survival / J. Fernandez, A. Escorsell, M. Zabalza [et al.] // Hepatology. – 2006. – **44**. – P. 1288–1295.
10. Arroyo V. Review article: hepatorenal syndrome – how to assess response to treatment and non-pharmacological therapy / V. Arroyo // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2008. – **20** (Suppl. 3). – P. 49–54.
11. Day C. Alcoholic liver diseases / C. Day // Ceska a Slovenska Gastroenterol. Hepatol. – 2006. – **60**, № 1. – P. 67–70.
12. Hepatorenal syndrome / A. Gattoni, F. Marotta, B. Vangieri [et al.] // Clin. Ther. – 2004. – **155**. – P. 375–389.
13. Hepatorenal Syndrome: Pathophysiology and Management / H. M. Wadei, M. L. Mai, N. Ahsan, T. A. Gonwa // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2006. – **1**. – P. 1066–1079.
14. Kostreva D. R. Reflex effects of hepatic baroreceptors on renal and cardiac sympathetic nerve activity / D. R. Kostreva, A. Castaner, J. P. Kampine // Am. J. Physiol. – 1980. – **390**. – P. 234–238.
15. Lee S. S. Cardiac dysfunction in spontaneous bacterial peritonitis: a manifestation of cirrhotic cardiomyopathy / S. S. Lee // Hepatology. – 2003. – **38**. – P. 301–309.
16. Moore K. Endothelin and vascular function in liver disease / K. Moore // Gut. – 2004. – **53**. – P. 159–161.
17. Relationship between activation of the sympathetic nervous system and renal blood flow autoregulation in cirrhosis / V. Stadlbauer, G. A. Wright, M. Banaji [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – **134**. – P. 111–119.
18. Role of nitric oxide synthase and cyclooxygenase in hyperdynamic splanchnic circulation of portal hypertension / J. Xu, H. Cao, H. Liu, Z.Y. Wu // Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. – 2008. – **7**. – P. 503–508.
19. Systemic, renal, and hepatic hemodynamic derangement in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis / L. Ruiz-del-Arbol, J. Urman, J. Fernandez [et al.] // Hepatology. – 2003. – **38**. – P. 1210–1218.

М. И. Кулицкая, Д. Б. Миронюк, И. Я. Криницкая, О. З. Яремчук
 ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕПАТОРЕНАЛЬНОГО СИНДРОМА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Резюме

В статье приведены ведущие идеи ученых относительно механизмов развития гепаторенального синдрома. Гепаторенальный синдром – тяжелая функциональная острая почечная недостаточность у больных, имеющих выраженную печеночную недостаточность в результате острого или хронического заболевания печени, при одновременном отсутствии другой причины почечной недостаточности. Патогенез поражения почек при заболеваниях печени сложен и на сегодня недостаточно изучен, а поэтому без более полной картины механизмов развития этого синдрома и идентификации факторов, которые влияют на тонус и ремоделирование сосудистого русла почек, невозможно формирование информативных диагностических подходов и успешной терапевтической стратегии. Особое внимание в работе уделено проблемам сердечной дисфункции, включая тяжелые расстройства кровообращения, что приводит к снижению почечной перфузии; действию различных цитокинов и других медиаторов на почечную вазоконстрикцию и системную вазодилатацию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: патогенез, гепаторенальный синдром.

PATHOGENETIC ASPECTS OF HEPATORENAL SYNDROME (LITERATURE REVIEW)

Summary

The article presents the main ideas of scientists on the mechanisms of hepatorenal syndrome. Hepatorenal syndrome – severe functional acute renal failure in patients who have expressed liver failure as a result of acute or chronic liver disease, while the absence of other causes of renal failure. The pathogenesis of renal injury in case of liver disease is complicated and now has not studied enough. So without more complete picture of the mechanisms of the syndrome and identification factors that affect the tone and remodeling renal vascular bed is not possible to form an informative diagnostic approaches and successful therapeutic strategy. Particular attention in the article is paid to the problems of cardiac dysfunction, including severe circulatory disorders, leading to a decrease in renal perfusion; effects of various cytokines and other mediators of renal vasoconstriction and systemic vasodilation.

