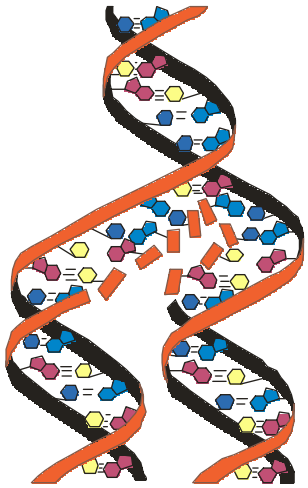
Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



Academy of Medical Sciences of Ukraine
Ternopil State Medical Academy by I.Ya. Horbachevsky
National Medical University by O.O. Bogomolets
Ukrainian Academy of Sciences of National Progress

MEDICAL CHEMISTRY

4 ТОМ 4
2002

SCIENTIFIC JOURNAL

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року
Published since 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 3647
Certificate of state registration: series KB № 3647

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

Відповідно до постанови Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.1999 р. журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних, фармацевтичних і біологічних наук.

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

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

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

Tel.: (0352) 22-97-29
(0352) 25-47-84
Fax: (0352) 22-41-83
E-mail: korda@tdma.ssft.ternopil.ua
http://tdma.ssft.ternopil.ua/journals

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

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

Зміст

ПЕРЕДОВА СТАТТЯ

Дубініна О.Ю. (Санкт-Петербург, Росія) РОЛЬ ОКИСНОГО СТРЕСУ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ (ПСИХІЧНИХ РОЗЛАДАХ) 5

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ільницька О.М., Олексин Г.О., Кусень С.Й., Дробот Л.Б. (Львів) ДИНАМІКА ПРОЦЕСІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В КЛІТИНАХ ЕРИТРОЛЕЙКЕМІЇ ЛЮДИНИ ЛІНІЇ К562, ІНДУКОВАНИХ ІНГІБІТОРАМИ ТИРОЗИНОВИХ ПРОТЕЇНКІНАЗ ГЕРБІМІЦИНОМ А І КВЕРЦЕТИНОМ 13

Коваленко В.М., Борщевська М.І., Жданова Н.Н., Шаяхметова Г.М., Сайфетдінова Г.А., Охріменко В.О., Бишовець Т.Ф. (Київ) АНТИТОКСИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ БІОМЕЛАН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОТРУЄННІ КАДМІЮ СУЛЬФАТОМ 18

Мардашко О.О., Полонський О.П. (Одеса) СТАН СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЇ СИСТЕМИ В ЩУРЕНЯТ, НАРОДЖЕНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ТВАРИН 23

Бульса М.Г. (Щецин, Польща) ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ, КОНЦЕНТРАЦІЯ БІЛКІВ ТА ГЛЮКОЗИ В ПАЦІЄНТОК З ФІБРОМІОМОЮ МАТКИ ТА ЕНДОМЕТРІОЗОМ, ЯКИХ ЛІКУВАЛИ АНАЛОГАМИ ГОНАДОТРОПІН-РИЛІЗИНГ-ГОРМОНУ 27

Георгіянц В.А. (Харків) ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ПРОТИСУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ БЕНЗИЛАМІДІВ МАЛОНАНІЛОВИХ КИСЛОТ ВІД ПАРАМЕТРІВ ЇХ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БУДОВИ 31

Кліщ І.М., Корда М.М. (Тернопіль) ЗАСТОСУВАННЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "СИЛАРД П" ТА ЛІПОСОМ З МЕТОЮ КОРЕКЦІЇ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІЯХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ СОЛЯНОКИСЛИМ ГІДРАЗИНОМ 36

Кухарчук О.Л., Чіпко Т.М. (Чернівці) ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ БЛОКАДИ АТ1-РЕЦЕПТОРІВ ЛОЗАРТАНОМ НА ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ У СЕРЦІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЗВУЖЕННЯ ПРОСВІТУ ЗАДНЬОЇ ПОРОЖНИСТОЇ ВЕНИ 40

Сас Л.М. (Тернопіль) СИНТЕЗ ТА ГІДРОЛІЗ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ З ТИРОКСИНОВИМ ТОКСИКОЗОМ 44

Міщенко О.Я., Яковлєва Л.В., Лелека М.В. (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО АДАПТИВНОГО ЗАСОБУ “ПОЛЛЕНТАР” НА ВИТРИВАЛІСТЬ ЩУРІВ 48

Contents

EDITORIAL

Dubinina O.Yu. (Saint-Petersburgh, Russia) THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS AT PATHOLOGICAL STATES OF NERVOUS SYSTEM (PSYCHICAL DISORDERS) 5

ORIGINAL INVESTIGATIONS

IlnytskaO.M., Oleksyn H.O., Kusen’ S.J., Drobot L.B. (Lviv) DYNAMICS OF DIFFERENTIATION AND APOPTOSIS INDUCED BY TYROSINE PROTEINKINASES INHIBITORS HERBIMYCIN A AND QUERCETIN IN HUMAN ERYTHROLEUKEMIA CELL LINE K562 13

Kovalenko V.M., Borshchevska M.I., Zhdanova N.N., Shayakhmetova H.M., Saifetdinova G.A., Okhrimenko V.O., Byshovetz T.F. (Kyiv) ANTITOXIC PROPERTIES OF BIOMELAN PREPARATION AT EXPERIMENTAL INTOXICATION BY CADMIUM SULPHATE 18

Mardashko O.O., Polonsky O.P. (Odesa) STATUS OF SYMPATHETICOADRENAL SYSTEM IN THE POSTERITY OF THE RATS AFTER IRRADIATION 23

Bulsa M.H. (Schecin, Poland) LIPID PROFILE, CONCENTRATION OF PROTEINS AND GLUCOSE IN PATIENTS WITH UTERUS FIBROMYOMA AND ENDOMERTIOSIS, TREATED BY ANALOGS OF GONADOTROPIN-RELEASINS-HORMONE 27

Georgiants V.A. (Kharkiv) STUDIES OF ANTICONVULSANT ACTIVITY OF MALONANYLIC ACIDS BENZYLAMIDES DEPENDENCE ON THEIR MOLECULAR STRUCTURE PARAMETERS 31

Klishch I.M., Korda M.M. (Ternopil) APPLICATION OF ENTEROSORBENT “SYLLARDUM P” AND LIPOSOMES WITH THE PURPOSE OF CORRECTION OF OXIDIZING PROCESSES IN MITOCHONDRIONS OF DIFFERENT-AGED RATS WITH TOXIC DEFEAT BY HYDRAZINE HYDROCHLORIDE 36

Kukharchuk O.L., Chipko T.M. (Chernivtsi) CHARACTERISTIC OF LOZARTAN-INDUCED AT1-RECEPTORS BLOCKADE ON PROTEOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN RAT HEART AFTER THE NARROWING OF BACK CAVITY VEIN 40

Sas L.M. (Ternopil) SYNTHESIS AND HYDROLYSIS OF ACETYLCHOLINE IN RATS MYOCARDIUM WITH THYROXIN TOXICOSIS 44

Mishchenko O.Ya., Yakovleva L.V., Leleka M.V. (Kharkiv) EXPERIMENTAL LEARNING OF INFLUENCE OF A NEW ADAPTIVE PREPARATION “POLLENTAR” ON THE RATS’ ENDURANCE 48

Тишкін С.М. (Київ) КОРЕКЦІЯ α-ТОКОФЕРОЛОМ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ДІЄЮ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ У ГРУДНІЙ АОРТІ КРОЛІВ 52

Tyshkin S.M. (Kyiv) PREVENTION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RABBIT AORTA AFTER IONIZED IRRADIATION BY α-TOCOPHEROL

Аксентійчук Б.І. (Трускавець, Київ) ТИПИ ЧУТЛИВОСТІ Na,K-АТФАЗИ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ДО РІВНЯ УРИКЕМІЇ ТА ДЕЯКІ ФАКТОРИ, ЩО ЇХ ДЕТЕРМІНУЮТЬ 56

Aksentiychuk B.I. (Truskavets, Kyiv) THE TYPES OF SENSITIVITY OF Na,K-ATP-ASE OF HUMAN ERYTHROCYTES TO LEVEL OF URICAEMIA AND SOME OF THEIR DETERMINING FACTORS

Бережна І.Ю. (Тернопіль) ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІПІНУ, СЕЛЕНИ ТА ПІРАЦЕТАМУ ЗА ЇХ ОКРЕМОГО ТА ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ ПРИ КРОВОВТРАТІ У ВИСОКО- ТА НИЗЬКОСТІЙКИХ ДО ГІПОКСІЇ ЩУРІВ 61

Berezhna I.Yu. (Ternopil) EFFICACY OF LIPIN, SELENIUM AND PYRACETAM AT THEIR SEPARATE AND COMBINED ADMINISTRATION AT CIRCULATORY HEMIC HYPOXIA IN ANIMALS WITH DIFFERENT OXYGEN DEFICIENCY RESISTANCE

Гоженко А.І., Куксань Н.І., Погоріла І.В. (Одеса) ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ПРИ ХРОНІЧНІЙ БЛОКАДІ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ В ЩУРІВ 65

Hozhenko A.I., Kuksan' N.I., Pohorila I.V. (Odesa) FUNCTIONAL CONDITION OF KIDNEYS AT CHRONIC BLOCKADE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS IN RATS

Кравець Т.В. (Рівне) ВПЛИВ ФЛУРЕНІЗИДУ НА ВМІСТ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЖІНОК З ФАКТОРАМИ РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ 69

Kravets T.V. (Rivne) THE INFLUENCE OF FLURENIZIDE ON THE CONTENT OF MEDIUM MASS MOLECULES IN WOMEN WITH PRESENCE OF RISK FACTORS OF INFECTIOUS COMPLICATIONS AFTER THE OPERATION OF CESAREAN SECTION

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

BRIEF REPORTS

Хара М.Р. (Тернопіль) ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ГЛІКОЛІЗУ, ПОЛ ТА АОС У САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ З АДРЕНАЛІНОВОЮ МІОКАРДІОДИСТРОФІЄЮ 73

Khara M.R. (Ternopil) GLYCOLYSIS, POL AND AOS INDICES DINAMICS OF FEMALE AND MALE RATS WITH ADRENAL MYOCARDIODYSTROPHY

Трінус Ф.П., Бухтіарова Т.А., Ядловський О.Є., Хоменко В.С., Шатиркіна Т.В., Бершова Т.А., Омельяненко З.П., Сопіна І.Л. (Київ) ФАРМАКОДИНАМІКА ПІРОДАЗОЛУ ТА ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ 76

Trinus F.P., Bukhtiyarova T.A., Yadlovsky O.Ya., Khomenko V.S., Shatyrkina T.V., Bershova T.A., Omelianenko Z.P., Sopina I.L. (Kyiv) PHARMACODYNAMICS OF PIRODAZOL AND PARACETAMOL AT THE EXPERIMENT

Банадига Н.В., Рибіна Т.В., Кміта І.В., Рогальський І.О. (Тернопіль) ЗАЛЕЖНІСТЬ ФУНЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ ВІД ПЕРЕБІГУ БРОНХІТУ У ДІТЕЙ 79

Banadyga N.V., Rybina T.V., Kmita I.V., Rogalsky I.O. (Ternopil) DEPENDENCE OF BRONCHITIS SEVERITY IN CHILDREN ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTIVE SYSTEM

ОГЛЯДИ

REVIEWS

Юкало В.Г., Луговий Б.Л. (Тернопіль) ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ПЕПТИДИ КАЗЕЇНОВОГО ПОХОДЖЕННЯ 82

Yukalo V.G., Luhovyy B.L. (Ternopil) PHYSIOLOGICALLY ACTIVE CASEIN-DERIVED PEPTIDES

МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS

Ісаєв С.Г., Павлій О.І., Свєчнікова О.М. (Харків) КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ЗАМІЩЕНИХ 3,5-ДИНІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ 93

Isayev S.G., Pavliy O.I., Sviechnikova O.M. (Kharkiv) QUANTITATIVE DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF 3,5-DINITRO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

ІНФОРМАЦІЯ, ХРОНІКА, ЮВІЛЕЇ

INFORMATION, CHRONICLE, JUBILEES

Гонський Я.І., Губський Ю.І. (Тернопіль, Київ) АКАДЕМІК ІВАН ГОРБАЧЕВСЬКИЙ: 60 РОКІВ З ЧАСУ СМЕРТІ ТА 120 РОКІВ ВІД ЧАСУ СИНТЕЗУ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ 96

Honsky Ya.I., Hubsky Yu.I. (Ternopil, kyiv) ACADEMIAN IVAN HORBACHEVSKY: 60 YEARS FROM THE DATE OF DEATH AND 120 YEARS FROM THE TIME OF URINE ACID SYNTHESIS

Мещищен І.Ф. (Чернівці) VIII УКРАЇНСЬКИЙ БІОХІМІЧНИЙ З'ЇЗД 98

Meshchyshyn I.F. (Chernivtsi) THE VIII-th UKRAINIAN BIOCHEMICAL CONGRESS

УДК 577.352

РОЛЬ ОКИСНОГО СТРЕСУ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ (ПСИХІЧНИХ РОЗЛАДАХ)

О.Ю. Дубініна
ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. В.М. БЕХТЄРЕВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, РОСІЯ

В огляді висвітлено основні положення про значущість вільнорадикальних процесів у функціонуванні нервової тканини. Розглянуто питання про високу чутливість нервової тканини до окисного стресу. Представлено сучасні дані про роль цього стресу в розвитку патологічних станів нервової тканини. Окисний стрес оцінено з позицій однієї з патогенетичних ланок у розвитку ряду психічних порушень у людини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **окисний стрес, прооксидна система, антиоксидний захист, перекисне окиснення білків, окисна деструкція білків, нервова тканина, психічні розлади.**

Метаболічні процеси в тканинах супроводжуються утворенням ряду реакційноздатних форм кисню. До них належать супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильний ($OH^{\cdot}$), алкоксильний ($RO^{\cdot}$) і пероксильний ($ROO^{\cdot}$) радикали, перекис водню (H_2O_2), синглетний кисень ($^1O_2$), гіпохлорит (HOCl), оксид азоту (NO), пероксинітрат ($ONOO^-$). Усі ці сполуки мають загальну назву – активні форми кисню (АФК) [5, 6, 16].

АФК в організмі, який нормально функціонує, беруть участь у метаболізмі структурних компонентів клітинних мембран (білків, ліпідів, вуглеводів) та, відповідно, регулюють не тільки швидкість їхнього метаболізму, але і функціональний стан самої мембрани клітини. З метаболізмом АФК пов'язують зміни мембранної рухливості, плинності, деполяризацію мембран. Дія АФК в організмі фактично спрямована на 3 типи клітинних мішеней: білки, нуклеїнові кислоти і ліпіди. У нормі вони беруть активну участь у їхньому метаболізмі, а при патологічних станах – у їхній окисній деструкції.

Останнім часом обговорюється питання про те, що АФК і їхні радикальні метаболіти можуть відігравати роль вторинних месенджерів [24, 50]. Вони регулюють різні процеси в тканинах, включаючи ріст клітин, апоптоз, клітинну адгезію. Важливе значення має участь оксидантів як месенджерів у метаболізмі Ca^{++}, процесах фосфорилювання білків. У здоровому організмі АФК варто розглядати з позицій їхньої біологічної активності. З однієї сторони – це продукти окисно-відновних реакцій, які нормально перебігають, з іншої – специфічні регулятори метаболічних процесів. Процеси, пов'язані з генерацією реакційноздатних радикальних продуктів, і процеси, пов'язані з окисною деструкцією біополімерів за рахунок цих сполук, можна умовно об'єднати поняттям "прооксидна система" (ПОС).

© О.Ю. Дубініна – д.м.н., проф., 2002.

В організмі функціонує антиоксидний захист (АОЗ), що забезпечує стабільний рівень АФК. АОЗ містить у собі ферменти-антиоксиданти і компоненти неферментативного захисту [8, 9, 15, 16, 17, 28]. В організмі підтримується певне співвідношення між компонентами АОС (антиоксидної системи) і ПОС, що забезпечує нормальний перебіг метаболічних процесів у тканинах.

Особливості вільнорадикальних процесів у мозковій тканині

Інтенсивність вільнорадикальних процесів і стан АОС залежать перш за все від особливостей метаболічних процесів у тканинах і, відповідно, того функціонального навантаження, яке несуть ці тканини в організмі. Велике значення мають не тільки абсолютні величини АОС і ПОС, але і їхнє співвідношення між собою, буферна ємність АОС.

Деякі тканини (мозок, сітківка ока, легені) мають високу чутливість до окисного стресу (ОС). У мозковій тканині це зумовлено її біохімічними, фізіологічними й анатомічними особливостями [29]. Метаболічні процеси в

мозковій тканині відзначаються високим ступенем залежності від насичення киснем. Мозок використовує для своїх цілей 1/5 частину кисню, що надходить в організм. Процеси аеробного окиснення в ньому перебігають з великою швидкістю. Мембрани нервових тканин головного мозку містять високі концентрації поліненасичених жирних кислот. У мозковій тканині присутні іони металів перемінної валентності, що зв'язані з низькомолекулярними сполуками, у такій формі вони можуть активно включатися в процеси генерації АФК. У спинномозковій рідині залізо має активну форму через низький вміст трансферину. Активна форма заліза необхідна для зв'язування певних нейротрансмітерів (серотоніну, дофаміну) зі своїми рецепторами і бере участь у процесах навчання, пам'яті, поведінкових реакціях [5].

Для мозкової тканини характерна низька активність окремих компонентів ферментативного АОЗ, зокрема каталази, що локалізована в мікропероксисомах нейронів [14, 29]. Вміст СОД і глутатіонпероксидази помірний, але розподіл цих ферментів не рівномірний у різних відділах мозку. Неферментативний АОЗ представлений вітаміном Е, каротиноїдами, убіхінонами Q_9 і Q_{10}.

У недоношених дітей з низьким рівнем вітаміну Е пов'язують розвиток нейропатій. Лікування вітаміном Е сприяє затримці розвитку неврологічних ускладнень [35]. У дослідах на тваринах показано, що виснаження вітаміну Е і нагромадження продуктів пероксидації призводять до ОС, що супроводжується розвитком різних неврологічних порушень. Участь вітаміну Е як антиоксиданта пов'язана з утворенням токоферольного радикала, що відновлюється аскорбіновою кислотою чи за рахунок глутатіонзалежних реакцій [21, 41].

Аскорбінова кислота і відновлені тіоли функціонують як основні антиоксиданти цитозолю. Виявлено високий рівень даної кислоти в сірій і білій речовинах головного мозку, особливо в гіпокампі та гіпоталамусі, спинномозковій рідині. У судинному сплетенні є спеціальна активна транспортна система, що забезпечує збільшення її вмісту в цереброспінальній рідині. Клітини нервової тканини також мають транспортну систему, що підтримує високий внутрішньоклітинний вміст аскорбінової кислоти [19]. Аскорбат реагує з АФК з утворенням дегідроаскорбатного радикала, що відновлюється за рахунок глутаніонового циклу. Однак при ураженні мозку, коли підвищується рівень активної форми заліза, аскорбінова кислота може стимулювати утворення $OH^{\cdot}$-радикала, відіграючи роль прооксиданта.

Тіоли у відновленій формі в присутності металів змінної валентності можуть утворювати реакційноздатні сполуки типу RS (тіоловий радикал) і $OH^{\cdot}$. Плазмогени мозкової тканини виявляють антиоксидні властивості, захищаючи ліпіди від залізо- і мідьзалежного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Припускають, що це пов'язано з процесами хелатування.

Необхідно врахувати, що в різних відділах мозку активність АОЗ не однакова. В експерименті на тваринах показано, що неокортекс гіпокампа володіє більш низьким АОЗ, порівняно із задньою стовбуровою ділянкою мозку. Виявлено особливо низький вміст вітаміну Е в мозочку [39].

Для мозкової тканини характерна велика швидкість метаболізму біогенних амінів, що пов'язано з генерацією АФК. Зокрема, моноаміноксидаза, каталізуючи окисне дезамінування дофаміну, утворює H_2O_2. В умовах ОС це може бути додатковим джерелом генерації реакційноздатних радикальних продуктів, що у присутності металів змінної валентності ініціюють ПОЛ [20].

У мозковій тканині мікроглія функціонує, як і макрофаги, генеруючи супероксидний аніонрадикал, що має велике функціональне значення для ЦНС, особливо в умовах інфекційного ураження [22].

Інтенсифікація процесів окисної модифікації компонентів клітинної мембрани нейронів може бути причиною змін, пов'язаних зі здатністю мембран генерувати, проводити і відтворювати нервовий імпульс, діяльністю рецепторних, медіаторних і енергетичних систем. Ступінь вираження цих змін залежить від збалансованості АОС і ПОС, буферної ємності АОС нервової тканини.

Роль окисного стресу в розвитку патологічних станів у нервовій тканині

Посилення вільнорадикальних процесів і розвиток ОС є одним з патогенетичних ланок неврологічних і психічних уражень ЦНС. З розвитком ОС пов'язують усі запальні й травматичні ураження мозку, психічні порушення (шизофренію, епілепсію, депресивні стани), множинний розсіяний склероз, хворобу Дауна, алкоголізм і наркоманію, хімічні інтоксикації, гіпероксію і гіпербаричну оксигенацію. Процеси старіння організму також перебігають на тлі окисного стресу, і, відповідно, вільнорадикальні процеси втягуються у патофізіологію всіх супровідних захворювань мозку, зокрема нейродегенеративних.

Механізм генерації АФК при всіх цих захворюваннях має загальний характер. Деякі відмінні риси можна виявити тільки на початкових

стадіях. Так, при запальних процесах пусковим фактором інтенсифікації вільнорадикальних процесів є "дихальний вибух", при гіпоксії – порушення системи тканинного дихання, при хімічних ураженнях – активація системи мікросомального окиснення.

Таким чином, причини, що викликають інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, можуть бути різними, але зміни на молекулярному рівні мають однотипний характер і процеси генерації АФК тісно пов'язані між собою. Загальним для всіх захворювань є посилення вільнорадикальних процесів, зниження буферної ємності АОС і порушення мобілізації її у відповідь на підвищення активності ПОС (рис. 1).

Для нервової тканини особливе місце в генерації АФК при станах ОС займають порушення функції системи тканинного дихання мітохондрій, метаболізм арахідонової кислоти і катехоламінів, ксантиноксидаза.

При станах гіпоксії спостерігаються зниження інтенсивності тканинного дихання, нагромадження коферментів у відновленому стані й недоокиснених продуктів метаболізму. Це особливо небезпечно для мозкової тканини, де основним джерелом енергії є аеробне окиснення субстратів. Порушення системи тканинного дихання призводить до інтенсивної генерації АФК, роз'єднання окисного фосфорилювання, підвищення рівня лактату і, відповідно, до ацидозу. Зі зниженням синтезу АТФ пов'язують порушення системи функціонування активного транспотру іонів Na^+, K^+ та зменшення активності Na^+, K^+, Ca^{++}-АТФаз. Усе це створює умови для додаткової генерації активних форм кисню [18].

У мозковій тканині при патологічних станах особливе місце займає окисна модифікація білків. Вважається, що окисна деструкція білків, а не ПОЛ, є маркером патолгічних змін у нервовій тканині [11]. З окисною деструкцією білків пов'язані порушення рецепторного апарату нейронів, іонних каналів і насосів. Показано, що окисне пошкодження білків призводить до зниження активності Na^+-, K^+-АТФази, глутамінсинтетази, ферментів, що забезпечують підтримку іонного градієнта і зниження концентрації збудливих медіаторів [1, 2, 13]. Зменшення вмісту імунореактивних основних мієлінових білків, гліальних фібрилярно-кислих білків у ділянці ураження мієліну також зумовлене окисною десткукцією останніх [34].

Мітохондріальна ДНК має високу чутливість до окисного ушкодження, тому що вона не захищена від окиснення гістонами чи іншими білками [45]. Окисна деструкція ДНК супроводжується хромосомними змінами, генними мутаціями і загибеллю клітини. Саме H_2O_2 має до цього специфічне відношення. Проникаючи всередину ядра, вона реагує з хроматин-хроматинзв'язаним залізом, що пов'язано з генерацією OH^- [33]. Порушення структури нуклеїнових кислот призводить до синтезу мутантних форм білків мозкової тканини. Мутантні форми протеоліпідного білка з'являються при де- і гіпомієлінізувальних захворюваннях у дітей. Протеоліпідний білок є основним білком мієліну ЦНС (50 % від усіх білків), який у мієліновій оболонці зв'язаний з пальмітиновою кислотою за допомогою тіолових груп. Мутантні форми цього білка не виявляються в мієліні, а накопичуються в ретикулумі, що супроводжується загибеллю олігодендроцитів [27]. Таким чином, окисна деструкція ДНК призводить до синтезу мутантних форм білків, у тому числі ферментів системи тканинного дихання, що, у свою чергу, сприяє додатковій генерації АФК.

Особливе місце в нервовій тканині займає метаболізм арахідонової кислоти як одного з джерел АФК при ОС [30].

Арахідонова кислота є головною складовою частиною фосфоліпідів мозкової тканини, з метаболізмом якої пов'язаний синтез білків активних сполук – простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксанів. У ході ферментативних реакцій каскаду арахідонової кислоти можлива генерація АФК. При мозкових травмах рівень арахідонової кислоти значно підвищується, що супроводжується набряком мозку, збільшенням проникності гематоенцефалічного бар'єру, інгібуванням системи тканинного дихання, зростанням вмісту лактату і розвитком ацидозу [51]. У дослідах in vitro показано, що набряк клітин у зрізах мозку пов'язаний з інтенсифікацією ПОЛ і підвищенням рівня арахідонової кислоти.

Арахідонова кислота інгібує Na^+-, K^+-АТФазу, тому надходження натрію в клітину не може компенсуватись за рахунок роботи Na^+-, K^+-АТФази. Таким чином, арахідонова кислота викликає порушення водно-електролітного обміну, збільшуючи інтрацелюлярний вміст натрію й екстрацелюлярний вміст калію, що може бути причиною набряку мозку. Порушення розподілу іонів призводить до часткової деполяризації мембран і відкриття Ca^+-каналів [48, 51].

У результаті інтенсивного синтезу катехоламінів при ОС можлива додаткова генерація АФК. В умовах ОС унаслідок підвищення пулу металів змінної валентності в активній формі відбувається автоокиснення адреналіну, норадреналіну, ДОФА, 6-гідроксидофаміну, що

супроводжується генерацією радикальних продуктів. Так, Mn-іон прискорює окиснення катехоламінів з утворенням АФК та інших реакційноздатних сполук. Це призводить до дегенерації катехоламінових рецепторів, клінічні прояви яких спостерігаються в шахтарів, які добувають марганцевмісну руду [29].

АФК утворюються також за рахунок ксантиноксидазної реакції. Виявлено високу активність цього ферменту в стінці мозкових судин. У нормі в тканинах функціонує ксантиндегідрогеназа, яка в умовах інтенсифікації вільнорадикальних процесів перетворюється в ксантиноксидазу. Ураження капілярів за рахунок генерації АФК призводить до виникнення постішемічного токсичного мозкового набряку [31]. Із ксантиноксидазою і генерацією АФК в умовах ОС пов'язують порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру і розвиток вазогенного набряку [51].

Порушення цілісності мембран нейронів при ОС супроводжується інтенсивним вивільненням екзайтотоксичних медіаторів: глутамату, допаміну, серотоніну, катехоламінів [3]. У результаті спонтанного окиснення допаміну і його ферментативного перетворення під впливом моноамінооксидази відбувається генерація $O_2^{\cdot-}$ [4, 40]. Глутамат, інгібуючи транспорт цистину, гальмує синтез глутатіону [38]. Гіперстимуляція глутаматних рецепторів, зумовлена зростанням пресинаптичного викиду і порушенням механізмів зворотного захоплення глутамату в умовах енергетичного дефіциту, супроводжується нагромадженням Ca^{++} у цитозолі за рахунок відкриття каналів [25]. N-метил-D-аспартат і каїнат сприяють відкриттю іонних каналів, зв'язаних із глутаматними рецепторами, і швидкому надходженню Ca^{++} у клітину [3].

Порушення метаболізму Ca^{++} займає центральне місце при ОС, що супроводжується глибокими структурно-функціональними порушеннями в нейронах з наступною їхньою загибеллю [23, 32]. У результаті окисної деструкції ліпідів і білків клітинних мембран Ca^{++} починає активно надходити з внутрішньоклітинних депо (саркоплазматичний ретикулум, мітохондрії) й екстрацелюлярного простору в цитоплазму. Паралельно порушується його відтік із клітин у навколишнє середовище внаслідок інгібування Ca^{++}-залежної АТФази [53]. Рівень Ca^{++} може зростати до 20 мкМ. Клітина дуже чутлива до змін вмісту цитозольного Ca^{++}. Підвищення рівня Ca^{++} призводить до зниження вмісту АТФ і додаткового порушення в системі мітохондрій. Із Ca^{++} пов'язана активація великої групи ферментів, що беруть участь у руйнуванні окисно-модифікованих білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, утворенні NO.

Порушення Ca^{++}-метаболізму тісно пов'язані зі зміною Na^+-, K^+-обміну, порушенням іонної провідності й утворенням вторинних месенджерів, до яких належить арахідонова кислота, звільнення якої стимулюється Ca^{++} і глутаматом. У свою чергу, арахідонова кислота збільшує звільнення глутамінової кислоти з пресинаптичних терміналей, інгібує зворотне її захоплення, прискорює надходження Ca^{++} з екстрацелюлярного простору за рахунок активації Ca^{++}-каналів [49]. З підвищенням рівня Ca^{++} пов'язують активацію кальмодулінзалежної протеїнкінази, що бере участь у перетворенні ксантиндегідрогенази в ксантиноксидазу [51].

Таким чином, при ОС спостерігаються глибокі порушення метаболічних процесів, що супроводжуються загибеллю нейронів. На перших стадіях загибель нейронів пов'язана з апоптозом – запрограмованою загибеллю клітин. В умовах ОС організм включає механізми, що прискорюють процес апоптозу як захисну реакцію, спрямовану на виживання в екстремальних умовах. Порушення механізмів регуляції апоптозу може супроводжуватися додатковим підвищенням генерації АФК, виснаженням АОЗ, порушенням іонно-електролітного обміну.

При апоптозі в нейронах спостерігається зниження рівня відновленого глутатіону і цистину, необхідного для синтезу глутатіону і сірковмісних білків. Порушення тіолового метаболізму, у свою чергу, пов'язане з токсичною дією глутамату, що регулює перенесення цистину в клітину [43].

На більш глибоких стадіях ОС відбувається загибель нейронів за рахунок некрозу. Початкова стадія пов'язана з глутаматстимулювальним надходженням Na^+ у нейрон під час деполяризації мембран. Порушується інтра- й екстрацелюлярний баланс Cl^-. Посилене надходження іонів натрію і хлору в нейрон підвищує клітинну осмомолярність, що призводить до активного надходження води, набряку і лізису нейронів [48, 51].

Таким чином, ОС можна розглядати як один із потенційних механізмів патогенезу нейродегенеративних і психічних захворювань, що супроводжуються ураженням тих чи інших ділянок ЦНС.

Роль окисного стресу при психічних захворюваннях людини

Останнім часом велику увагу приділяють ролі ОС як однієї з патогенетичних ланок при розвитку ряду психічних порушень (шизофренії, епілепсії, депресії, хвороби Дауна). Це зу-

мовлено тим, що структура і функція біомембран нейронів, мембранозв'язаних білків, таких, як рецептори, ферменти, іонофори, залежать від інтенсивності вільнорадикальних процесів в організмі [7, 11].

Показано, що розвиток у корі головного мозку тварин осередкової чи первинногенералізованої епілептичної активності супроводжується різкою активацією ПОЛ у ділянці гіперактивності. Паралельно відзначався підвищений вміст продуктів ПОЛ і в крові тварин [12]. Введення тваринам антиоксидантів сповільнювало розвиток епілепсії і послаблювало її інтенсивність. Під час дослідів in vitro було виявлено, що протисудомні препарати здатні інгібувати ПОЛ мембран мозку [11]. У хворих з різними формами епілепсії й у дітей із судомним синдромом був високим рівень ПОЛ у крові. Підвищення рівня продуктів ПОЛ супроводжувалося зниженням активності СОД і глутатіонпероксидази.

При посттравматичній епілепсії внаслідок руйнування еритроцитів і гемоглобіну відбувається вивільнення заліза в його активній формі. Це супроводжується утворенням АФК, ініціацією ПОЛ і загибеллю нейронів. У дослідах in vitro показано, що введення Нв і солей заліза в ділянку кори мозку щурів призводить до виникнення хронічних епілептичних вогнищ. З генерацією $OH^{\cdot}$ пов'язують прискорення синтезу метилгуанідину і гуанідиноцтової кислоти – ендогенних конвульсантів. Використання антиоксидантів у ранній термін після травми може дати позитивний ефект [36].

Про стан ОС при психічних захворюваннях в основному судять за інтенсивністю ПОЛ. Так, виявлено підвищення ПОЛ у сироватці крові хворих з маніакально-депресивними розладами, шизофренією. ПОЛ розглядають як вибіркову реакцію загального патофізіологічного процесу у хворих із психічними розладами. У хворих на шизофренію підвищення рівня первинних і вторинних продуктів ПОЛ корелює з важкістю захворювання, що вказує на залучення ПОЛ у патофізіологію процесу [42, 47].

Однак останнім часом усе більшу увагу приділяють окисній деструкції білків, що може мати специфічний характер і бути одним з маркерів пошкодження мозку [29]. Так, проведений нами порівняльний аналіз окисної модифікації білків плазми крові показав чіткі відмінності в здорових людей, хворих з депресією і деперсоналізаційним синдромом.

У хворих з деперсоналізаційним синдромом було виявлено більш високий рівень бітирозинових зшивок білків, порівняно з хворими з депресією. Можливо, у хворих з деперсоналізацією за рахунок більш вираженої окиснюваності тирозину відбувається утворення бітирозинових зшивок ендогенних опіоїдів, що впливає на характер їх зв'язування зі своїми рецепторами. Характер і ступінь вираження окисних перетворень білків рецепторного апарату і самих нейропептидів, мабуть, забез-

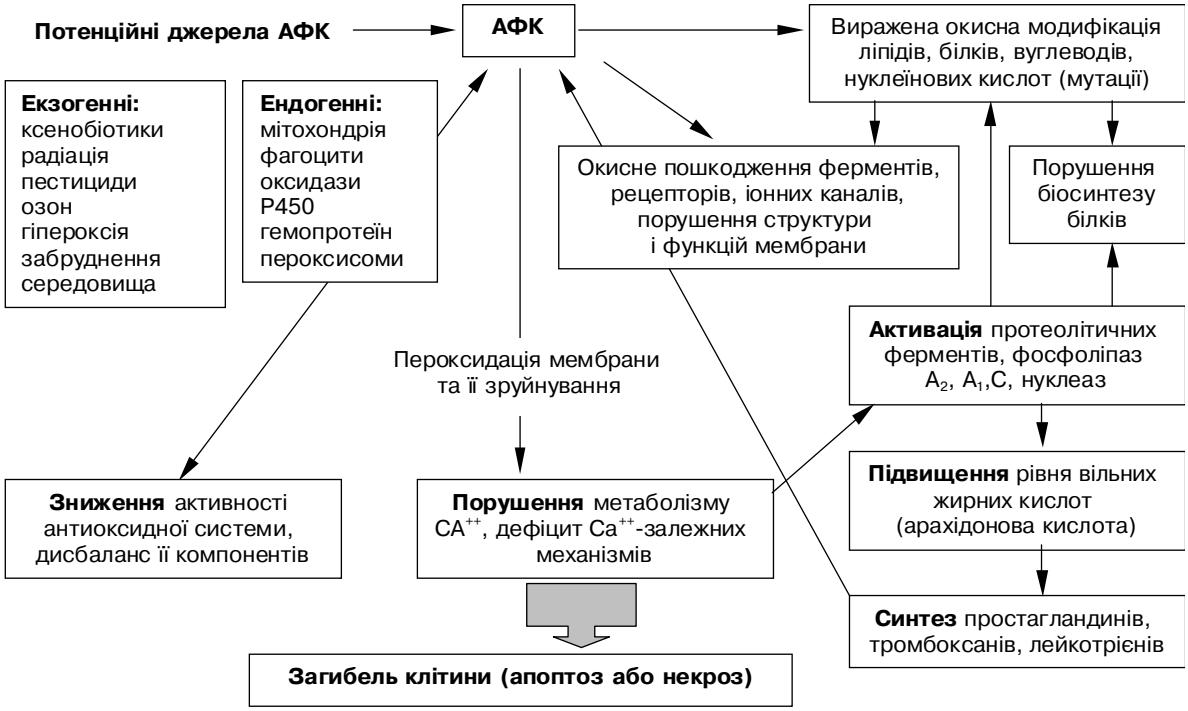


Рис. 1. Окисний стрес як патогенетична ланка при захворюванні.

печують міцніший зв'язок між ними, що зумовлює виникнення аналгезивного ефекту, характерного для даного захворювання [10].

Розвиток ОС при патологічних станах, як правило, пов'язують з активацією процесів генерації АФК, розглядаючи їх як першопричину метаболічних порушень у тканинах. Однак при ряді психічних станів (хворобі Дауна, маніакально-депресивних психозах, параної, галюцинації, корсаківському захворюванні) на першому місці – дисбаланс ферментативних компонентів АОЗ. Це пов'язано перш за все зі збільшенням активності СОД у тканинах. Підвищення активності СОД еритроцитів виявлено у хворих на шизофренію з маніакально-депресивними психозами, синдромом Дауна [44, 46].

Для синдрому Дауна характерна наявність 3-х хромосом 21 замість нормальних 2-х. Оскільки СОД кодується одним з генів 21 хромосоми, вміст СОД у всіх тканинах, включаючи мозок, збільшується на 50 %. Вважають, що підвищення співвідношення СОД до каталази в еритроцитах хворих із синдромом Дауна призводить до дисбалансу в АОС і є причиною прискореного старіння організму [37]. Відомо, що рівень СОД і відповідної мРНК особливо високий у гіпокампі пірамідальних нейронів, що дуже чутливі до дегенеративних процесів, характерних при хворобі Альцгеймера [46].

Підвищення активності СОД у мозковій тканині супроводжується збільшенням вмісту H_2O_2 і пероксидазним руйнуванням нейронів. Зниження рівня $O_2^{\cdot-}$ призводить до порушення метаболізму біогенних амінів. Знижується активність індолфенолдиоксигенази, що регулює рівень диметилтриптаміну, галюциногенного амінокислотного інтермедіату. Клінічні спостереження показали, що висока активність СОД пов'язана з важким ступенем дебільності. Психічні порушення при синдромі Дауна менш важкі у хворих з помірним підвищенням активності СОД [26].