KEY WORDS: pathogenesis, hepatorenal syndrome.

Отримано 15.01.15

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

ДО ЮВІЛЕЮ ПРОФЕСОРА М. М. КОРДИ



13 лютого 2015 р. відзначив 50-літній ювілей Михайло Михайлович Корда – доктор медичних наук, професор кафедри медичної біохімії, видатний науковець, талановитий педагог, умілий організатор, сильна, непересічна особистість.

У січні цього року колектив Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського виявив високу довіру професору, обравши його на посаду ректора.

Народився Михайло Михайлович у сільській родині на Львівщині. У 1988 р. з відзнакою закінчив Тернопільський медичний інститут і був рекомендований на наукову роботу. На кафедрі біохімії пройшов шлях від аспіранта до професора, завідувача цієї кафедри. Аспірантом захистив у 1991 р. кандидатську дисертацію на тему “Антиоксидний статус організму при гострому токсичному ураженні печінки і його корекція ентеросорбцією і антиоксидантами”. У подальшому його наукові інтереси зводились до глибшого дослідження механізмів захисту організму від хімічних уражень, тому викладацьку роботу поєднував з роботою над докторською дисертацією на тему “Порушення окислювальних процесів і захисних систем організму за гострого хімічного ураження печінки та шляхи їх корекції”, яку успішно захистив у 1998 р. на спеціалізованій вченій раді Одеського державного медичного університету.

Слід зазначити, що М. М. Корда був на той час чи не наймолодшим доктором наук, а невдовзі – професором. Завдяки фундаментальним дослідженням Михайла Михайловича зроблено помітний науковий внесок у проблему біохімії оксигеназних і вільнорадикальних реакцій у біологічних системах, їх пошкодження при дії високотоксичних хімічних сполук за умов антиоксидантної недостатності, обґрунтування пероксидної теорії хімічного ураження гепатоцитів та його корекцію.

У цей період М. М. Корда багато працював над собою, самостійно вивчаючи англійську мову (на сьогодні володіє нею досконало), опановуючи комп’ютерну науку, що дало йому можливість отримувати гранти на курси, стажування, участь в наукових конференціях у зарубіжних країнах (Австрії, Латвії, Німеччині, Іспанії, Японії). З лютого 2003 р. до березня 2004 р. Михайло Михайлович перебував у закордонному відрядженні за програмою обміну (The Exchange Visitor Program), метою якого була науково-дослідницька робота на кафедрі хімії і біохімії Університету Огайо (США).

Український науковець досліджував інтенсивність утворення оксиду азоту (NO) в гепатоцитах за допомогою іонетра й електропарамагнітного резонансу, а також клонування гена і ступінь експресії генів NO-синтази. Паралельно ознайомлювався з особливостями викладання біохімії, читав лекції, проводив практичні заняття зі студентами.

Після повернення в Україну продовжував працювати на посаді завідувача кафедри медичної біохімії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Через рік на пропозицію того ж університету США М. М. Корда взяв участь у конкурсі на заміщення посади “запрошеного професора” кафедри хімії і біохімії. Він пройшов інтерв’ю і переміг у конкурсі, участь в якому брали кілька десятків претендентів. Контракт передбачав трирічний термін роботи. Загалом чотири роки наполегливої праці в університеті за океаном стали важливою віхою творчого зростання вченого, відкрили нову плідну сторінку в його науково-педагогічній діяльності. Цей безцінний досвід Михайло Михайлович використовував у подальшій роботі в рідному університеті.

Поглиблюючи і вдосконалюючи наукові дослідження впливу на організм оксиду азоту,

М. М. Корда започаткував новий перспективний науковий напрямок – вивчення біохімічних механізмів токсичності наночастинок різної природи в біологічних системах. Стрімкий розвиток нанотехнологій передбачає постійний контакт людей з наноматеріалами в побуті, на виробництві. Цей напрямок досліджень також відкриває перспективи використання продуктів, виготовлених на основі нанотехнологій, у медицині, фармації та інших галузях.