Таким чином, окисний стрес, пов'язаний з інтенсивною генерацією АФК чи порушенням АОЗ і дисбалансом її компонентів, є однією з першопричин загибелі нейронів за рахунок апоптозу або некрозу при ряді нервових і психічних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болдырев А.А., Булыгина Е.Р., Волынская Е.А. и др. Влияние пероксида водорода и гипохлорида на активность Na,K-АТФазы мозга // Биохим. – 1995. – **60,** № 10. – С. 1688-1695.

2. Болдырев А.А. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – С. 17-20.

3. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Свободные радикалы в нормальном и ищемическом мозге // Нейрохим. – 1996. – **13,** № 4. – С. 271-278.

4. Болдырев А.А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга // Биохим. – 1995. – **60,** № 9. – С. 1536-1542.

5. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Биофизика. – 1991. – **29.** – С. 4-245.

6. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. – 1998. – № 7. – С. 43-45.

7. Гуляева Н.В., Ерин А.Н. Роль свободнорадикальных процессов в развитии нейродегенеративных заболеваний (болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера) // Нейрохим. – 1995. – **12,** № 12. – С. 3-15.

8. Дубинина Е.Е. Активные формы кислорода и их роль в развитии оксидативного стресса // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии / Под ред. И.Г. Щербака. – С.Пб.: Изд-во С.Пб. ГМУ, 1998. – С. 386-398.

9. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992. **– 64,** № 2. – С. 3-14.

10. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Т.В. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия и деперсонализация) // Вопр. мед. хим. – 2000. – **46,** № 4. – С. 398-409.

11. Ерин А.Н., Гуляева Н.В., Никушкин Е.В. Свободнорадикальные механизмы в церебральных патологиях // Бюл. эксперим. биол. – 1994. – **118**, № 10. – С. 343-348.

12. Крижановский Г.Н., Никушкин Е.В., Браславский Е.В. и др. Липопероксидация в гиперактивном фокусе коры головного мозга крыс // Бюл. эксперим. биол. – 1980. – **89**, № 1. – С. 14-16.

13. Курема Е.Г., Каган В.Е., Болдырев А.А. Чувствительность Na/K-АТФазы мозга и почек к свободнорадикальным формам кислорода // Нейрохим. – 1996. – **13**, № 4. – С. 314-320.

14. Левадная О.В., Донченко Г.В., Валуцина В.М. и др. Соотношение между величинами активности антиоксидантной системы в различных тканях интактных животных // Укр. биохим. журн. – 1998. – **70**, № 6. – С. 53-58.

15. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных процессов // Усп. совр. биол. – 1993. – **113,** № 4. – С. 442-455.

16. Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид кислорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии. – М.: Мир, 1979. – 1. – С. 272-314.

17. Янковский О.Я. Токсичность кислорода и биологические системы. Эволюционные, экологические и медицинские аспекты. – С.Пб.: Игра, 2000. – 295 с.

18. Cadenas E., Davies K.J.A. Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress, and Aging // Free Rad. Biol. Med. – 2000. – **29,** № 3-4. – P. 222-230.

19. Cadenas E., Packer L. Handbook of Antioxidants. – New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, 1996. – 602 p.

20. Cadet J.L., Brannock C. Free Radicals and the pathobiology of brain dopamine systems // Neurochem. Int. – 1998. – **32**. – P. 117-131.

21. Chow C.K. Vitamin E and Oxidative Stress // Free Rad. Biol. Med. – 1991. – **11**, № 2. – P. 215-232.

22. Colton C.A., Gilbert D.L. An endogenous source of superoxide anion in central nervous system // Oxyg. Rad. Biol. Med.: 4th Int. Congr. – New York-London, 1988. – P. 1005-1010.

23. Dyatlov V.A., Makovetskaia V.V., Leonhardt R. et al. Vitamin E enhances Ca^{2+}-mediated vulnerability of immature cerebellar granule cells to ischemia // Free Rad. Biol. Med. – 1998. – **25**, № 7. – P. 793-802.

24. Gamaley I.A., Klyubin I.V. Roles of Reactive Oxygen Species Signaling and Regulation of Cellular Functions // Inter. Rev. Cytol. – 1999. – **188.** – P. 203-255.

25. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system // TINS. – 1991. – **14**, № 2. – P. 60-67.

26. Gotz M.E., Kuning G., Riederer P., Youdim M.B.H. Oxidative stress; Free Radical Production in Neural Degeneration // Pharmacol. Ther. – 1994. – **63.** – P. 37-122.

27. Gow A., Friedrich V.L., Lazzarini R.A. Many Naturally Occuring Mutations of Myelin Proteolipid Protein Impair its Intracellular Transport // J. Neurosci. Res. – 1994. – **37**, № 5. – P. 574-583.

28. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids // Arch. Biochem. Biophys. – 1990. – **280**, № 1. – P. 1-18.

29. Halliwell B. Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System // Free Rad. in the Brain. Aging. Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Philipko, Y. Christen. – Berlin-New York-London: Springer-Verlag, 1992. – P. 21-40.

30. Holtzman M.J. Arachidonic Acid Metabolism // Am. Rev. Respir. Dis. – 1991. – **143**, № 1. – P. 188-203.

31. Lo W.D., Betz A.L. Oxigen Free Radical Reduction of Brain Capillary Rubidium Uptake // J. Neurochem. – 1986. – **46,** № 2. – P. 394-398.

32. Martinez-Cayuela M. Oxygen free radicals and human disease // Biochim. – 1995. – **77**, № 3. – P. 147-161.

33. Martins E.A.L., Meneghini R. DNA Damage and Lethal Effects of Hydrogen Peroxide and Menadione in Chinese Hamster Cells: Distinct Mechanisms are Involved // Free Rad. Biol. Med. – 1990. – **8**, № 5. – P. 433-440.

34. Mickel H.S., Oliver C.N., Starke-Reed P.E. Protein oxidation and myelinolysis occur in brain following rapid correction of hyponatremia // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1990. – **172**. – P. 92-97.

35. Mino M. Clinical Uses and Abuses of Vitamin E in Children // P.S.E.B.M. – 1992. – **200**. – P. 266-270.

36. Mori A., Hiramatsa M., Yokoi I. Posttraumatic Epilepsy, Free Radicals and Antioxidant Therapy // Free Rad. in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Prilipko, Y. Christen. – Berlin-New York-London: Springer-Verlag, 1992. – P. 109-122.

37. Muchova J., Sustrova M., Garaiova I. et al. Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down syndrome patient // Free Rad. Biol. Med. – 2001. – **31,** № 4. – P. 499-508.

38. Murphy T.H., Miyamoto M., Sastre A. et al. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress // Neuron. – 1989. – **2**. – P. 1547-1558.

39. Nistico G., Ciriolo M.R., Fiskin K. et al. NGF Restores decrease in Catalase Activity and Increases Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Activity in the Brain of Aged Rats // Free Rad. Biol. Med. – 1992. – **12,** № 3. – P. 177-181.

40. Olanow C.W. A radical hypothesis for neurodegeneration // Trends Neurosci. – 1993. – **16**, № 11. – P. 439-444.

41. Packer L. Free Radical Scavengers and Antioxidants in Prophylaxy and Treatment of Brain Diseases // Free Rad. in the Brain. Aging. Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Philipko, Y. Christen. – Berlin-New York-London: Springer-Vedag, 1992. – P. 1-20.

42. Prilipko L. The Possible Role of Lipid Peroxidation in the Pathophysiology of Mental Disorders // Free Rad. in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Prilipko, Y. Christen. – Berlin-New-York-London: Springer-Verlag. 1992. – P. 146-152.

43. Ratan R.R., Murphy T.H., Baraban J.M. Macromolecular Synthesis Inhibitors Prevent Oxidative Stress-induced Apoptosis in Embryonic Cortical Neurons by Shunting Cysteine from Protein Synthesis to Glutathione // J. Neurosci. – 1994. – **14,** № 7. – P. 4385-4392.

44. Reddy R., Sahebarao S., Mukherjee S., Murthy J.N. Enzymes of the Antioxidant Defense System in Chronic Schizophrenic Fattens // Biol. Psychiatry. – 1991. – **30**. – P. 409-412.

45. Schigenaga M.K., Hagen T., Ames B.N. Oxidative damage and mitochondrial decay in agind // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – **91.** – P. 10771-10778.

46. Sinet P.-M., Ceballos- Picot I. Role of Free Radicals in Alzheimefs Disease and Down's syndrome // Free Rad. in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Prilipko, Y. Christen. –

Berlin-New York-London: Springer-Verlag, 1992. – P. 91-98.

47. Sram R.J., Binkova B. Side Effects of Psychotropic Therapy // Free Rad. in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders / Eds. by L. Packer, L. Prilipko, Y. Christen. – Berlin-New York-London: Springer-Verlag, 1992. – P. 153-166.

48. Staub F., Winkler A., Peters J. et all. Swelling, Acidosis, and Irreversible Damage of Glial Cells from Exposure to Arachidonic Acid In Vitro // J. Cerebral Blood Flow Metab – 1994. – **14,** № 6. – P. 1030-1039.

49. Stella N., Magistretti P.J. Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) and Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide (PACAP) Potentiate the Glutamate-evoked Release ofArachidonic Acid from Mouse Cortical Neurons Evidence for a cAMP-independent Mechanism // J. Biol. Chem. – 1996. – **271**, № 39. – P. 23705-23710.

50. Suzuki Y.J., Forman H.J., Sevanian A. Oxidants as stimulators of signal transduction // Free Rad. Biol. Med. – 1997. – **22**, № 1-2. – P. 268-269.

51. Vannucci R.C. Experimental Biology of Cerebral Hypoxia-Ischemia: Relation to Perinatal Brain Damage // Pediatric Res. – 1990. – **27**, № 4. – P. 317-326.

52. Youdim M.B.H. Brain iron. Neurochemical and behavioural aspects. – New York: Taylor and Francis, 1988. – 148 p.

53. Zaidi A., Michaels M.L. Effect of reactive oxygen species on brain synaptic plasma membrane Ca^{2+}-ATPase // Free Rad. Biol. Med. – 1999. – **27**, № 7-8. – P. 810-821.

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ)

Е.Е. Дубинина

ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. В.М. БЕХТЕРЕВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, РОССИЯ

Резюме

В обзоре освещены основные положения о значимости свободнорадикальных процессов в функционировании нервной ткани. Рассмотрен вопрос о высокой чувствительности нервной ткани к окислительному стрессу. Представлены современные данные о роли окислительного стресса в развитии патологических состояний нервной ткани. Окислительный стресс оценивается с позиций одного из патогенетических звеньев в развитии ряда психических нарушений у человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **окислительный стресс, прооксидная система, антиоксидная защита, перекисное окисление белков, окислительная деструкция белков, нервная ткань, психические расстройства.**

THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS AT PATHOLOGICAL STATES OF NERVOUS SYSTEM (PSYCHICAL DISORDERS)

O.Yu. Dubinina

PSYCHONEVROLOGICAL SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE BY V.M. BEKHTEREV, SAINT-PETERSBURGH, RUSSIA

Summary

The article reviews the fundamental tenets concerning the significance of free radical processes in the functioning of nervous tissue. The question of the high sensibility of nervous tissue to oxidative stress is discussed. The contemporary data on the role of this stress in the development of pathological states of nervous system is presented. Oxidative stress is evaluated from a position of one of the pathological links in the development of a number of human psychical disturbances.

KEY WORDS: **oxidative stress, prooxidative system, antioxidative defense, protein peroxidation, oxidative destruction of proteins, nervous tissue, psychical disturbances.**

Отримано 28.05.2002 р.

Адреса для листування: *О.Ю. Дубініна, Психоневрологічний науково-дослідний інститут ім. В.М. Бехтєрева, вул. Бехтєрева, 3, Санкт-Петербург, 193019, Росія.*

УДК 616.185/840-2/16

ДИНАМІКА ПРОЦЕСІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В КЛІТИНАХ ЕРИТРОЛЕЙКЕМІЇ ЛЮДИНИ ЛІНІЇ К562, ІНДУКОВАНИХ ІНГІБІТОРАМИ ТИРОЗИНОВИХ ПРОТЕЇНКІНАЗ ГЕРБІМІЦИНОМ А І КВЕРЦЕТИНОМ

О.М. Ільницька, Г.О. Олексин, С.Й. Кусень, Л.Б. Дробот
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ

Проведено порівняльний аналіз динаміки клітинного росту, еритроїдної диференціації та апоптичних подій в клітинах еритролейкемії людини лінії К562 при дії інгібіторів тирозинових протеїнкіназ – анзаміцинового антибіотика гербіміцину А (ГА) та біофлавоноїду кверцетину (Кв). Встановлено, що культивування клітин К562 в присутності ГА (IK_{50} 4×10^{-8} М) та Кв (IK_{50} 3×10^{-5} М) супроводжується на 96 год інгібуванням клітинного росту на 58,4 і 75,6 % відповідно, порівняно з контролем. Одночасно в популяції клітин, оброблених ГА, спостерігається значне нагромадження бензидинпозитивних клітин (52 % на 96 год культивування), тоді як Кв викликає лише тимчасову індукцію еритроїдної диференціації з максимумом на 48 год культивування (17 % бензидинпозитивних клітин). За допомогою цитоморфологічних досліджень та аналізу міжнуклеосомної фрагментації ДНК показано, що Кв є потужнішим індуктором апоптозу, порівняно з ГА (55 і 28 % апоптичних клітин відповідно на 72 год). Припускається, що ГА і Кв опосередковують свої біологічні ефекти в клітинах К562 через різні сигнальні механізми.

КЛЮЧОВІ СЛОВА*:* **хронічна мієлоїдна лейкемія, Bcr-Abl, інгібітори тирозинових протеїнкіназ, проліферація, диференціація, апоптоз.**

ВСТУП. Одним із злоякісних захворювань гематопоетичних стовбурових клітин є хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ), цитогенетичний маркер якої – Філадельфійська хромосома (Ph^1) – утворюється внаслідок реципрокної транслокації t(9;22)(q34;q11). При цьому ген *abl* зазнає переміщення з місця його нормальної локалізації на хромосомі 9 з наступним приєднанням до частини гена *bcr* на хромосомі 22 [5]. Дерегульована тирозинкіназна активність продукту злитого онкогена *bcr-abl* широко використовується протягом останніх років як мішень для спрямованої розробки селективних інгібіторів тирозинових протеїнкіназ [4, 8].

Однак впровадження вказаних агентів у медичну практику потребує детального аналізу механізмів їх біологічного впливу як на клітинному, так і на молекулярному рівнях. Враховуючи сказане, нами досліджено особливості дії двох інгібіторів тирозинових протеїнкіназ, анзаміцинового антибіотика гербіміцину А (ГА) та біофлавоноїду кверцитину (Кв), на клітинний ріст, диференціацію та апоптоз Ph^1-позитивних клітин еритролейкемії людини лінії К562.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експериментах використовували клітини еритролейкемії людини лінії К562, отримані з колекції клітинних культур Інституту цитології РАН. Клітини культивували, як описано в роботі [1]. До клітин К562, що перебували в логарифмічній фазі росту, додавали ГА («Sigma», США) в концентрації 4×10^{-8} М і Кв («Merck», ФРН) в концентрації 3×10^{-5} М. Необхідну для проведення експерименту кількість клітин висівали в середовище культивування (3×10^5 кл./мл) та інкубували з індукторами або без них протягом 72 год. Інтенсивність росту клітинної культури оцінювали, підраховуючи кількість клітин в камері Горяєва. Кількість мертвих клітин визначали після їх забарвлення 0,1 % трипановим синім. Ступінь еритроїдної диференціації визначали за накопиченням гемоглобіну, підраховуючи відсоток бензидинпозитивних клітин [10]. Морфологію клітин аналізували після фарбування за Романовським-Гімзою [2]. Оцінювали експресію цитоархітектурних характеристик апоптозу, а саме: конденсацію нуклеоплазми і цитоплазми, утворення мембранних тілець, каріотипну дегенерацію ядра з утворенням апоптичних тілець і загальне зменшення розміру клітини. Виділення ДНК та її електрофоретичний аналіз проводили за методом, описаним в роботі [6]. Для оцінки розміру фрагментів ДНК використовували ДНК-стандарти фірми "Gibco BRL" (Велика Британія).

© О.М. Ільницька, Г.О. Олексин, С.Й. Кусень – д.б.н., проф., Л.Б. Дробот – к.б.н., 2002.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Експериментальними роботами останніх років встановлено, що химерний онкобілок Bcr-Abl є багатофункціональною тирозиновою протеїнкіназою, трансформуючий потенціал якої опосередковується активацією багатьох сигнальних шляхів, що призводить до субстратнезалежного росту, інгібування апоптозу та дерегульованої проліферації гематопоетичних стовбурових клітин [11]. Одночасно антиапоптична активність Bcr-Abl може забезпечувати нагромадження додаткових генетичних змін, асоційованих з високим проліферативним потенціалом Ph^1-позитивних клітин. Тому на першому етапі досліджень ми порівнювали динаміку росту клітин K562 під впливом ГА і Кв протягом 96 год культивування, підраховуючи кількість живих клітин в присутності барвника трипанового синього (рис. 1 А). Виявилось, що ГА (4×10^{-8} М) і Кв (3×10^{-5} М) інгібують клітинний ріст на 58, 4 та 75,6 % відповідно на 96 год, порівняно з контролем (рис. 1 Б). Важливо відмітити, що гальмування клітинного росту супроводжувалось значним зростанням кількості мертвих клітин, яка становила через 72 год 45-50 % при обробці Кв та 22-25 % при культивуванні з ГА проти контрольних 5-6 %. Велика кількість загиблих клітин у культурі при інкубації з ГА та Кв свідчить швидше про включення апоптичної програми, аніж про інгібування проліферації.

Відомо також, що клітини лінії K562 зберігають здатність до диференціації під впливом індукторів різної хімічної природи [7]. Зокрема, при дії інгібіторів тирозинових протеїнкіназ клітини K562 зазнають еритроїдної диференціації [9]. Спроби лікування лейкемій шляхом індукції диференціації, поряд з індукцією апоптозу, є важливими і перспективними. Метою такого способу лікування є знищення клону клітин з Ph^1, оскільки диференціація – перший крок на шляху до фізіологічної загибелі. У результаті диференціювання зникають клоногенні потенції лейкемічної стовбурової клітини (здатність до відтворення), і вона вже через кілька мітотичних поділів спроможна функціонувати як зріла клітина у обраному напрямку диференціації. Рівень еритроїдної диференціації клітин K562 оцінювали за ознакою синтезу гемоглобіну. Одним із способів виявлення гемоглобіну в клітинах є їх забарвлення бензидином. Встановлено, що кількість бензидинпозитивних клітин в присутності ГА становила 30 % на 24 год, 45 % – на 48 год й 52 % – на 72 год (рис. 1 В). Разом із тим, Кв незначно індукував еритроїдну диференціацію. Так, при культивуванні клітин

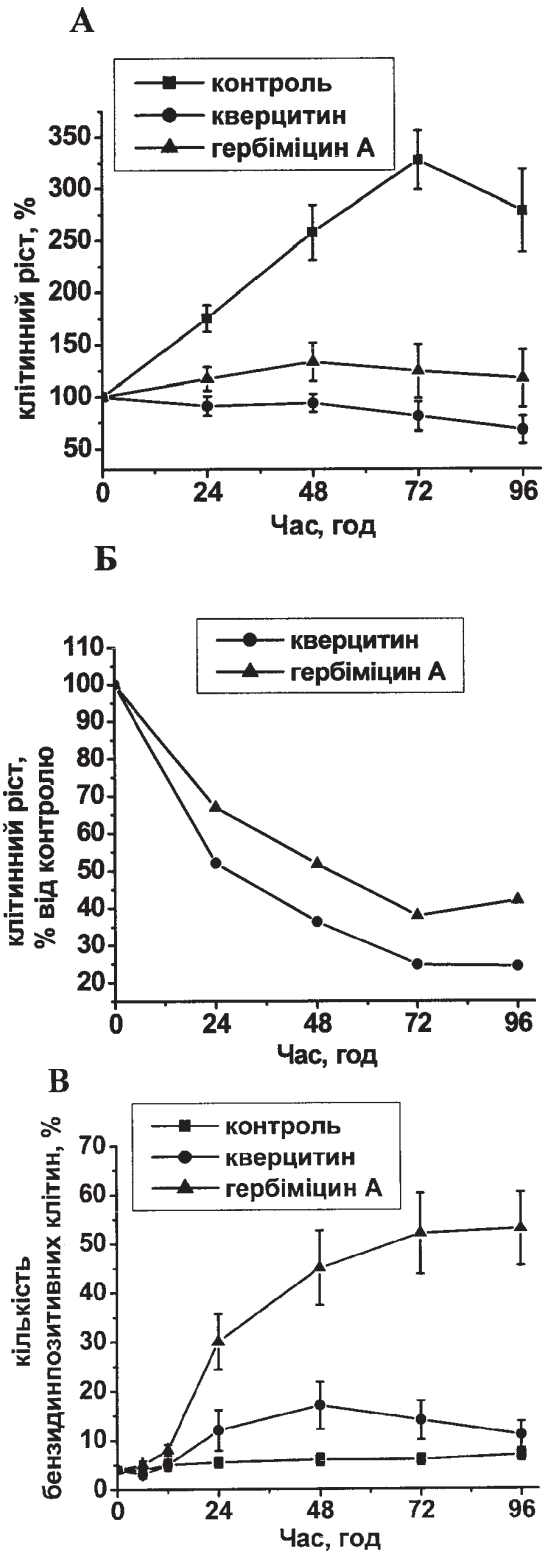


Рис. 1. Динаміка росту і диференціації клітин лінії K562, індукованих інгібіторами тирозинових протеїнкіназ ГА і Кв.

А. Вплив ГА і Кв на ріст клітин K562. Клітини культивували в присутності індукторів протягом 96 год. Кількість живих клітин у кожній точці представлена у відсотках від кількості живих клітин у точці 0 (час індукції). **Б**. Кількість живих клітин у відсотках від контролю. **В**. Кількість бензидинпозитивних клітин у контрольних та стимульованих клітинах.

в присутності біофлавоноїду кількість бензидинпозитивних клітин в популяції становила 12 % на 24 год з максимумом на 48 год (17 %), після чого спостерігалось наступне зниження на 72 год (14 %). У контролі кількість бензидинпозитивних клітин на 72 год становила лише 5-7 %. Отримані дані дозволяють зробити висновок, що ГА є потужнішим індуктором еритроїдної диференціації, порівняно з Кв.

При дослідженні цитоморфології виявлено, що на 24 год реакція клітин на Кв характеризується численними випинаннями клітинної мембрани і вираженими дистрофічними змінами (вакуолізацією цитоплазми) (рис. 2 ж). Є дані, що така "пухирчастість" плазматичної мембрани спричиняється модифікацією цитоскелета [3]. На 48-72 год виявляються класичні апоптичні клітини з фрагментованим ядром (рис. 2 з, и), спостерігаються масова фрагментація клітин на мембранні везикули з внутрішньоклітинним вмістом, апоптичні тільця, які є класичними морфологічними ознаками апоптозу. При обробці ГА на 24 год в популяції поряд з клітинами, в яких відбуваються ранні морфологічні зміни, характерні для апоптозу (конденсація хроматину по периферії ядра, так звана маргінація хроматину), виявляється лише невелика кількість клітин з фрагментованим ядром (рис. 2 г). На 48 год культивування в присутності антибіотика апоптичні процеси в ряді клітин прогресують. Хроматин усе більше конденсується, ядро колапсує в щільну гомогенну кулю, відбуваються зменшення об'єму клітин, ущільнення цитоплазми, зморщування

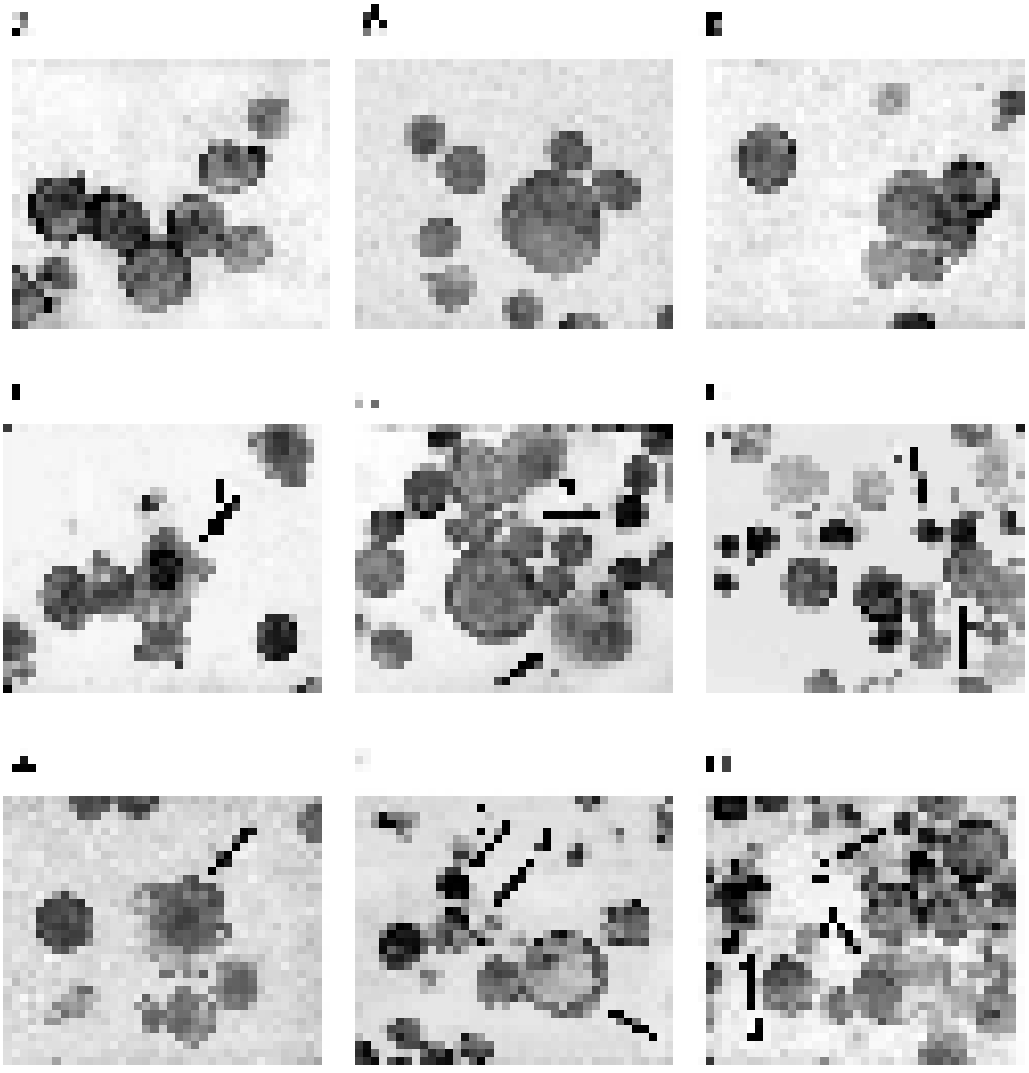


Рис. 2. Морфологія клітин лінії K562:
а, б, в – нестимульовані клітини через 24, 48 та 72 год культивування відповідно;
г, д, е – клітини, що культивувались у присутності ГА, через 24, 48 та 72 год після індукції;
ж, з, и – клітини, що культивувались у присутності Кв, через 24, 48 та 72 год.
Стрілками з номерами позначено клітини з характерними ознаками апоптозу: 1 – клітини з вираженими дистрофічними змінами (вакуолізацією цитоплазми та ядра); 2 – клітини з конденсованими цитоплазмою та ядром; 3 – клітини з фрагментованим ядром; 4 – фрагментовані клітини. Препарати зафарбовували за Романовським-Гімзою.

Таблиця 1 – **Частка апоптичних клітин К562 при культивуванні в присутності ГА і Кв (M±m; n=8-10)**

	24 год	48 год	72 год
Контроль	2,1±0,2	3,1±0,3	6,3±0,4
Гербіміцин А	24,7±1,3	28,7±3,0	27,3±1,4
Кверцитин	33,9±1,6	36,1±1,6	52,5±1,9

цитоплазматичної мембрани. З'являються також клітини з фрагментованим ядром і фрагментовані клітини. Через 72 год кількість клітин з ранніми морфологічними ознаками апоптозу зменшується. У таблиці 1 представлено кількість апоптичних клітин К562 протягом 72 год культивування в присутності ГА та Кв.

Аналіз фрагментації ДНК методом електрофорезу в агарозному гелі показав, що при культивуванні клітин в присутності інгібіторів тирозинових протеїнкіназ протягом 72 год в ядрі відбуваються міжнуклеосомні розриви хроматину, що призводять до утворення моно- й олігонуклеосомних фрагментів ДНК, які при електрофоретичному розділенні в агарозному гелі дають характерну "драбинку ДНК". Фрагментація клітинної ДНК відмічається вже на 48 год при обробці інгібіторами тирозинових протеїнкіназ. Кількість такої ДНК зростає із збільшенням часу інкубації з індукторами і досягає максимуму на 72 год (рис. 3).

ВИСНОВОК. ГА володіє здатністю індукувати як еритроїдну диференціацію, так і апоптоз клітин К562. Не виключено, що останній процес є своєрідною функціональною атрофією частини клітинної популяції, не здатної до диференціації під впливом індуктора. Порівняно з ГА Кв проявляє значно меншу здатність викликати диференціацію по еритроїдному ряду і є потужнішим індуктором апоптозу. Отже, ці два інгібітори тирозинових протеїнкіназ володіють різними ефекторними механізмами реалізації їх впливу на лейкемічні клітини.

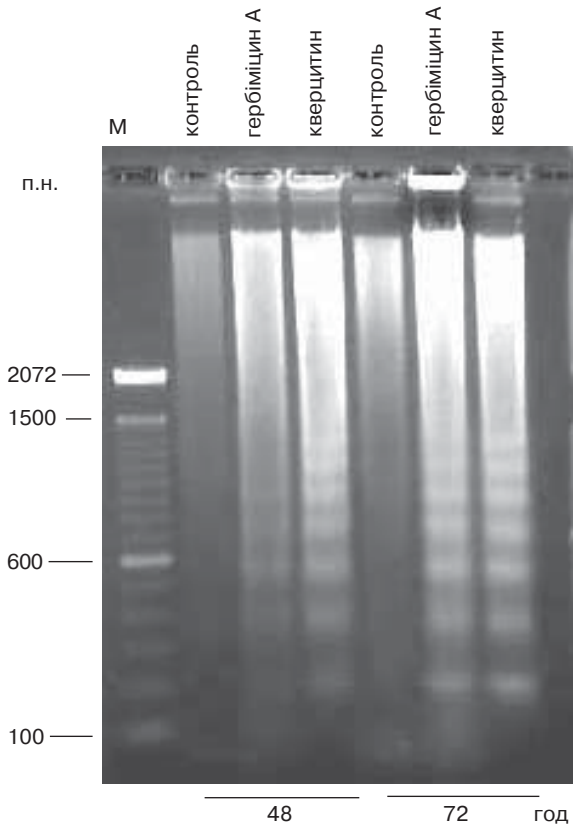


Рис. 3. Вплив ГА і Кв на фрагментацію ДНК у клітинах К562. М – ДНК стандарти.

Автори висловлюють щиру подяку доктору біологічних наук М.Д. Луцику за методичну допомогу в проведенні цитоморфологічних досліджень та обговорення отриманих результатів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ільницька О.М., Мазур І.Я., Ігуменцева Н.І., Дробот Л.Б. Вивчення регуляції фосфатидилінозит 3-кіназного сигнального шляху в процесі гербіміцин А-індукованої еритроїдної диференціації клітин еритролейкемії людини лінії К562 // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 2. – С. 106-109.

2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.

3. Chang H.Y., Yang X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2000. – **64**, № 4. – P. 821-846.

4. Cohen P. The development and therapeutic potential of protein kinase inhibitors // Cur. Opin. Chem. Biol. – 1999. – **3**. – P. 459-465.

5. Collins S., Coleman H., Groudine M. Expression of bcr and bcr-abl transcripts in normal and leukemic cells // Mol. Cell. Biol. – 1987. – **7**, № 8. – P. 2870-2878.

6. Hermann M., Lorenz H-M., Voll R. et al. A rapid and simple method for the isolation of apoptotic DNA fragments // Nucl. Acid Res. – 1994. – **22**. – P. 5506-5507.

7. Leary J.F., Ohlsson-Wilhelm B.M., Giuliano R. et al. Multipotent hematopoietic cell line K562: lineage-specific constitutive and inducible antigens // Leuk. Res. – 1987. – **11**. – P. 807-815.

8. Levitzki A. Protein tyrosine kinase inhibitors as novel therapeutic agents // Pharmacol. Ther. – 1999. – **82**, № 2-3. – P. 231-239.

9. Lozzio C.B., Lozzio B.B., Machado E.A. et al. Effects of sodium butyrate on human chronic myelogenous leukaemia cell line K562 // Nature. – 1979. – **281**, № 5733. – P. 709-710.

10. Rowley P.T., Ohlsson-Wilhelm B.M., Farley B.A., LaBella S. Inducers of erythroid differentiation in K562 human leukemia cells // Exp. Hematol. – 1981. – **9**, № 1. – P. 32-37.

11. Sonoyama J., Matsumura I., Ezoe S. et al. Functional cooperation among Ras, STAT5, and phosphatidylinositol 3-kinase is required for full oncogenic activities of BCR/ABL in K562 cells // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**, № 10. – P. 8076-8082.

ДИНАМИКА ПРОЦЕССОВ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ И АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ЭРИТРОЛЕЙКЕМИИ ЧЕЛОВЕКА ЛИНИИ К562, ИНДУЦИРОВАННЫХ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНОВЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ ГЕРБИМИЦИНОМ А И КВЕРЦИТИНОМ

О.М. Ильницкая, Г.А. Олексин, С.И. Кусень, Л.Б. Дробот
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ, ЛЬВОВ

Резюме

Проведен сравнительный анализ динамики клеточного роста, эритроидной дифференциации и апоптических событий в клетках эритролейкемии человека линии К562 под воздействием ингибиторов тирозиновых протеинкиназ – анзамицинового антибиотика гербимицина А (ГА) и биофлавоноида кверцитина (Кв). Установлено, что культивирование клеток К562 в присутствии ГА (IK_{50} 4×10^{-8} М) и Кв (IK_{50} 3×10^{-5} М) сопровождается на 96 ч ингибированием клеточного роста на 58,4 и 75,6 % соответственно, по сравнению с контролем. Одновременно, в популяции клеток, обработанных ГА, наблюдается значительное накопление бензидинположительных клеток (52 % на 96 ч культивирования), в то время как Кв вызывает лишь временную индукцию эритроидной дифференциации с максимумом на 48 ч культивирования (17 % бензидинположительных клеток). С помощью цитоморфологических исследований и анализа межнуклеосомной фрагментации ДНК показано, что Кв является более мощным индуктором апоптоза, по сравнению с ГА (55 и 28 % апоптических клеток соответственно на 72 ч). Предполагается, что ГА и Кв опосредуют свои биологические эффекты в клетках К562 через разные сигнальные механизмы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **хроническая миелоидная лейкемия, Bcr-Abl, ингибиторы тирозиновых протеинкиназ, пролиферация, дифференциация, апоптоз.**

DYNAMICS OF DIFFERENTIATION AND APOPTOSIS INDUCED BY TYROSINE PROTEINKINASES INHIBITORS HERBIMYCIN A AND QUERCETIN IN HUMAN ERYTHROLEUKEMIA CELL LINE K562

O.M. Ilnytska, H.O. Oleksyn, S.J. Kusen', L.B. Drobot
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY OF NAS OF UKRAINE, LVIV

Summary

Comparative analyses of the dynamics of K562 cell growth, erythroid differentiation and apoptotic events induced by tyrosine kinase inhibitors, ansamycin antibiotic herbimycin A (HA) and bioflavonoid quercetin (Q) have been carried out. It was established that the culturing of K562 cells in the presence of HA (IC_{50} 4×10^{-8} M) and Q (IC_{50} 3×10^{-5} M) is accompanied by inhibition of cell growth at the 96^{th} h which corresponds to 58,4 % and 75,6 % respectively, in comparison to the control. Simultaneously, a significant accumulation of benzidine positive cells (52 % at the 96^{th} h) was observed in cell populations treated with HA, whereas Q caused only transient induction of erythroid differentiation peaking at the 48^{th} h (17 % of benzidine positive cells). Cytomorphological studies and analysis of internucleosomal DNA fragmentation have shown that Q is a more potent inducer of apoptosis when compared to HA (55 % and 28 % of apoptotic cells, respectively, at 72h). We suggest that HA and Q mediate their biological effects in K562 cells through the different signalling mechanisms.

KEY WORDS: **chronic myelogenous leukemia, Bcr-Abl, tyrosine proteinkinase inhibitors, proliferation, differentiation, apoptosis.**

Отримано 16.07.2002 р.

Адреса для листування: *Л.Б. Дробот, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна.*

УДК 615.279:615.246.2:615.33:612.015.4 + 615.916:546.48\226

АНТИТОКСИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ БІОМЕЛАН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОТРУЄННІ КАДМІЮ СУЛЬФАТОМ

В.М. Коваленко, М.І. Борщевська, Н.Н. Жданова, Г.М. Шаяхметова, Г.А. Сайфетдінова, В.О. Охріменко, Т.Ф. Бишовець
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

У дослідах in vivo на білих щурах-самцях встановлено, що препарат біомелан, створений на основі мікомеланіну, одержаного з Cladosporium cladosporioides, при лікувально-профілактичному застосуванні за умов інтоксикації тварин сульфатом кадмію знижує ступінь морфофункціональних змін у сім'яниках, попереджує індукцію процесів ПОЛ та виснаження пулу відновленого глутатіону в печінці, нормалізує рівень білка, загального білірубіну, сечовини та креатиніну в сироватці крові отруєних тварин. Отримані результати свідчать про виражену гонадо-, гепато- та нефропротекторну дію препарату біомелан та можуть обгрунтувувати його застосування за умов отруєння важкими металами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **біомелан, сульфат кадмію, гонадотоксичність, гепатотоксичність, нефротоксичність, протекторна дія.**

ВСТУП. На сьогодні накопичено значну кількість даних відносно різноманітних аспектів біологічної активності природних клітинних пігментів – меланінів [7]. Показано, що, незалежно від походження та будови, вони мають схожі властивості та фізіологічні функції [3, 4].

Природні меланіни (хромопротеїди) володіють широким спектром захисних функцій, у тому числі радіозахисною й антиоксидною, та можуть бути використані як сорбенти ряду радіонуклідів та важких металів. Такі біологічні функції зумовлені властивістю меланінового пігменту стабілізувати рівень окисно-відновного потенціалу в клітині за рахунок зворотного процесу його окиснення та відновлення [1, 3, 6].

Один з таких сорбентів – меланіновий пігмент, продуцентом якого є вилучений з грунту гриб Cladosporium cladosporioides 396 (штам зберігається у депозитарії Інституту мікробіології та вірусології НАН України). Адсорбційна ємність меланінового пігменту зумовлена великою кількістю парамагнітних центрів, що характеризують кількість ненасичених зв'язків у полімері, досить висока і коливається для різних іонів від 40 до 80 %.