Як завідувач кафедри медичної біохімії М. М. Корда підвищив рівень наукової і навчальної роботи на кафедрі, створив разом із педагогічним колективом потужну методичну та інформаційно-технологічну базу для студентів і викладачів, у тому числі для англійських студентів. За його ініціативою і безпосередньою участю створено базу віртуальних навчальних і контролюючих програм з біохімії для більшості практичних занять, які зареєстровано як авторські свідоцтва. За ініціативою і при головуванні Михайла Михайловича проводять всеукраїнські науково-практичні конференції, присвячені сучасним проблемам медичної біохімії. М. М. Корда є заступником головного редактора наукового журналу "Медична та клінічна хімія", членом редколегії журналу "Медична освіта", відповідальним редактором нового медичного журналу "International Journal of Medicine and Medical Research".

Як декан факультету іноземних студентів з метою популяризації Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, залучення до співпраці нових партнерів М. М. Корда здійснив чимало закор-

донних відряджень, розширив географію та збільшив чисельність іноземних студентів у кілька разів, за його безпосередньою ініціативою університет неодноразово відвідували офіційні особи посольств і консульств цілого ряду країн.

В активі професора М. М. Корди понад 250 наукових і навчально-методичних публікацій в Україні й за кордоном, у тому числі 10 патентів на винаходи, 2 навчальні посібники. Він підготував 1 доктора і 4-х кандидатів наук, під його керівництвом ще 6 здобувачів успішно виконують дисертації. Свого часу Михайло Михайлович доклав великих зусиль до розвитку видавничої справи в університеті, й традиції, закладені ним, продовжують цінувати і сьогодні.

За багаторічну сумлінну працю, високий професіоналізм професор М. М. Корда неодноразово був нагороджений почесними грамотами, дипломами Кабінету Міністрів України, Міністерства охорони здоров'я України, за організацію благодійної діяльності іноземних студентів – подяками Тернопільської обласної державної адміністрації, міського голови м. Тернополя.

Ректорат ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України", редколегія журналу "Медична та клінічна хімія", колектив кафедри медичної біохімії щиро вітають Михайла Михайловича з ювілеєм, бажають йому міцного здоров'я та подальших творчих успіхів у багатогранній науково-педагогічній роботі, спрямованій на збереження і розвиток у нашій державі фундаментальної науки, адміністративної і громадській роботі.

ДО 85-РІЧЧЯ ДОКТОРА МЕДИЧНИХ НАУК, ПРОФЕСОРА Я. І. ГОНСЬКОГО



31 січня 2015 р. виповнилось 85 років Ярославу Івановичу Гонському – корифею біохімічної науки, відомому вченому, досвідченому педагогу, доктору медичних наук, професору, людині, яка понад 50 років свого життя віддала підготовці фахівців для медичної галузі, наукових і науково-педагогічних кадрів, зростанню та реорганізації Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, реформуванню вищої медичної освіти.

Я. І. Гонський народився у смт Войнилів Івано-Франківської області в сім'ї селян. Після закінчення середньої школи вступив на фізико-математичний факультет Станіславського педагогічного інституту, потім служив в армії на Далекій Півночі. У 1953 р. вступив до Станіславського медичного інституту (нині – Івано-Франківський медичний університет), який закінчив з відзнакою. Працював у практичній охороні здоров'я. А в 1962 р. став асистентом кафедри біохімії Івано-Франківського медичного інституту. Після успішного захисту кандидатської дисертації та отримання звання доцента Я. І. Гонського призначили завідувачем курсу біофізики цього ж вишу. Захистивши в 1985 р. докторську дисертацію, Ярослав Іванович свою трудову діяльність продовжив у Тернопільському державному медичному інституті на посаді завідувача кафедри біологічної хімії (нині – медичної біохімії), на якій працював професором до вересня 2014 р.

Наукова діяльність Я. І. Гонського глибинна і різнопланова. Його напрацювання в галузі біохімічної науки зробили прорив у створенні

новітніх підходів при вивченні проблем злоякісного росту, що дало змогу синтезувати нові антиканцерогенні сполуки – металокомплекси з глутаміновою кислотою. Ярослав Іванович широко вивчав біологічне окиснення за допомогою електронного парамагнітного резонансу, створив цілу біохімічну школу, з якої вийшло багато докторів та кандидатів наук.