У ряді кольорових мутантів дейтероміцету Cladosporium cladosporioides встановлено природу меланінових пігментів [6]. Макромолекули меланінів володіють нерегулярною сітчастою структурою, до складу якої входять стабілізовані семихінонові радикали, які утворюються за умов поліконденсації фенольних попередників, а також ряд активних функціональних груп, що в сукупності визначає їхню здатність бути молекулярними ситами – пастками вільних радикалів, токсичних речовин, важких металів [3]. Такі унікальні властивості, що дозволяють забезпечувати захист організму від ряду екстремальних факторів, таких, як рентгенівське та γ-випромінення, гіперінсоляція УФ, отруєння високотоксичними ксенобіотиками техногенного походження тощо [7], зумовлюють перспективність розробки на основі природних меланінів нових фармакотерапевтичних засобів.

Метою даної роботи було експериментальне дослідження біологічної активності препарату біомелан, створеного ВАТ "Фармак" (Україна, м. Київ) на основі мікомеланіну з Cladosporium cladosporioides за умов отруєння кадмієм.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 190-260 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. За методом рандомізації їх було розподілено на п'ять груп

© В.М. Коваленко – к.б.н., М.І. Борщевська – д.фарм.н., Н.Н. Жданова, Г.М. Шаяхметова – к.б.н., Г.А. Сайфетдінова, В.О. Охріменко, Т.Ф. Бишовець – к.б.н., 2002.

(по шість тварин у кожній): 1-а група – інтактні; у щурів 2-5 груп отруєння кадмієм викликали шляхом однократного внутрішньочеревного введення 0,1 % водного розчину $CdSO_4$ з розрахунку 2,5 мг/кг. Тваринам 3-5 груп внутрішньошлунково через зонд у вигляді водної зависі вводили біомелан (10 мг/кг) та референтні препарати: альгінат натрію (50 мг/кг) та полісорб (50 мг/кг). Половину добової дози біомелану та препаратів порівняння давали щурам за 1 год до ін'єкції розчину $CdSO_4$, другу половину – відразу після ін'єкції. Досліджувані препарати продовжували вводити ще 4 доби після отруєння. Через 24 год після останнього введення досліджуваних препаратів тварин декапітували під легким ефірним наркозом, брали кров, вилучали печінку та сім'яники з придатками.

Визначали об'єм та відносну густину сім'яників згідно з методом [12].

Досліджували функціональні властивості сперматозоїдів [2].

Печінку перфузували через ворітну вену охолодженим до +4 °С 1 % розчином KCl та гомогенізували у 0,05 М трис-HCl буфері (pH-7,4).

Визначали швидкість аскорбатзалежного накопичення малонового діальдегіду (МДА) у печінці за методом [11].

Вміст відновленого глутатіону в печінці визначали за допомогою реактиву Елмана [14].

Активність маркерів гепатоцитолізу аланін- та аспартатамінотрансфераз, вміст білірубіну, сечовини та креатиніну в сироватці крові визначали, використовуючи біотести НПП "Филисит Диагностика" (Україна, м. Дніпропетровськ).

Вміст білка у печінці визначали методом [13], а у сироватці крові – за біуретовою реакцією [5].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили на комп'ютері за допомогою програм Microsoft Excel та Student.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Кадмій належить до металів, що проявляють мультіорганну токсичну дію. Однак специфічною мішенню при гострому отруєнні ним є репродуктивна система самців у результаті гострого ішемічного некрозу тестикул. Проведений нами зовнішній огляд сім'яників щурів, яким внутрішньочеревинно вводили 1 % водний розчин $CdSO_4$ у дозі 2,5 мг/кг, показав, що порожнина калитки заповнена серозним ексудатом кольору "м'ясних помиїв" та згустками крові, оболонки калитки та сім'яників спаяні між собою, у товщі тканини сім'яників виявлено гематоми. Група щурів, які одержували $CdSO_4$ та препарат біомелан, мала подібні зміни лише у 50 % тварин, тоді як у інших стан сім'яників був аналогічний до такого в інтактних щурів. У тварин, які одержували препарати порівняння – полісорб та альгінат натрію, спостерігали виражені різною мірою геморагічний випіт у серозну порожнину калитки, спаяність сім'яників, крововиливи у товщу тканини сім'яників. У таблиці 1 представлено результати морфофункціонального дослідження сім'яників, які свідчать про більш виражені, порівняно з референтними препаратами, протекторні властивості біомелану при отруєнні кадмію сульфатом.

Разом із тим, у печінці отруєних $CdSO_4$ щурів реєстрували посилення процесів ПОЛ,

Таблиця 1 – **Морфофункціональні показники сім'яників щурів за умов внутрішньочеревного введення 0,1 % водного розчину $CdSO_4$ у дозі 2,5 мг/кг та лікувально-профілактичного введення досліджуваних препаратів протягом 5 діб (n=6, M±m).**

Групи тварин	Досліджувані показники			
	Об'єм сім'яників, $мм^3$	Відносна густина сім'яників, $мг/мм^3$	Кількість сперматозоїдів, 10^6/мл суспензії	Осмотична резистентність, % KCl
Інтактна	1423,2±77,77	0,926±0,032	23,09±1,7	3,93
$CdSO_4$	1024,2±89,3 $p_1<0,01$	1,27±0,069 $p_1<0,01$	3,41±1,55 $p_1<0,01$	2,25
$CdSO_4$+біомелан (10 мг/кг)	1240,16±99,58	1,011±0,059 $p_2<0,05$	10,78±3,23 $p_1<0,01$	2,9
$CdSO_4$ + полісорб (50 мг/кг)	830,1±37,6 $p_1<0,001$	1,221±0,039 $p_1<0,001$	1,19±0,99 $p_1<0,001$	0,6
$CdSO_4$+альгінат натрію (50 мг/кг)	995,49±75,78 $p_1<0,01$	1,039±0,03 $p_1<0,05$ $p_2<0,05$	3,96±0,81 $p_1<0,001$	2,81

Примітки. Тут і в таблиці 2: p_1 – ступінь достовірності, порівняно з інтактними тваринами.
p_2 – ступінь достовірності, порівняно з негативним контролем.

про що свідчить збільшення на 31 %, порівняно з інтактною групою, швидкості індукованого аскорбатом утворення МДА (табл. 2). Прооксидні ефекти іоноутворюючих сполук кадмію зумовлені, перш за все, здатністю до блокування тіолових груп, які забезпечують активність більше ніж 50 % ферментів та функціональний стан одного з найважливіших внутрішньоклітинних антиоксидантів – відновленого глутатіону [9]. Це підтверджують результати дослідження рівня SH-груп у печінці щурів, наведені в таблиці 2. Зазначений показник за умов інтоксикації кадмієм знижувався на 57 %, порівняно з інтактною групою.

Введення біомелану, на відміну від референтних препаратів, попереджувало збільшення швидкості утворення МДА у печінці, що цілком узгоджується з виявленою нами здатністю даного препарату перешкоджати виснаженню пулу відновленого глутатіону. Так, при лікувально-профілактичному застосуванні біомелану рівень глутатіону в печінці щурів був на 63 % вищим, ніж у контрольній групі, що можна порівняти з активністю полісорбу, тоді як альгінат натрію виявився неефективним.

Блокування іонами кадмію тіолових, амінних, карбоксильних та інших груп білків, а також активація вільнорадикальних процесів у гепатоцитах [9], призводять до розвитку печінкової недостатності, яка супроводжується холестазом. Про це свідчить підвищення рівня вільного білірубіну в сироватці крові отруєних тварин, порівняно з інтактними, майже у 7 разів. Враховуючи, що однією із специфічних мішеней токсичної дії важких металів є еритроцити [9], зростання даного показника може свідчити і про індукцію розкладу гемоглобіну. Введення тваринам біомелану сприяло зниженню вмісту загального білірубіну сироватки крові більше ніж у 2 рази, порівняно з нелікованими щурами. Застосування полісорбу дозволило зменшити цей показник у 1,6

Таблиця 2 – **Біохімічні показники печінки та сироватки крові щурів за умов внутрішньочеревного введення 0,1 % водного розчину $CdSO_4$ у дозі 2,5 мг/кг та лікувально-профілактичного застосування досліджуваних препаратів протягом 5 діб (M±m, n=6)**

Досліджувані показники	Статистичні показники	Експериментальні групи				
		Інтактні	$CdSO_4$	$CdSO_4$+ біомелан, 10 мг/кг	$CdSO_4$+ альгінат натрію, 50 мг/кг	$CdSO_4$+ полісорб, 50 мг/кг
Швидкість аскорбат-залежного утворення МДА в печінці, мкмоль/хв•мг білка	M±m p_1 p_2	0,621±0,020	0,816±0,040 <0,001	0,637±0,030 >0,05 <0,01	0,754±0,030 <0,01 >0,05	0,721±0,020 <0,01 >0,05
Вміст глутатіону у печінці, мкмоль/г	M±m P_1 P_2	3,79±0,08	1,61±0,38 <0,001	2,62±0,24 >0,05 <0,05	1,56±0,37 <0,001 >0,05	2,85±0,22 <0,01 <0,05
Вміст білірубіну в сироватці крові, ммоль/л	M±m p_1 p_2	1,30±0,21	8,78±0,78 <0,001	4,2±0,59 <0,01 <0,001	9,00±0,26 <0,001 >0,05	5,00±0,63 <0,01 <0,001
Активність аланін-амінотрансферази сироватки крові, мкмоль / мл•год	M±m p_1 p_2	1,03±0,10	0,52±0,07 <0,01	0,75±0,10 >0,05 >0,05	0,82±0,16 >0,05 >0,05	0,15±0,02 <0,001 <0,001
Активність аспартат-амінотрансферази сироватки крові, мкмоль/мл•год	M±m p_1 p_2	2,53±0,18	3,10±0,23 >0,05	2,91±0,09 >0,05 >0,05	2,79±0,06 >0,05 >0,05	2,80±0,14 >0,05 >0,05
Вміст білка в сироватці крові, мг/мл	M±m p_1 p_2	69,70±0,88	46,40±5,27 <0,001	68,84±2,49 <0,05 <0,05	64,38±0,82 <0,001 <0,05	60,67±0,65 <0,001 >0,05
Вміст білка в печінці, мг/г	M±m p_1 p_2	86,94±4,74	73,99±2,35 <0,05	76,06±4,10 >0,05 >0,05	78,94±2,13 >0,05 >0,05	80,23±5,68 >0,05 >0,05
Вміст креатиніну в сироватці крові, мкмоль/л	M±m p_1 p_2	68,60±2,62	88,40±5,87 <0,05	59,23±6,59 >0,05 <0,01	87,27±5,52 <0,05 >0,05	48,62±3,26 <0,001 <0,001
Вміст сечовини в сироватці крові, ммоль/л	M±m p_1 p_2	13,02±0,71	15,32±0,54 <0,05	12,22±0,25 >0,05 <0,001	12,64±0,18 >0,05 <0,01	14,63±0,27 >0,05 >0,05

раза; альгінат натрію не виявив здатності знижувати ступінь білірубінемії.

Дослідження активності маркерних ферментів ураження паренхіми печінки – аланін- і аспартатамінотрансфераз сироватки крові – показало (табл. 2), що на сьому добу після інтоксикації кадмієм статистично значущі коливання аспартатамінотрансферазної активності були відсутні, тоді як активність аланінамінотрансферази знижувалась у 2 рази, порівняно з інтактною групою. Беручи до уваги те, що активність ферментів у сироватці крові визначається багатьма факторами (індукцією та розпадом, активацією й інактивацією ферментів у плазмі крові, проліферацією, некрозом та лізисом клітин, проникністю клітинної мембрани) [8], таке зниження ферментативної активності сироватки крові за умов інтоксикації кадмієм, на наш погляд, може бути зумовлене порушенням співвідношення між анаболічними і катаболічними процесами в організмі отруєних тварин. Це припущення підтверджують дані щодо зменшення вмісту білка в сироватці та печінці експериментальних щурів, порівняно з інтактною групою, в 1,5 і 1,2 раза відповідно.

Крім того, інгібування активності трансаміназ сироватки крові може мати місце і за ниркової недостатності [10], яка розвивається в результаті інтоксикацій важкими металами, що володіють вибірковою токсичністю, у тому числі й для специфічного епітелію нирок [9].

Про порушення функції нирок свідчить і підвищення рівня креатиніну та сечовини у плазмі крові групи щурів, яким вводили кадмію сульфат, на 30 і 18 % відповідно. Причому необхідно відзначити, що збільшення вмісту сечовини в сироватці крові, у свою чергу, може бути доказом порушення метаболічних процесів у організмі отруєних тварин [10].

Введення біомелану дозволило значною мірою знизити нефротоксичні ефекти кадмію, про що свідчить нормалізація рівня креатиніну та сечовини в сироватці крові, а також тенденція до стабілізації активності аланінамінотрансферази (табл. 2). Необхідно відзначити, що за здатністю впливати на рівень сечовини в сироватці крові активність біомелану можна порівняти з такою у альгінату натрію, тоді як застосування полісорбу виявилось практично неефективним. Не спостерігалось позитивних змін і щодо вмісту креатиніну в сироватці крові щурів, яким вводили референтні препарати.

Нормалізація рівня сечовини та підвищення вмісту білка в сироватці крові на 48 %, порівняно з нелікованими тваринами, доводить позитивний вплив лікувально-профілактичного введення препарату біомелан на білковий обмін при отруєнні кадмієм.

ВИСНОВОК. Проведені дослідження показали, що лікувально-профілактичне застосування препарату біомелан на фоні інтоксикації сульфатом кадмію значною мірою запобігає гонадо-, нефро-, та гепатотоксичним ефектам останнього, причому в більшості випадків досліджуваний препарат за ефективністю перевершує референтні. Виявлену нами фармакологічну активність біомелану можна пояснити його здатністю були пасткою вільних радикалів та інших активних форм кисню, а також хелатором металів, впливаючи на різні ланки токсикогенезу кадмієвої інтоксикації. Одержані результати можуть обгрунтувати лікувально-профілактичне застосування препарату біомелан при отруєннях техногенними супертоксикантами, якими є сполуки важких металів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Меланин: структура, биосинтез, биологические функции // Укр. біохім. журн. – 1999. – **71**, № 4. – С. 5-14.

2. Базарнова М.А., Евсеев Л.П., Пекус Е.Н. и др. Исследование эякулята // Лаб. дело. 1986. – № 5. – С. 267-270.

3. Борисюк Л.Г., Харатьян Е.Ф., Жданова Н.Н. Локализация и динамика накопления меланина в клетках Cladosporium cladosporioides (FRESEN) de VRIES // Микробиол. журн. – 1991. – **53**, № 6. – С.10-16.

4. Борщевская М.И., Васильева С.М. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов // Вопр. мед. хим. – 1999. – **45**, № 1. – С. 13-24.

5. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. – М.: Мир, 1991. – 543 с.

6. Жданова Н.Н., Мележик А.В., Школьный А.Т., Синявская О.И. Получение и характеристика меланина гриба Cladosporium cladosporioides (FRESEN) de VRIES // Микробиол. журн. – 1993. – **55**, № 1. – С.79-84.

7. Запрометов М.Н. Биохимия фенольных соединений. – М.: Наука, 1993. – 272 с.

8. Коркач В.И. Активность АлАТ в сыворотке крови и печени в условиях воздействия на крыс хими-

ческих веществ // Гиг. и сан. – 1987. – № 11. – С.10-13.

9. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления: Руководство для врачей. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.

10. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: Пер. с англ. – М.: Мир, 1993. – **2**. – 414 с.

11. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Наука, 1977. – С. 66-68.

12. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников // Арх. анат., гистол. и эмбриол. – 1983. – **84**, № 3. – С. 66-72.

13. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Raudall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.

14. Sedlak J., Lindsay R. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmanўs reagent // Analit. Biochem. – 1968. – **25**, № 1. – P. 192-205.

АНТИТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА БИОМЕЛАН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТРАВЛЕНИИ КАДМИЯ СУЛЬФАТОМ

В.Н. Коваленко, М.И. Борщевская, Н.Н. Жданова, А.М. Шаяхметова, Г.А. Сайфетдинова, В.А. Охрименко, Т.Ф. Бышовец
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

В опытах in vivo на белых крысах-самцах установлено, что препарат биомелан, созданный на основе микомеланина, полученного из Cladosporium cladosporioides, при лечебно-профилактическом применении в условиях интоксикации животных сульфатом кадмия снижает степень морфо-функциональных изменений в семенниках, предупреждает индукцию процессов ПОЛ и истощение пула восстановленного глутатиона в печени, нормализует уровень белка, общего билирубина, мочевины и креатинина в сыворотке крови отравленных животных. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном гонадо-, гепато- и нефропротекторном действии препарата биомелан и могут служить обоснованием для применения его при отравлениях тяжелыми металлами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **биомелан, сульфат кадмия, гонадотоксичность, гепатотоксичность, нефротоксичность, протекторное действие.**

ANTITOXIC PROPERTIES OF BIOMELAN PREPARATION AT EXPERIMENTAL INTOXICATION BY CADMIUM SULPHATE

V.M. Kovalenko, M.I. Borshchevska, N.N. Zhdanova, H.M. Shayakhmetova, G.A. Saifetdinova, V.O. Okhrimenko, T.F. Byshovetz
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

Possibility of correction of toxic effect of cadmium sulphate by biomelan preparation was studied on white rat-males in vivo. The biomelan preparation obtained on a basis of mycomelanin from Cladosporium cladosporioides. Biomelan treatment-and-prophylactic administration renders correcting action on morphofunctional indices of rat gonads. It was shown, that biomelan is antiradical and detoxifying agent. It normalised lipid peroxidation processes, glutathion content in liver and a level of protein, general bilirubin, urea, creatinin content in blood serum. The revealed biomelan antitoxic activity makes it possible to be applied as an effective antidote therapy under serious metal toxicity.

KEYWORDS: **Biomelan, cadmium sulphate, gonadotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, protective action.**

Отримано 26.02.2002 р.

Адреса для листування: *Г.М. Шаяхметова, вул. М. Краснова, 12А, кв. 69, Київ-115, 01115, Україна.*

УДК 577.12: 616-055.6-092.9:612.014.482.4

СТАН СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЇ СИСТЕМИ В ЩУРЕНЯТ, НАРОДЖЕНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ТВАРИН

О.О. Мардашко, О.П. Полонський
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Вивчено вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну, фенілаланіну, тирозину в гіпоталамусі, надниркових залозах, крові та сечі щуренят, що народжені від тварин, опромінених радіацією в дозах 0,5; 1,0; 3,0 Гр. Опромінення в дозі 0,5 Гр збільшує в нащадків вміст адреналіну в гіпоталамусі та крові, норадреналіну – в надниркових залозах, посилює екскрецію адреналіну та дофаміну. Опромінення в дозі 1,0 Гр викликає зменшення відношення норадреналін/дофамін у гіпоталамусі та надниркових залозах, а доза опромінення 3,0 Гр призводить до гіпокатехолемії і зниження екскреції катехоламінів із сечею.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **щуренята, опромінення, катехоламіни, гіпоталамус, надниркові залози, кров, сеча.**

ВСТУП. Аварія на ЧАЕС призвела до радіоактивного забруднення значної території, на якій мешкає понад 2 млн чоловік, як дорослих, так і дітей, тому проблема впливу іонізуючої радіації на організм людей стає все більш актуальною.