Сферою наукових інтересів професора було вивчення патогенезу хімічного ураження печінки. Під його керівництвом всебічно досліджено роль процесів вільнорадикального, мітохондріального, мікосомального та інших видів окиснення в механізмах токсичних гепатитів (тетрахлорметанового, галактозамінового, нітритного, кадмієвого тощо).

Я. І. Гонський – не лише талановитий науковець, а й висококваліфікований педагог. Його лекції завжди залюбки слухали студенти і молоді науковці. Ярослав Іванович умів зробити зі складного просте і завжди по-батьківськи ділився своїми знаннями та досвідом із студентами, аспірантами, молодими викладачами. Йому властиве вміння узагальнювати нове, прогресивне в науці, виділяти ключові проблемні питання, зорганізувати науковий пошук. Професор Я. І. Гонський був частим учасником наукових з'їздів, конгресів, конференцій, де виступав із доповідями в розгалуженому спектрі своїх наукових зацікавлень.

Під керівництвом Я. І. Гонського виконано і захищено більше 30 кандидатських та 3 докторських дисертації. Він є автором підручника "Біохімія людини" (до слова, першого підручника з біохімії, виданого українською мовою), "Посібника для практичних робіт з біохімії", понад 200 наукових праць та 10 патентів на винаходи.

Ярослав Іванович сформував дружний колектив науковців і педагогів, забезпечив створення матеріальної та педагогічної бази навчального процесу.

Я. І. Гонський – чуйна, скромна та порядна людина, яка шанобливо ставилася до студентів і співробітників. Його вміння завжди підтримати у важку хвилину цінували і цінують колеги. Спілкування з Ярославом Івановичем завжди пробуджує приємні спогади і сподівання на краще у завтрашньому дні.

Усі співробітники кафедри медичної біохімії, друзі, учні, вчителем яких був і є Ярослав Іванович, дарують йому теплі зворушливі вітання з нагоди ювілею і бажають міцного здоров'я, творчого натхнення, життєвого довголіття.

ДО 75-РІЧЧЯ ВИДАТНОГО НАУКОВЦЯ



5 січня 2015 р. виповнилось 75 років ректору Національного фармацевтичного університету Валентину Петровичу Черних – члену-кореспонденту Національної академії наук України, лауреату Державної премії України, доктору фармацевтичних наук, доктору хімічних наук, професору. 2015 рік знаменний для Валентина Петровича ще й тим, що виповнюється 50 років його науково-педагогічної та громадської діяльності й 35 років на посаді ректора.

Півстоліття життя віддано служінню благородній місії – підготовці фахівців для фармацевтичної галузі, а також наукових і науково-педагогічних кадрів, розбудові та реорганізації Національного фармацевтичного університету, головного фармацевтичного вищого навчального закладу України з історією, яка починається в далекому 1805 р., реформуванню вищої фармацевтичної освіти і фармацевтичної галузі України.

В. П. Черних пройшов шлях від студента, аспіранта, асистента, доцента, професора, завідувача кафедри, декана, проректора з навчальної роботи до ректора Національного фармацевтичного університету, який очолює з 1980 р.

Під керівництвом В. П. Черних Харківський фармацевтичний інститут пройшов складні етапи реорганізації від невеликого маловідомого інституту до найбільшого Національного фармацевтичного університету, який відповідає найвищим державним і міжнародним критеріям.

Сьогодні колектив університету налічує понад 20 тисяч співробітників і студентів. Під

керівництвом видатного організатора Харківський фармацевтичний інститут, в якому навчалися 1600 студентів за однією спеціальністю “Фармація” та працювали 6 докторів наук і 73 кандидати наук, виріс в унікальний науково-освітній комплекс – Національний фармацевтичний університет, в якому сьогодні навчаються 17 500 студентів за 14 спеціальностями та займаються науково-педагогічною діяльністю 110 докторів наук і 500 кандидатів наук, середній вік яких становить 45 років. У 1991 р. Харківський фармацевтичний інститут одним із перших серед 900 ВНЗ отримав статус акредитованого на союзному рівні. У 1999 р. у першій п’ятірці ВНЗ України набув статусу національного, став другим національним вищим навчальним закладом у м. Харкові.

Під керівництвом В. П. Черних здійснено кадровий “прорив” у НФаУ: з 1980 р. підготовлено понад 130 докторів наук і близько 650 кандидатів наук. За рейтингом ЮНЕСКО, серед 200 кращих університетів України НФаУ має один із найвищих показників якості науково-педагогічного потенціалу – 94 %. За останні 15 років у ньому відкрито 13 нових спеціальностей, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, коледж. У період керування університетом Валентин Петрович забезпечив стабільне фінансове становище ВНЗ, створив ефективну систему соціального захисту співробітників і студентів. НФаУ займає лідерські позиції в Україні, у національному рейтингу перебуває на другому місці серед 18 медичних навчальних закладів і на третьому – серед харківських університетів, є флагманом фармацевтичної освіти серед навчальних закладів країн СНД. Національний фармацевтичний університет нагороджено Почесною грамотою Кабінету Міністрів України за вагомий внесок у розвиток медичної та фармацевтичної науки й освіти. Це університет європейського рівня, визнаний у світі, є дійсним членом міжнародних фармацевтичних та освітніх асоціацій. У 2013 р. НФаУ приєднався до Великої хартії університетів. Спеціалізований ВНЗ забезпечує комплексну підготовку фахівців високої якості за всіма напрямками фармацевтичної галузі. У його аудиторіях отримали вищу фармацевтичну освіту понад 50 тисяч фахівців, серед яких більше 6 тисяч магістрів фармації для 82 країн світу. Підготовка спеціалістів для зарубіжжя – це вагомий чинник підвищення міжнародного іміджу нашої держави та освіти.

З метою реалізації державної політики кадрового забезпечення галузі В. П. Черних

запропонував систему підготовки фахівців “на місцях” шляхом відкриття мережі з 20 фармацевтичних факультетів при медичних ВНЗ, забезпечення їх науково-педагогічними кадрами, навчально-методичною літературою. В університеті здійснюють підготовку науково-педагогічних кадрів для фармацевтичних факультетів ВНЗ, практичної фармації України та зарубіжних країн.

Уперше в системі фармацевтичної освіти України створено навчально-методичні комплекси навчальної літератури з усіх дисциплін обсягом понад 2 тисячі найменувань. Навчальний процес на 100 % забезпечено навчально-методичною літературою державною та іноземними мовами, якою користуються всі фармацевтичні факультети України та деяких країн СНД. Наукова спадщина університету – це понад 490 підручників і навчальних посібників, 300 монографій, більше 1500 охоронних документів на винаходи. Учені НФаУ розробили і впровадили у виробництво 261 новий лікарський препарат.

В. П. Черних є ініціатором розробки й одним з авторів Концепції розвитку фармацевтичної галузі та освіти України, розширення спектра спеціальностей для фармацевтичної галузі, основоположником новітнього напрямку в фармації – фармацевтичної опіки хворих, системи контролю якості ліків, у т. ч. впровадження біоеквівалентності на засадах належної клінічної практики відповідно до світових вимог.

Для підвищення авторитету і визнання на державному рівні фармацевтичної галузі за ініціативою та безпосередньою участю В. П. Черних в Україні встановлено професійне свято – День фармацевтичного працівника (1999), запроваджено нову державну нагороду – почесне звання заслуженого працівника фармації України (2005), прийнято Етичний кодекс фармацевтичного працівника України (2010), створено першу в світі Фармацевтичну енциклопедію (перше видання – 2005 р., друге – 2010 р.). Під безпосереднім керівництвом Валентина Петровича культурна скарбниця Харківщини була збагачена унікальною скульптурною композицією “Фармація у віках”, першим у світі пам’ятником фармацевту. В. П. Черних став ідеологом зміцнення галузі та організатором проведення на базі університету V, VI і VII Національних з’їздів фармацевтів України, створення Фармацевтичної асоціації України.