Радіаційне ушкодження, залежно від величини дози, може специфічно впливати на молекулярний та клітинний рівні фізіологічної регенерації тканин або викликати неспецифічну відповідь збуджувальних систем. Саме деструктивні зміни в тканинах з низьким рівнем фізіологічної регенерації, до яких відносять ендокринні залози, формують симптоми неспецифічної віддаленої променевої патології [1, 11]. Однією з ініціюючих ланок реакції організму на дію іонізуючої радіації є збудження симпато-адреналової системи, що проявляється порушенням метаболізму катехоламінів [2, 10].

У результаті численних спостережень за великим контингентом осіб, які брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, встановлено, що перш за все змінюються регуляторні механізми, які лежать в основі різноманітних дезадаптаційних розладів [8, 9].

У літературі наводяться відомості про біологічну дію іонізуючої радіації на потомство у вигляді зниження ембріонального виживання, плодовитості, маси тіла, тривалості життя, виникнення вад розвитку, нестійкості до ушкоджувальних факторів навколишнього середовища, підвищеної захворюваності [3, 4]. Проте відомостей про стан метаболізму катехоламінів у літературі немає. Тому метою цієї роботи було вивчення вмісту адреналіну, норадреналіну, дофаміну, фенілаланіну, тирозину в гіпоталамусі, надниркових залозах, крові та сечі 1-місячних щуренят, що народилися від інтактних та опромінених різними дозами радіації тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення експерименту статевозрілих щурів було піддано тотальному одноразовому гамма-опроміненню ^{60}Co вранці натщесерце на установці для телегамматерапії “Агат”, відстань до джерела поглинання – 75 см, потужність дози – 0,54 Гр/хв, поглинуті дози – 0,5; 1,0; 3,0 Гр. Для опромінення тварин помістили у спеціальну камеру з органічного скла з розмірами 20 х 20 х 6 см, розділену перегородками відповідно до розмірів щурів. Біостатус тварин оцінювали за зміною рухливості, ставленням до їжі, станом шерсті, слизових оболонок, шлунково-кишкового тракту. Щурів спарювали протягом 10 діб після опромінення. Для отримання потомства від опромінених тварин в умовах віварію до 2 опромінених самців віком 4-5 місяців підса-

© О.О. Мардашко – д.б.н., проф., О.П. Полонський, 2002.

джували 10 самок того ж віку, опромінених тією ж дозою радіації. Вагітних самок відбирали кожного дня вранці на основі аналізу вагінальних мазків та розсаджували в індивідуальні клітки [5]. Дослідження було проведено на 120 статевозрілих щурах масою 180-220 г та 210 1-місячних щуренятах масою 38-42 г. Тварин розділили на групи таким чином:

1. Щуренята, народжені від інтактних тварин.

2. Щуренята, народжені від тварин, опромінених радіацією в дозі 0,5 Гр.

3. Щуренята, народжені від тварин, опромінених радіацією в дозі 1,0 Гр.

4. Щуренята, народжені від тварин, опромінених радіацією в дозі 3,0 Гр.

У кожній групі було 8-9 щурів.

Вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну в гіпоталамусі, надниркових залозах, крові та сечі тварин визначали через 1 добу після опромінення за допомогою набору реактивів для радіоензиматичного визначення рівня катехоламінів з радіоактивним ^{3}H-тритієм "Катехола" (Чехія). Вміст катехоламінів у гіпоталамусі виражали у нмолях на 1 г тканини, в надниркових залозах – у мкмолях на 1 г тканини, в крові – у нмолях на 1 л крові, вміст адреналіну та норадреналіну в сечі – у нмолях за добу, а дофаміну – в мкмолях за добу.

Вміст амінокислот фенілаланіну та тирозину в гіпоталамусі, надниркових залозах, сироватці крові та сечі визначали хроматографічним методом на папері й виражали: в гіпоталамусі та надниркових залозах – у нмоль/г тканини, в крові – у мкмоль/л та в сечі – у мкмоль/добу [7].

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерних програм [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як показали проведені дослідження, центральна та гормональна ланки симпато-адреналової системи в щуренят відрізняються за вмістом окремих катехоламінів. Так, концентрація норадреналіну в гіпоталамусі майже у 12 разів перевищує вміст адреналіну, а дофамін більш як у 2,5 раза перевищує вміст норадреналіну (табл. 1). У надниркових залозах щуренят спостерігається протилежна залежність. Домінує у цій тканині вміст адреналіну, який майже вдвічі більший за вміст норадреналіну і у 1,5 раза перевищує концентрацію дофаміну. В крові інтактних щуренят вміст норадреналіну майже дорівнює сумі концентрацій адреналіну і дофаміну. Екскреція катехоламінів свідчить про те, що виводиться, головним чином, дофамін, вміст якого у сечі у 34 рази перевищує вміст норадреналіну і у 65 разів вміст адреналіну.

У 1-місячних щуренят, народжених від тварин опромінених радіацією в дозі 0,5 Гр, відбуваються зміни вмісту катехоламінів у досліджуваних тканинах, які характеризуються незначним зменшенням концентрації норадреналіну та дофаміну і достовірним підвищенням рівня адреналіну у гіпоталамусі, порівняно з інтактними щуренятами. При цьому слід зазначити, що співвідношення між норадреналіном та дофаміном у цій тканині, що свідчить про можливості переходу дофаміну у норадреналін, майже не змінене. У надниркових залозах зміни структури катехоламінів відбуваються у напрямку значного підвищення вмісту норадреналіну, тоді як зростання концентрації адреналіну та дофаміну не суттєве. Співвідношення норадреналіну та дофаміну у надниркових залозах показує, що збільшення вмісту норадреналіну відбувається за рахунок посилення гідроксилювання дофаміну. У крові спостерігаються гіперадреналінемія і незначне підвищення вмісту норадреналіну та дофаміну, внаслідок чого можна зробити висновок про наявність гіперкатехолемії. У цій групі щуренят значно зростає екскреція адреналіну та дофаміну і майже не змінюється екскреція норадреналіну. Це призводить до того, що у сечі щуренят підвищується на 40 % відношення адреналін/норадреналін, що свідчить про перевагу гормональної ланки над медіаторною, а також зменшується на 30 % відношення суми адреналіну і норадреналіну до дофаміну, що є ознакою адаптації організму.

У групі щуренят, народжених від тварин, опромінених радіацією в дозі 1,0 Гр, відбуваються зміни, що проявляються достовірним зниженням вмісту норадреналіну і незначними порушеннями вмісту адреналіну та дофаміну у гіпоталамусі. Суттєво не відрізняється від інтактних щуренят концентрація катехоламінів у надниркових залозах, а у крові гіперадреналінемія зумовлює значне посилення екскреції адреналіну (табл. 2). Зниження відношення норадреналін/дофамін у гіпоталамусі та надниркових залозах свідчить про порушення гідроксилювання дофаміну. У цих тварин гормональна ланка симпато-адреналової системи також переважає над медіаторною, а відношення вмісту адреналіну і норадреналіну до дофаміну у сечі вказує на появу стану напруги та гіперактивації симпато-адреналової системи.

Вміст амінокислот-попередників катехоламінів у тканинах та сечі щуренят обох експериментальних груп суттєво не відрізняється від інтактних тварин.

Таблиця 1 – **Вміст катехоламінів та амінокислот у тканинах інтактних щуренят та щуренят, народжених від опромінених тварин (M±m)**

Тканина	Адреналін	Норадреналін	Дофамін	Фенілаланін	Тирозин
Народжені від інтактних тварин					
Гіпоталамус	0,322±0,027	3,84±0,31	10,10±0,85	4,32±0,33	6,21±0,54
Надниркова залоза	3,40±0,26	1,61±0,12	2,23±0,18	10,60±0,89	16,30±1,32
Кров	1,83±0,16	3,16±0,27	1,72±0,13	108,1±9,4	83,2±7,8
Сеча	22,4±1,9	43,1±3,4	1,46±0,16	45,3±3,7	40,4±3,4
Народжені від тварин, опромінених радіацією в дозі 0,5 Гр					
Гіпоталамус	0,430±0,041*	3,42±0,35	8,24±0,81	3,99±0,41	5,82±0,59
Надниркова залоза	3,82±0,40	2,14±0,15*	2,61±0,27	10,03±1,08	14,21±1,53
Кров	2,50±0,18*	3,41±0,35	1,94±0,21	114,8±12,3	78,9±8,2
Сеча	29,7±2,8*	41,1±4,2	1,96±0,15*	47,0±4,8	44,1±4,5

Примітка. * – достовірні відмінності порівняно з щуренятами, народженими від інтактних тварин.

Таблиця 2 – **Вміст катехоламінів та амінокислот у тканинах щуренят, народжених від опромінених тварин (M±m)**

Тканина	Адреналін	Норадреналін	Дофамін	Фенілаланін	Тирозин
Народжені від тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр					
Гіпоталамус	0,366±0,040	2,84*±0,27	9,30±0,90	4,07±0,43	5,07±0,49
Надниркова залоза	3,10±0,27	1,53±0,17	2,42±0,23	9,46±1,01	13,76±1,42
Кров	2,37*±0,19	3,60±0,35	1,85±0,17	119,7±12,1	96,7±10,2
Сеча	28,9*±2,4	47,2±4,8	1,68±0,15	52,0±5,3	46,7±4,4
Народжені від тварин, опромінених радіацією в дозі 3,0 Гр					
Гіпоталамус	0,248*±0,022	3,11±0,28	12,0±1,3	3,36*±0,31	4,43*±0,40
Надниркова залоза	2,66*±0,23	1,23*±0,11	2,33±0,19	9,07±0,91	11,8*±0,96
Кров	1,67±0,18	2,07*±0,22	1,24*±0,11	132,2±12,5	104,9±9,5
Сеча	16,6*±1,5	37,6±3,5	1,00*±0,12	56,2±4,9	51,4*±4,0

Примітка. * – достовірні відмінності порівняно з щуренятами, народженими від інтактних тварин.

У групі щуренят, народжених від тварин, опромінених радіацією в дозі 3,0 Гр відбуваються найбільш значні зміни симпато-адреналової системи. У гіпоталамусі цих тварин істотно знижується вміст адреналіну, у надниркових залозах, поряд із значним зниженням концентрації адреналіну, достовірно зменшується вміст норадреналіну, а різноспрямовані зміни норадреналіну та дофаміну свідчать про порушення переходу дофаміну у норадреналін. Знижується вміст катехоламінів у крові, а також норадреналіну та дофаміну. Враховуючи, що гіпокатехолемія є ознакою радіочутливості, можна дійти висновку, що радіорезистентність тварин цієї групи послаблена. Зменшується екскреція катехоламінів, особливо адреналіну та дофаміну, внаслідок чого відношення адреналіну та норадреналіну до дофаміну у сечі зростає. На відміну від попередніх груп тварин, відношення адреналіну до норадреналіну в сечі свідчить про перевагу медіаторної ланки симпато-адреналової системи над гормональною. Зменшення абсолютного вмісту катехоламінів у тканинах експериментальних щурів цієї групи може бути зумовлене зниженням вмісту амінокислот-попередників катехоламінів (особливо тирозину) у гіпоталамусі та надниркових залозах і посиленням виведення їх з організму, тобто існує велика ймовірність порушення у цих тварин процесів гідроксилювання та декарбоксилювання амінокислот. Всі перераховані порушення метаболізму катехоламінів у щуренят, народжених від тварин, опромінених радіацією в дозі 3,0 Гр, вказують на появу ознак виснаження симпато-адреналової системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьєва Н.І. Реакція гіпоталамуса і гіпофіза на іонізувальне випромінення // Укр. радіол. журн. – 1999. – **7**. – С. 185-187.

2. Гончаренко Е.Н., Антонова С.В., Ахалая М.Я., Кудряшов Ю.Б. Влияние малых доз ионизирующей радиации на уровень содержания катехоламинов и кортикостероидов в надпочечниках мышей // Радиац. биол. радиоэкол. – 2000. – **40**. – № 2. – С. 160-161.

3. Зайцев В.А., Балаклеевская В.Г., Петренко С.В. О функциональном состоянии гипофизарно-

кортикоадреналовой системы адаптации детей Беларуси, живущих в условиях действия малых доз радиации после аварии на ЧАЭС // Радиобиол. – 1992. – **32**, вып. 4. – С. 483-487.

4. Заключение комиссии по оценке экологической ситуации в районе деятельности производственного объединения "Маяк" Минатом энергопрома СССР, организованной распоряжением Президиума АН СССР № 1140-501 от 12.06.90 // Радиобиол. – 1991. – **31**, вып. 3. – С. 436-452.

5. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. – К.: Вища школа, 1974. – 303 с.

6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.

7. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

8. Митряева Н.А. Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (по данным 7-летнего наблюдения // Мед. радиол. и рад. безопасн. – 1996. – № 3. – С. 19-23.

9. Мітряєва Н.А., Ішханова М.А., Бакай Т.С., Губський В.І. Адаптивні системи регуляції у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС (за даними 7-річного спостереження) // Укр. радіол. журн. – 1995. – № 3. – С. 213-218.

10. Оснач В.С., Кудрин В.С., Гайнетдинов Г.Р., Сергеев П.В. Действие малых доз облучения на содержание моноаминов гипоталамуса крыс (на фоне газово-гипоксической смеси и без нее) // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1991. – **111**, № 10. – С. 432-433.

11. Степанов Р.П., Стрелин Г.С. Закономерности лучевого повреждения и репарации медленно восстанавливающихся тканей // I Всесоюз. радиобиол. съезд: Тез. докл. – Пущино, 1989. – Т. 1. – С. 235-236.

СОСТОЯНИЕ СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ У КРЫСЯТ, РОЖДЕННЫХ ОТ ОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

А.А. Мардашко, А.П. Полонский
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Изучено содержание адреналина, норадреналина, дофамина, фенилаланина и тирозина в гипоталамусе, надпочечниках, крови и моче крысят, рожденных от животных, облученных радиацией в дозах 0,5; 1,0; 3,0 Гр. Облучение в дозе 0,5 Гр увеличивает у потомства содержание адреналина в гипоталамусе и крови, норадреналина – в надпочечниках, усиливает экскрецию адреналина и дофамина. Облучение в дозе 1,0 Гр вызывает уменьшение соотношения норадреналин/дофамин в гипоталамусе и надпочечниках, а доза облучения 3,0 Гр приводит к гипокатехолемии и снижению экскреции катехоламинов с мочой.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **крысята, облучение, катехоламины, гипоталамус, надпочечники, кровь, моча.**

STATUS OF SYMPATHETICOADRENAL SYSTEM IN THE POSTERITY OF THE RATS AFTER IRRADIATION

O.O. Mardashko, O.P. Polonsky
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The content of epinephrine, norepinephrine, dopamine, phenylalanine and tyrosine in hypothalamus, supra-renal glands, blood and urine of the posterity from the rats after irradiation in different dose (0,5, 1,0, 3,0 Gr) was investigated. Irradiation in the dose 0,5 Gr raises the content of epinephrine, in the blood and hypothalamus of rats posterity, reinforces the excretion of epinephrine and dopamine. Irradiation in the dose 1,0 Gr provokes decreasing of the ratio norepinephrine/dopamine in hypothalamus and supra-renal glands, and 3,0 Gr causes hypocatecholemia and decreasing the excretion of catecholamines with urine.

KEY WORDS: **rats' posterity, irradiation, catecholamines, hypothalamus, supra-renal glands, blood, urine.**

Отримано 23.10.2002 р.

Адреса для листування: *О.О. Мардашко, вул. Княжеська, 3, кв. 62, Одеса, 65029, Україна.*

УДК 616.85-120/43

ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ, КОНЦЕНТРАЦІЯ БІЛКІВ ТА ГЛЮКОЗИ В ПАЦІЄНТОК З ФІБРОМІОМОЮ МАТКИ ТА ЕНДОМЕТРІОЗОМ, ЯКИХ ЛІКУВАЛИ АНАЛОГАМИ ГОНАДОТРОПІН-РИЛІЗИНГ-ГОРМОНУ

М.Г. Бульса
ПОМОРСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ЩЕЦИН, ПОЛЬЩА

У 209 жінок з фіброміомою матки та ендометріозом віком від 31 до 47 років визначали вміст загального холестерину, ЛПВЩ і ЛПНЩ, концентрацію глюкози і білків до лікування, через 12, 24 тижні, а також додатково на 36-му тижні від початку лікування аналогами гонадотропін-рилізинг-гормону (ГнРГ). Виявлено, що вміст холестерину (загального, ЛПВЩ, ЛПНЩ), глюкози, загального білка не зазнавав істотних змін під час лікування аналогами ГнРГ і показники були подібними до початкових. Встановлено, що застосування аналогів ГнРГ спричиняє появу різних побічних симптомів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **фіброміома, ендометріоз, лікування аналогами гонадотропін-рилізинг-гормону, концентрація ліпідів, глюкози, білків, побічні симптоми терапії.**

ВСТУП. Протягом багатьох років аналоги гонадотропін-рилізинг-гормону (ГнРГ) застосовують при лікуванні передчасного статевого дозрівання гіпоталамічного походження в дітей, фіброміом матки, ендометріозу, новоутворень молочної залози, яєчників, простатиту [3]. На даний час синтезовано понад 2000 різних аналогів, однак небагато з них використовують у практиці.

Метою роботи була оцінка у крові зміни вмісту ліпідів, білків та глюкози, а також частоти появи побічних симптомів під час лікування аналогами гонадоліберину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для дослідження було взято 209 жінок віком від 31 до 47 років (у середньому 36,5 року), яких поділили на дві групи залежно від захворювання. До I групи входило 89 жінок віком від 34 до 47 років (у середньому 38,4 року) з фіброміомою матки. До II групи – 120 жінок віком від 31 до 42 років (у середньому 35,2 року) з ендометріозом.

У всіх жінок підшкірно застосовували кожні 28 днів препарат "Золадекс" (3,6 мг "Госереліну") фірми "Женека". При лікуванні як фіброміом матки, так і ендометріозу "Золадекс" використовували протягом 24 тижнів. У жінок визначали рівень загального холестерину, фракцій ЛПВЩ і ЛПНЩ, вміст глюкози і білків до лікування, через 12, 24 тижні, а також додатково на 36-му тижні від початку лікування. Кров для досліджень брали вранці натще. Наявність побічних симптомів оцінювали через 4, 8, 12, 24 тижнів лікування.

Отримані результати опрацювали статистично, застосовуючи непараметричні методи. Змінні досліджували за допомогою тесту Shapiro-Wilka. Для аналізу різниць між двома змінними використали тест U-Manna-Whitney'a. Прийнято рівень достовірності тестів (α=0,05). Тест є статистично достовірним, якщо вираховуваний рівень є меншим від рівня α або $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень представлено у таблицях 1, 2, 3, 4.

Як видно з таблиць, вміст ліпідів, глюкози та загального білка достовірно не змінювався. Досліджувані показники були в межах лабораторної норми. Видно подібність досліджуваних параметрів незалежно від захворювання, яке було причиною приймання ліків.

Побічні симптоми охарактеризовано в таблицях 3 і 4. Провідним з них, який домінував в понад 80 % досліджуваних жінок, були гарячі припливи. Зафіксовано також швидке послаблення пам'яті та відхилення лібідо. У перші тижні лікування спостерігалися кровотечі з родових шляхів, які з часом майже зникли. У

© М.Г. Бульса – PhD, 2002.

Таблиця 1 – **Вміст холестерину (загального, ЛПВЩ, ЛПНЩ), глюкози та білків у жінок з фіброміомами та ендометріозом до лікування і через 12 тижнів лікування препаратом "Золадекс"**

Показник	Фіброміоми		Ендометріоз	
	До лікування	12 тижнів	До лікування	12 тижнів
Загальний холестерин	198,34±67,98	199,11±78,39	203,87±56,24	201,57±62,59
Холестерин ЛПВЩ	56,41±11,54	57,15±10,36	55,28±12,37	56,32±14,29
Холестерин ЛПНЩ	97,63±26,18	99,41±25,97	95,24±24,16	96,42±24,18
Глюкоза	76,49±31,27	79,25±29,43	77,12±28,19	80,75±34,21
Загальний білок	66,52±10,43	69,18±8,55	70,34±7,02	67,39±9,98

Таблиця 2 – **Вміст холестерину (загального, ЛПВЩ, ЛПНЩ), глюкози та білків у жінок з фіброміомами та ендометріозом через 24 та 36 тижнів лікування препаратом "Золадекс"**

Показник	Фіброміоми		Ендометріоз	
	24 тижні	36 тижнів	24 тижні	36 тижнів
Загальний холестерин	201,69±71,48	197,45±71,58	206,16±69,43	199,73±69,74
Холестерин ЛПВЩ	55,49±13,21	57,04±12,97	59,43±16,43	56,87±11,31
Холестерин ЛПНЩ	98,46±27,13	98,02±25,49	96,38±25,72	96,17±23,96
Глюкоза	74,37±33,19	81,38±36,69	78,79±41,67	79,17±29,41
Загальний білок	68,46±8,31	71,97±6,76	69,37±7,45	68,54±8,98

Примітка. Нормальні показники загального холестерину – 140-250 мг %; холестерину ЛПВЩ – 40-80 мг %; холестерину ЛПНЩ – 110-155 мг %; глюкози 70-115 мг %; загального білка – 60-80 г/л.

кількох жінок спостерігався також затяжний нежить. Аналізуючи конкретні побічні симптоми, які зумовлені застосуванням аналогів ГнРГ, можна зауважити, що частота їх була однаковою незалежно від того, яке захворювання спричиняло лікування – фіброміома матки, чи ендометріоз.

За даними літератури приймання аналогів ГнРГ протягом півроку не викликає змін в рівнях ліпідів [4, 11, 15]. Ці спостереження підтверджують результати нашого дослідження. Можна припустити, що тривале введення аналогів ГнРГ не збільшує ризику появи захворювань серцево-судинної системи.

У наших дослідженнях не виявлено істотної різниці в рівнях глюкози під час введення препарату "Золадекс". Проте ряд дослідників спостерігав незначне зменшення вмісту інсуліну під час лікування аналогами, що, однак, не супроводжувалось істотними змінами рівня глюкози [4, 7].

Виявлено, що існує зв'язок між рівнем білків плазми крові та рівнем естрогенів з огляду на те, що вони мають модулювальний вплив на їх синтез у печінці [5]. У наших дослідженнях ми виявили майже постійний рівень загального білка, який не змінювався під час лікування. Можливо, така ситуація пов'язана з відносно

Таблиця 3 – **Частота появи побічних симптомів у жінок з фіброміомами та ендометріозом, яких лікували препаратом "Золадекс" протягом 4 і 8 тижнів**

Симптоми	Фіброміоми				Ендометріоз			
	4 тижні		8 тижнів		4 тижні		8 тижнів	
	К-ть	%	К-ть	%	К-ть	%	К-ть	%
Гарячі припливи	68	6,4	81	7,5	73	2,0	86	1,6
Пітливість	39	43,8	56	6,6	43	48,3	61	50,8
Запаморочення	26	29,2	34	28,3	34	38,2	48	40,0
Дратівливість	36	40,4	47	39,1	35	39,3	52	43,3
Серцебиття	24	26,9	34	28,3	27	30,3	41	34,1
Головний біль	40	44,9	47	39,1	41	46,0	53	44,1
Біль у м'язах	16	17,9	31	25,8	22	24,7	32	26,6
Послаблення пам'яті	9	10,1	12	10,0	40	44,9	53	44,1
Кровотечі з родових шляхів	64	71,9	83	69,1	13	14,6	13	10,8
Біль у надчеревній ділянці	21	23,5	26	21,6	15	16,8	18	15,0
Безсоння	7	7,8	12	10,0	8	8,9	12	10,0
Зменшення лібідо	30	33,7	42	35,0	49	55,0	64	53,3
Риніти	2	2,2	5	4,1	2	2,2	6	5,0
Дизуричні симптоми	6	6,7	7	5,8	9	10,1	11	9,1

Таблиця 4 – **Частота появи побічних симптомів у жінок з фіброміомами та ендометріозом, яких лікували препаратом "Золадекс" протягом 12 і 24 тижнів**

Симптоми	Фіброміоми				Ендометріоз			
	12 тижнів		24 тижні		12 тижнів		24 тижні	
	К-сть	%	К-сть	%	К-сть	%	К-сть	%
Гарячі припливи	73	82,0	83	69,1	69	77,5	84	70,0
Пітливість	44	49,4	59	49,1	50	56,1	68	56,6
Запаморочення	29	32,5	37	30,8	35	39,3	49	40,8
Дратівливість	37	41,5	44	36,6	35	39,3	50	41,6
Серцебиття	23	25,8	36	30,0	29	32,5	42	35,0
Головний біль	32	35,9	44	36,6	29	32,5	37	30,8
Біль м'язів	21	23,5	32	26,6	22	24,7	34	28,3
Послаблення пам'яті	40	44,9	55	45,8	47	52,8	71	59,1
Кровотечі з родових шляхів	3	3,3	7	5,8	5	5,6	6	5,0
Біль у надчеревній ділянці	18	20,2	25	20,8	18	20,2	28	23,3
Безсоння	7	7,8	11	9,1	7	7,8	11	9,1
Зменшення лібідо	60	67,4	79	65,8	64	71,9	85	70,8
Риніти	4	4,4	5	4,1	4	4,4	7	5,8
Дизуричні симптоми	8	8,9	10	8,3	10	11,2	8	6,6

коротким часом застосування ліків, щоб викликати зміни його вмісту.

Під час лікування аналогами гонадоліберину відбуваються гіпоестрогенні втрати. Цей стан спостерігається незалежно від позитивних змін, таких, як зменшення розмірів фіброміоми матки [1, 2], ліквідація осередків ендометріозу [3], і супроводжується розвитком побічних ефектів у вигляді штучної менопаузи. У наших дослідженнях особливо докучали гарячі припливи, які спостерігалися у значної кількості пацієнток, незалежно від причини застосування аналогів ГнРГ. Подібні спостереження були в інших дослідників [6, 8]. Привертає увагу збільшення відсотка жінок, які скаржаться на послаблення пам'яті та зменшення лібідо в міру тривалого використання ліків. Побічні ефекти ліків з'являються після закінчення їх дії, що вимагає детального інформування пацієнтки про зміни в якості її життя.

ВИСНОВКИ. 1. Лікування аналогами ГнРГ не призводить до зміни вмісту загального холестерину, ЛПВЩ, ЛПНЩ.

2. Рівень глюкози під час лікування аналогами ГнРГ не зазнає істотних змін.

3. Вміст загального білка в сироватці крові істотно не залежить від застосування ГнРГ.

4. Застосування аналогів ГнРГ спричиняє появу побічних симптомів незалежно від хвороби, при якій вони призначаються.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aleem F.A., Predanic M. The hemodynamic effect of GnRH agonist therapy on uterine leiomyoma vascularity: a prospective study using transvaginal color Doppler sonography // Gynecol. Endocrinol. – 1995. – **9**. – P. 253-258.

2. Balasch J., Manau D., Mimo J. Trial of routine gonadotropin releasing hormone agonist treatment before abdominal hysterectomy for leiomyoma // Acta Obstet. Gynecol. Scand. – 1995. – **74**. – P. 562-565.

3. Banaczek Z., Penza G., Szatanek M. Endometrioza wewnktrzna w materiale wiasnym // Przegl. Lek. – 1995. – **52**. – P. 483-484.

4. Carmina E., Janni A., Lobo R.A. Psychological estrogen replacement may enhance the effectiveness of the gonadotropin-releasing hormone agonist in the treatment of hirsutism // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1994. – **78**. – P. 126-130.

5. Hashimoto S., Niwa M., Akasafu K. et al. Changes in 40 serum proteins of post-menopausal women // Maturitas. – 1991. – **13**. – P.23-33.

6. Healy D.L., Lawson S.R., Abbott M. et al. Toward removing uterine fibroids without surgery: subcutaneosus infusion of a luteinizing hormone-releasing hormone agonist commencing in the luteal phase // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1986. – **63**. – P. 619- 625.

7. Rittmaster R.S., Thompson D.L. Effect of leuprolide and dexamethasone on hair growth and hormone levels in hirsute women: the relative importance of the ovary and the renal in the pathogenesis of hirsutism // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1990. – **70**. – P. 1096-1102.

8. Vercellini P., Sacerdote P., Trespidi L. et al. Veralipride for the hot flushes inducted by a gonadotropin-releasing hormone agonist: a controlled study // Fertil. Steril. – 1994. – **62**. – P. 938-942.

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ, КОНЦЕНТРАЦИЯ БЕЛКОВ И ГЛЮКОЗЫ У ПАЦИЕНТОК С ФИБРОМИОМОЙ МАТКИ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ, КОТОРЫХ ЛЕЧИЛИ АНАЛОГАМИ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА

М.Г. Бульса
ПОМОРСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, ЩЕЦИН, ПОЛЬША

Резюме

У 209 женщин с фибромиомой матки и эндометриозом возрастом от 31 до 47 лет определяли содержание общего холестерина, ЛПВП и ЛПНП, концентрацию глюкозы и белков до лечения, через 12, 24 недели, а также дополнительно на 36-й неделе после начала лечения аналогами гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ). Выявлено, что концентрация холестерина (общего, ЛПВП, ЛПНП), глюкозы, общего белка существенно не изменялась во время лечения аналогами ГнРГ и показатели были похожими с начальными. Установлено, что применение аналогов ГнРГ служит причиной появления разных побочных симптомов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **фибромиома, эндометриоз, лечение аналогами гонадотропин-рилизинг-гормона, концентрация липидов, глюкозы, белков, побочные симптомы терапии.**

LIPID PROFILE, CONCENTRATION OF PROTEINS AND GLUCOSE IN PATIENTS WITH UTERUS FIBROMYOMA AND ENDOMERTIOSIS, TREATED BY ANALOGS OF GONADOTROPIN-RELEASINS-HORMONE

M.H. Bulsa
POMORSK MEDICAL ACADEMY, SCHETSYN, POLAND

Summary

At 209 women aged from 31 till 47 years with uterus fibromyoma and endometriosis defined the concentration of total cholesterin, HDL and LDL, concentration of glucose and proteins before treatment, after 12, 24 weeks, and also, in addition, on the 36-th week from the beginning of the treatment by analogs of gonadotropin-releasing-hormone. It was revealed, that the concentration of a cholesterin (total, HDL, LDL), glucose, total protein, did not show essential changes during treatment by analogs of Gn-RH and the indices were similar to the primary ones. It was fixed, that the application of analogs of Gn-RH serves the reason of occurrence of different secondary signs.

KEY WORDS: **fibromyoma, endometriosis, treatment by analogs of gonadotropin-releasing-hormone, concentration of lipids, glucose, proteins, side signs of therapy.**

Отримано 11.10.2002 р.

Адреса для листування: *М.Г. Бульса, вул. 5 Липня, 32А/11, Щецин, Польща.*

Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті: http://www.tdma.ssft.ternopil.ua/journals

УДК 615.015:547.298.1

ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ПРОТИСУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ БЕНЗИЛАМІДІВ МАЛОНАНІЛОВИХ КИСЛОТ ВІД ПАРАМЕТРІВ ЇХ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БУДОВИ

В.А. Георгіянц
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

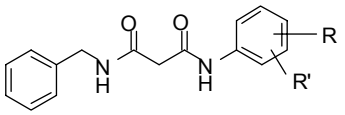
Проведено ресинтез, вивчено протисудомну активність та розраховано параметри молекул (молекулярну масу, коефіцієнт розподілу, молекулярну рефракцію, молярний об'єм, парахор, індекс рефракції, поверхневий натяг, густину і здатність до поляризації) бензиламідів малонанілових кислот. Протисудомну активність розраховано в балах відносно контролю та препарату порівняння – фенобарбіталу. Показниками активності були тривалість латентного періоду, кількість тварин, що вижили, та сумарна активність.

Установлено, що тривалість латентного періоду добре корелює з більшістю параметрів молекули. Найкращою є кореляція з молекулярною рефракцією. Також цей показник добре корелює з показником поверхневого натягу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **бензиламіди малонанілових кислот, ресинтез, протисудомна активність, параметри молекули, латентний період.**

ВСТУП. Останнім часом усе більшу увагу в розробників нових лікарських засобів привертають різноманітні математичні методи прогнозування біологічної активності різного спрямування для певних класів біологічно активних речовин [6]. Такий підхід є виправданим і досить перспективним, оскільки дозволяє у деяких випадках заощадити час і чималі кошти, які витрачаються на синтез та фармакологічний скринінг широкого кола хімічних агентів. І на сьогодні стало вже звичним і традиційним при вивченні тієї чи іншої фармакологічної дії певної групи органічних речовин намагатися знайти залежність активності від природи речовини, тобто її параметрів.

З метою створення об'єктивних математичних систем для розрахунку залежності структура-активність, необхідно мати достатньо великий масив сполук з відомими фармакологічними властивостями однорідної структури. Нами було отримано значну кількість похідних малонової кислоти, які в експериментах на тваринах виявили високу протисудомну активність. Для оптимізації подальшого цілеспрямованого синтезу антиконвульсантів в цьому ряду ми поставили завдання розрахувати параметри молекул синтезованих раніше діанілідів малонової кислоти (1-19) та вивчити залежність проявленої ними протисудомної активності від цих параметрів:



МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Синтез похідних алкілмалонових кислот здійснювали за методиками, наведеними раніше [2, 4, 5].

Фізико-хімічні параметри синтезованих речовин (молекулярна маса, коефіцієнт розподілу, молекулярна рефракція, молярний об'єм, парахор, індекс рефракції, поверхневий натяг, густина і здатність до поляризації) було розраховано за допомогою програми "ACD-Labs" Американського хімічного товариства (табл. 1).

Для аналізу результатів фармакологічного скринінгу фармакологічну активність синтезованих сполук розраховували у балах. Тривалість латентного періоду у контрольній групі тварин приймали за 0 балів, такий самий показник при дії фенобарбіталу – за 10 балів. Активність синтезованих речовин

© В.А. Георгіянц – к.фарм.н., 2002.

розраховували відповідно до цієї шкали. Ми вважали за доцільне враховувати і інший показник активності – загальну тривалість судомної реакції. Цей показник знаходили, виходячи з наведених вище параметрів – 0 балів у контролі і 10 балів при дії фенобарбіталу. Загальний бал протисудомної активності розраховували як суму цих двох показників. Розраховані дані активності наведено в таблиці 2.

Залежність протисудомної активності від параметрів молекул було розраховано за допомогою програми "STATISTIKA" [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При проведенні статистичної обробки нами були вилучені з вибірки результати активності сполук 5 та 12, що, як видно з таблиці 2, протисудомної активності не мають, а, навпаки, посилюють судомну дію коразолу.

Аналіз даних статистичної обробки результатів (табл. 3-5) свідчить про те, що добра кореляція спостерігається між тривалістю латентного періоду та більшістю параметрів молекули. Найкращою є кореляція з молекулярною рефракцією (коефіцієнт кореляції – 0,604). Щодо загальної тривалості судом та сумарної активності високу і надійну кореляцію вдається отримати лише для молекулярної рефракції (коефіцієнт кореляції становить 0,565 (p=0,018) та 0,643 (p=0,005) відповідно). Несподівано виявилось, що логарифмування показників погіршує кореляцію (табл. 3-5).

Як видно з таблиць 3-5 та рисунків 1-3, існує оберненопропорційна залежність між показниками активності та параметрами молекул, що так чи інакше пов'язані з молекулярною масою. Це виявилось певною несподіванкою, оскільки зазвичай при таких значеннях молекулярної маси, активність повинна була б зростати у міру збільшення маси та, відповідно, ліпофільності. Такий феномен можна пояснити тим, що замісниками в ароматичному компоненті є гідрофільні групи, які, збільшуючи молекулярну масу, здатні, разом із тим, зменшувати ліпофільність і погіршувати транспорт сполуки крізь гематоенцефалічний бар'єр. До того ж, відомо, що на ліпофільність значною мірою впливає не тільки наявність тих чи інших замісників, але й їх розташування в молекулі [1]. На жаль, програма "ACD-Labs" не дає змоги врахувати це при обчисленні молекулярних параметрів.

Оскільки молекулярна рефракція є показником, який легко розраховується і визначається експериментально, в цій групі сполук математичне обгрунтування пошуку протисудомних агентів є простим та перспективним. Слід зазначити, що при переході до інших груп сполук, навіть серед найближчих аналогів, такої залежності може не спостерігатись.

ВИСНОВКИ. 1. Проведено ресинтез та обчислено параметри молекул бензиламідів малонанілових кислот. Протисудомну актив-

Таблиця 1 – **Фізико-хімічні властивості бензиламідів малонанілових кислот**

Сполука	R	Мол. маса	Log P	Молярна рефракція, $см^3$	Молярний об'єм, $см^3$	Парахор, $см^3$	Індекс рефракції	Поверхневий натяг, дин/см	Густина, $г/см^3$	Здатність до поляризації, $\cdot 10^{24}$ $см^3$
1	2-Cl	302,7	2,03±0,43	82,79±0,3	234,1±3,0	631,6±4,0	1,625±0,02	52,9±3,0	1,293±0,06	32,82±0,5
2	3-Cl	302,7	2,03±0,43	82,79±0,3	234,1±3,0	631,6±4,0	1,625±0,02	52,9±3,0	1,293±0,06	32,82±0,5
3	2-Br	347,2	2,51±0,50	85,59±0,3	238,3±3,0	646,2±4,0	1,637±0,02	54,0±3,0	1,456±0,06	33,93±0,5
4	4-Br	347,2	2,51±0,50	85,59±0,3	238,3±3,0	646,2±4,0	1,637±0,02	54,0±3,0	1,456±0,06	33,93±0,5
5	3-CH_3	282,3	2,29±0,42	82,72±0,3	238,4±3,0	633,3±4,0	1,610±0,02	49,7±3,0	1,184±0,06	32,79±0,5
6	4-CH_3	282,3	2,29±0,42	82,72±0,3	238,4±3,0	633,3±4,0	1,610±0,02	49,7±3,0	1,184±0,06	32,79±0,5
7	2-OCH_3	298,3	1,73±0,43	84,58±0,3	246,1±3,0	652,4±4,0	1,603±0,02	49,3±3,0	1,211±0,06	33,53±0,5
8	4-OCH_3	298,3	1,73±0,43	84,58±0,3	246,1±3,0	652,4±4,0	1,603±0,02	49,3±3,0	1,211±0,06	33,53±0,5
9	3-OH	284,3	1,48±0,42	79,78±0,3	220,5±3,0	610,7±4,0	1,643±0,02	58,7±3,0	1,288±0,06	31,62±0,5
10	4-OC_2H_5	312,3	2,37±0,43	89,21±0,3	262,6±3,0	692,2±4,0	1,594±0,02	48,2±3,0	1,189±0,06	35,36±0,5
11	4-NO_2	313,3	2,41±0,45	84,44±0,3	234,0±3,0	651,2±4,0	1,641±0,02	59,9±3,0	1,338±0,06	33,47±0,5
12	2,5-CH_3	296,3	2,75±0,42	87,55±0,3	254,7±3,0	671,0±4,0	1,603±0,02	48,1±3,0	1,163±0,06	34,70±0,5
13	2,5-CH_3	296,3	2,75±0,42	87,55±0,3	254,7±3,0	671,0±4,0	1,603±0,02	48,1±3,0	1,163±0,06	34,70±0,5
14	4-COOH	312,3	2,06±0,44	84,83±0,3	234,6±3,0	657,8±4,0	1,642±0,02	61,7±3,0	1,330±0,06	33,63±0,5
15	4-COOEt	340,3	2,77±0,44	94,30±0,3	276,5±3,0	740,3±4,0	1,597±0,02	51,3±3,0	1,230±0,06	37,38±0,5
16	4-$CONHC_6H_4Cl$-2	435,9	3,27±0,53	120,90±0,3	335,1±3,0	916,9±4,0	1,641±0,02	56,0±3,0	1,300±0,06	47,93±0,5
17	4-$CONHCHCH_3Ph$	415,4	3,03±0,52	120,64±0,3	340,4±3,0	919,4±4,0	1,626±0,02	53,1±3,0	1,220±0,06	47,82±0,5
18	2-COC_6H_5	372,4	3,91±0,52	107,64±0,3	300,2±3,0	815,3±4,0	1,636±0,02	54,3±3,0	1,240±0,06	42,69±0,5
19	Ar=2-піридил	269,3	1,20±0,42	79,99±0,3	215,3±3,0	589,9±4,0	1,623±0,02	56,2±3,0	1,250±0,06	30,12±0,5