В. П. Черних – видатний учений в галузі органічної хімії, праці якого широко відомі науковій спільноті України і зарубіжжя. Він є автором 1260 наукових праць, серед яких

підручник “Органічна хімія” в 3-х томах, удостоєний у 2000 р. Державної премії України в галузі науки і техніки. Це перший підручник для вищої фармацевтичної освіти України. Учений заснував новий науковий напрям – синтез біологічно активних речовин (похідних дикарбонових кислот), створення на їх основі різних гетероциклічних структур і дослідження шляхів циклізації поліфункціональних реагентів в ансамблі гетероциклів. Новизну і пріоритетність його наукових досліджень підтверджують 126 патентів України та Росії, 341 авторське свідоцтво. Валентин Петрович більше 40 років віддав підготовці докторів і кандидатів наук для вищої школи і практичної фармації. За цей час було створено вітчизняну школу хіміків-синтетиків, у рамках якої науковець підготував понад 60 докторів і кандидатів наук, а також (особисто та з учнями) створив 16 лікарських препаратів.

За підсумками багаторічних наукових досліджень у галузі синтезу біологічно активних речовин у 1997 р. професора В. П. Черних було обрано членом-кореспондентом НАН України. В історії фармації України ця подія стала першим прикладом представництва фармації в академічній науці. За наукові досягнення президія академії наук України в 2013 р. нагородила Валентина Петровича Почесним знаком НАНУ.

В. П. Черних – відомий державний і громадський діяч, ініціатор видання 7 наукових журналів ВАК України. Протягом 30 років працював в експертних радах ВАК СРСР та України. На даний час очолює республіканську Проблемну комісію “Фармація” МОЗ України, є головою Науково-методичної комісії з фармації МОН України, членом вченої ради ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України, членом президії Фармакопейного комітету МОЗ України, членом вченої медичної ради МОЗ України, членом бюро Державного фармакологічного центру з реєстрації ЛЗ і ЛП, членом секції хімії та хімічної технології Комітету з Державних премій в галузі науки і техніки, членом колегії Держінспекції з контролю якості лікарських препаратів МОЗ України. В. П. Черних – віце-президент Фармацевтичної асоціації України, президент Фармацевтичної асоціації Харківщини. Його обирали депутатом Київської районної ради народних депутатів м. Харкова (1986) і міської ради народних депутатів (1985–1987). У 1999 р. Міжнародний біографічний центр та Американський біографічний інститут визнали В. П. Черних одним із 500 найбільш впливових і видатних учених світу. Валентин Петрович активно займається міжнародною та просвітницькою діяльністю.

Плідна праця та видатні заслуги відомого вченого, педагога, організатора, державного і громадського діяча були неодноразово відзначені державою: нагороджений орденами “Знак Пошани”, “Трудового Червоного Прапора”, орденами України “За заслуги” I, II, III ступенів, князя Ярослава Мудрого IV і V ступенів, Почесною грамотою Верховної Ради України, почесними грамотами та відзнаками МОЗ і МОН України “Відмінник охорони здоров’я”, “Відмінник освіти України”, “Винахідник СРСР”, “Петро Могила”, відзнакою Харківської облдержадміністрації “Слобожанська слава”, йому присвоєно почесні звання заслуженого винахідника УРСР, заслуженого діяча науки і техніки УРСР.

Харківська громадськість обрала В. П. Черних Почесним громадянином м. Харкова.

Науково-педагогічна й академічна громадськість, колектив і студенти Національного фармацевтичного університету, колеги, друзі, учні від щирого серця вітають відомого вченого, талановитого педагога, видатного організатора та реформатора вищої фармацевтичної освіти, невтомного ентузіаста і патріота фармації, який є яскравим прикладом відданого служіння інтересам освіти, науки, здоров’я людей, інтересам нашої славної України.

Нових Вам, Валентине Петровичу, звершень і злетів, невичерпного творчого натхнення та довголіття.