Таблиця 2 – **Фармакологічна активність бензиламідів малонанілових кислот**

№ за/п	Латентний період			Тривалість судом			Загальна активність	
	Скринінг	Бал (L)	Log L	Скринінг	Бал (T)	Log T	Бал (A)	Log A
1	563	5,22	1,652	29,9	4,26	1,450	9,48	2,249
2	773	12,38	2,516	10,9	13,57	2,608	25,97	3,256
3	602	6,55	1,879	23,7	7,30	1,988	13,86	2,628
4	500	3,07	1,122	29,3	4,55	1,517	7,63	2,032
5	308	-3,48		33,5	2,50	0,916	-0,98	
6	703	10,00	2,302	33	2,74	1,009	12,75	2,545
7	607	6,72	1,905	25,1	6,61	1,889	13,34	2,590
8	927	17,64	2,870	7,3	15,34	2,730	32,99	3,496
9	439	0,98	-0,010	33,1	2,69	0,991	3,68	1,304
10	342	-2,32		27,6	5,39	1,684	3,07	1,122
11	700	9,89	2,292	16,5	10,83	2,382	20,73	3,031
12	305	-3,58		32,3	3,08	1,127	-0,50	
13	317	-3,17		21,4	8,43	2,132	5,26	1,659
14	507	3,31	1,197	33,5	2,50	0,916	5,81	1,759
15	389	-0,71		36,5	1,02	0,029	0,31	-1,162
16	477	2,28	0,827	36,9	0,83	-0,182	3,12	1,137
17	538	4,36	1,474	23,4	7,45	2,008	11,82	2,469
18	707	10,137	2,316	30,8	3,82	1,341	13,96	2,636
19	893	16,485	2,802	14,6	11,76	2,465	8,25	3,341

Таблиця 3 – **Кореляція між тривалістю латентного періоду (L) та фізико-хімічними властивостями сполук**

Параметр	Коефіцієнт кореляції	t-критерій Стьюдента	Статистична значущість
Молекулярна маса (ММ)	-0,25964	-1,0413	0,314232
Log ММ	-0,27439	-1,10514	0,286509
Log P	-0,32774	-1,34354	0,19907
Молярна рефракція (МР)	-0,60395	-2,93475	0,010246
Log МР	-0,60062	-2,9094	0,010787
Молярний об'єм (МО)	0,34725	1,434137	0,172051
Log МО	0,351157	1,452526	0,166953
Парахор (П)	0,40166	1,698668	0,110022
Log П	0,422498	1,805375	0,091124
Індекс рефракції (ІР)	-0,48326	-2,13789	0,049394
Log ІР	-0,45797	-1,99527	0,064508
Поверхневий натяг (ПН)	-0,46971	-2,06063	0,057122
Log ПН	-0,46343	-2,02547	0,060992
Густина (Г)	-0,49284	-2,19365	0,044431
Log Г	-0,45929	-2,00252	0,063648
Здатність до поляризації (ЗП)	-0,48424	-2,14353	0,04887
Log ЗП	-0,48678	-2,15823	0,047527

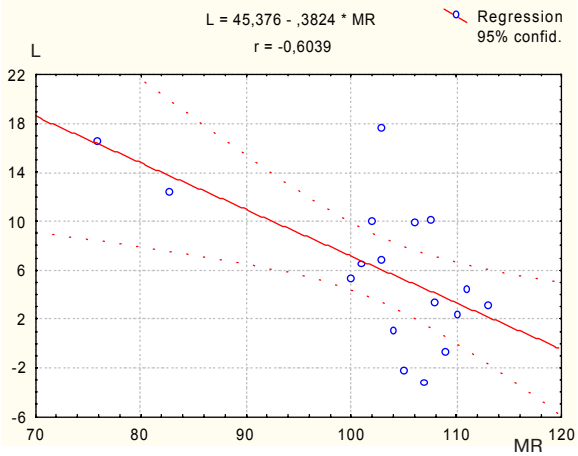


Рис. 1. Залежність тривалості латентного періоду (L) від молекулярної рефракції (MR).

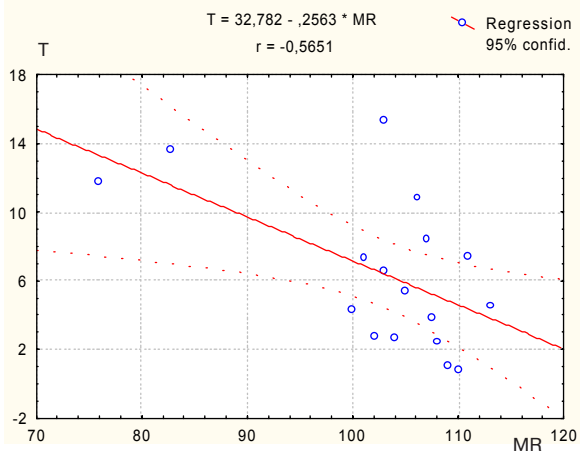


Рис. 2. Залежність загальної тривалості судом (T) від молекулярної рефракції (MR).

Таблиця 4 – **Кореляція між загальною тривалістю судом (Т) та фізико-хімічними властивостями сполук**

Параметр	Коефіцієнт кореляції	t-критерій Стьюдента	Статистична значущість
Молекулярна маса (ММ)	-0,35493	-1,47038	0,162121
Log ММ	-0,35741	-1,48216	0,159001
Log P	-0,39712	-1,67583	0,114485
Молярна рефракція (МР)	-0,56515	-2,65313	0,018078
Log МР	-0,56109	-2,62527	0,019112
Молярний об'єм (МО)	-0,00493	-0,01908	0,985031
Log МО	0,007488	0,029	0,977247
Парахор (П)	0,053157	0,206168	0,839432
Log П	0,089586	0,348366	0,732407
Індекс рефракції (ІР)	-0,16301	-0,63989	0,5319
Log ІР	-0,12957	-0,50607	0,620164
Поверхневий натяг (ПН)	-0,10772	-0,41963	0,680701
Log ПН	-0,10621	-0,41368	0,684965
Густина (Г)	-0,15911	-0,6242	0,541875
Log Г	-0,12747	-0,49773	0,625891
Здатність до поляризації (ЗП)	-0,14701	-0,5756	0,573417
Log ЗП	-0,17067	-0,67084	0,512521

Таблиця 5 – **Кореляція між активністю (А) та фізико-хімічними властивостями сполук**

Параметр	Коефіцієнт кореляції	t-критерій Стьюдента	Статистична значущість
Молекулярна маса (ММ)	-0,32775	-1,34359	0,199054
Log ММ	-0,33829	-1,3923	0,18413
Log P	-0,39046	-1,64262	0,121254
Молярна рефракція (МР)	-0,64338	-3,25495	0,005329
Log МР	-0,6394	-3,22083	0,005715
Молярний об'єм (МО)	0,219217	0,870191	0,397908
Log МО	0,22738	0,904327	0,380117
Парахор (П)	0,280455	1,131611	0,275565
Log П	0,310388	1,264586	0,225316
Індекс рефракції (ІР)	-0,38269	-1,60426	0,1295
Log ІР	-0,35128	-1,4531	0,166794
Поверхневий натяг (ПН)	-0,34878	-1,44134	0,17004
Log ПН	-0,34409	-1,4193	0,176258
Густина (Г)	-0,38701	-1,62557	0,124862
Log Г	-0,35116	-1,45253	0,166952
Здатність до поляризації (ЗП)	-0,376	-1,57156	0,136904
Log ЗП	-0,38843	-1,63256	0,123371

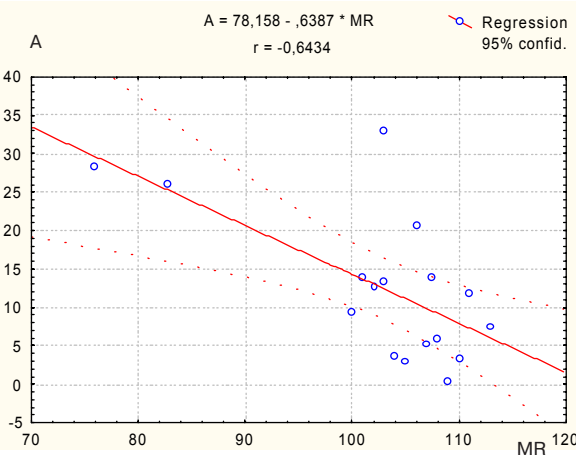


Рис. 3. Залежність сумарної активності (А) від молекулярної рефракції (MR).

ність, яку було вивчено раніше, розраховано у балах відносно контролю та препарату порівняння – фенобарбіталу.

2. Тривалість латентного періоду добре корелює з більшістю параметрів молекули. Найкращою є кореляція з молекулярною рефракцією. Також цей показник добре корелює з показником поверхневого натягу.

3. Щодо загальної тривалості судом та сумарної активності високу і надійну кореляцію вдається отримати лише для молекулярної рефракції.

4. Логарифмування названих показників погіршує як коефіцієнт кореляції, так і значущість кореляції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии: Пер с англ. В 2 т. – М.: Медицина, 1989. – Т. 2. – 432 с.

2. Безуглый П.А., Украинец И.В., Георгиянц В.А. и др. синтез и физико-химические свойства бензиламидов малоналиновых кислот / Харьковский гос. фармац. ин-т. – 14 с. – Деп. в УкрНИИНТИ 05.12.90, № 1968 – Ук90.

3. Боровиков В.П. Популярное введение в программу STATISTICA. – М.: Компьютер-Пресс, 1998. – 267 с.

4. Георгиянц В.А., Безуглый П.А., Сыч И.А. и др. Поиск потенциальных актиконвульсантов в ряду производных бензиламида 4-карбоксималонаниловой кислоты / Укр. фармац. академия. – Харьков, 1994. – 7 с. – Деп. в ГНТБ Украины 15.08.94, № 1639 – Ук94.

5. Георгіянц В.А. Синтез ацильних похідних 2-амінобензофенонів як можливих продуктів метаболізму 1,4-бензодіазепінів // Фізіологічно активні речовини. – 2000. – № 2. – С. 30-32.

6. Chan W.N., Hadley M.S., Harling J.D. et al. Evaluation of a series of anticonvulsant 1,2,3,4-tetrahydroisoguinolinylbenzamide // Bioorg. Med. Chem. – 2000. – **8**, № 8. – P. 2085-2094.

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ БЕНЗИЛАМИДОВ МАЛОНАНИЛОВЫХ КИСЛОТ ОТ ПАРАМЕТРОВ ИХ МОЛЕКУЛЯРНОГО СТРОЕНИЯ

В.А. Георгиянц

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведен ресинтез, изучена противосудорожная активность и рассчитаны параметры молекул (молекулярная масса, коэффициент распределения, молекулярная рефракция, молярный объем, парахор, индекс рефракции, поверхностное натяжение, плотность и способность к поляризации) бензиламидов малонаниловых кислот. Противосудорожная активность рассчитана в баллах по отношению к контролю и препарату сравнения – фенобарбиталу. Показателями активности были длительность латентного периода, количество выживших животных и суммарная активность.

Установлено, что длительность латентного периода хорошо коррелирует с большинством параметров молекулы. Лучшей является корреляция с молекулярной рефракцией. Также этот показатель хорошо коррелирует с показателем поверхностного натяжения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **бензиламиды малонаниловых кислот, ресинтез, противосудорожная активность, параметры молекулы, латентный период.**

STUDIES OF ANTICONVULSANT ACTIVITY OF MALONANYLIC ACIDS BENZYLAMIDES DEPENDENCE ON THEIR MOLECULAR STRUCTURE PARAMETERS

V.A. Georgiyants

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

The resynthesis of malonanylic acids benzylamides was carried out, their anticonvulsant activity was studied and parameters of their molecules molecular weight, coefficient of partition, molar refractivity, molecular volume, parachor, index of refraction, surface tension, density, polarizability were calculated. Anticonvulsant activity was calculated in points according to control and testing preparation – Phenobarbital. The latent period, living animals quantity and the total activity were parameters of activity.

It has been established that the duration of the latent period correlate well with the most molecula parameters. The correlation with the molar refraction is the best. This activity parameter also correlates well with the surface tension parameter.

KEY WORDS: **benzylamides of malonanylic acids, resynthesis, anticonvulsant activity, molecule parameters, latent period.**

Отримано 19.09.2002 р.

Адреса для листування: *В.А. Георгіянц, Національний фармацевтичний університет України, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.*

УДК 616:848-550/184

ЗАСТОСУВАННЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "СИЛАРД П" ТА ЛІПОСОМ З МЕТОЮ КОРЕКЦІЇ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІЯХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ СОЛЯНОКИСЛИМ ГІДРАЗИНОМ

І.М. Кліщ, М.М. Корда
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В експерименті, на моделі токсичного ураження солянокислим гідразином, досліджено вплив поєднаного застосування ліпосом, навантажених карнітину хлоридом, бурштиновою кислотою і цитохромом С, та ентеросорбенту "Силард П" на активність мітохондріальних ферментів, які беруть участь у процесах енергозабезпечення, та інтенсивність поглинання кисню в різних метаболічних станах. Встановлено, що введення ліпосом та силарду П сприяло нормалізації активності енергозабезпечувальних ферментів та зростанню інтенсивності поглинання кисню. Найкращі результати отримано у старих тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **токсичне ураження печінки, солянокислий гідразин, мітохондрії, корекція, ліпосоми, силард П, вікові особливості.**

ВСТУП. Одним із поширених токсичних агентів, отруєння яким супроводжується розвитком жирового гепатозу, є гідразин [1, 5]. Механізм його гепатотоксичної дії до кінця не досліджено. Відзначають вплив гідразину на процеси ліпопереокиснення, активність ряду ферментів ліпідного обміну, окиснювальну здатність мікросом [1]. Метою нашого дослідження було вивчити вплив солянокислого гідразину на функціональну активність мітохондрій, стан енергетичних процесів у печінці щурів різних вікових груп і можливість їх корекції за допомогою ентеросорбенту "Силард П" та ліпосом з інкорпорованими карнітину хлоридом, бурштиновою кислотою та цитохромом С.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на нелінійних щурах-самцях. У досліді використовували тварин таких вікових періодів: статевого дозрівання (молоді, 3-міс., маса – 70-100 г), статевої зрілості (дорослі, 8-10-міс., маса – 180-220 г) та старіння (старі, 18-24-місячні, маса – 300 г і більше). Піддослідних щурів було поділено на 3 групи: I – інтактні; II – контрольні (уражені солянокислим гідразином); III – ліковані (гідразин+ліпосоми+силард П). Солянокислий гідразин тваринам II та III груп вводили внутрішньочеревно в дозі 56 мг/кг у вигляді 6 % водного розчину [5]. Інтактні щурі отримували ідентичний об'єм фізіологічного розчину NaCl. Бішарові ліпосоми одержували за методом [2], що передбачає ультразвукову обробку (44 кГц, 20-30 мкА) яєчного холінфосфатиду і холестерину (мольне співвідношення 9:2) в розчині Хенкса з розведеними в ньому карнітину хлоридом (10 мг/100 мг ліпідів ліпосом), бурштиновою кислотою (6 мг/100 мг ліпідів) та цитохромом С (0,11 мг/100 мг ліпідів) протягом 3 хв. Отримані бішарові ліпосоми у закритій пробірці швидко заморожували в рідкому азоті (-195 °С) і відразу ж поміщали пробірку у водяну баню (20-25 °С). Розморожену суміш знову заморожували. Цю процедуру повторювали 3 рази. Після останнього заморожування суміш розморожували за кімнатної температури. Ліпосоми вводили внутрішньочеревно з розрахунку 100 мг ліпідів/кг. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 24, 48 год та 5 діб після введення солянокислого гідразину.

У виділених методом диференційного центрифугування мітохондріях печінки полярографічним методом визначали швидкість дихання та окиснювального фосфорилювання на полярографі РА-2 (Чехія) з використанням відкритого платинового електрода [4]. На отриманих полярограмах розраховували такі показники: V_2 – дихання в присутності екзоген-

© І.М. Кліщ – к.м.н., М.М. Корда – д.м.н., проф., 2002.

ного субстрату (сукцинат, 6 мМ); V_3 – до суспензії мітохондрій, крім сукцинату, додано акцептор фосфату (АДФ, 200 мкМ); V_4 – в системі вичерпується акцептор фосфату, але концентрація субстрату залишається високою; $V_{днф}$ – швидкість дихання в присутності роз'єднувача (2,4-ДНФ, 50 мкМ). Розраховували також дихальний контроль за Чансом (ДК=V_3/V_4) та показник співвідношення V_2/V_4, який дозволяє оцінити здатність мітохондріальних мембран утримувати енергетичний потенціал. Визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) [7], цитохромоксидази (ЦО) [6] та протонної АТФ-ази (H^+-АТФ-ази) [3] – ключових ферментів, які беруть участь у процесах енергоутворення на різних його етапах.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження активності ферментів, які беруть участь у процесах енергозабезпечувального окиснення в мітохондріях, наведено в таблиці 1 і на рис. 1.

Із цих результатів видно, що поєднане застосування ліпосом, навантажених карнітину хлоридом, бурштиновою кислотою і цитохромом С, та силарду П сприяло відновленню активності СДГ у мітохондріях тварин усіх вікових періодів, уражених солянокислим гідразином. Це ж можна стверджувати і відносно цитохромоксидази – ферментна активність повністю відновлювалась після п'ятиденного використання досліджуваної комбінації, хоча вже на 2-гу добу показники достовірно не відрізнялись від інтактних. Нормалізувалась також активність протонної АТФ-ази (рис. 1). При цьому зміни стосовно уражених тварин мали фазовий характер: через 24 год від моменту введення ферментна активність зростала, а в наступні терміни дослідження знижувалась.

При полярографічному дослідженні здатності мітохондрій поглинати кисень (табл. 2) ми відмітили стимулювальну дію ентеросорбенту та ліпосом на ці процеси. Покращувалась інтенсивність поглинання кисню мітохондріями гепатоцитів щурів усіх вікових періодів у "вільному" стані, вже на 2-гу добу цей показник достовірно не відрізнявся від інтактних тварин. Додавання до інкубату АДФ також більш суттєво стимулювало інтенсивність дихання в даній групі тварин. Особливо це помітно в щурів 18-24-місячного віку. Інтенсивність дихання в "контрольованому" стані за умови інтоксикації солянокислим гідразином достовірно знижувалась лише через 48 год від моменту введення токсину. Застосування силарду П та ліпосом сприяло відновленню і цього показника в щурів усіх вікових груп. Дихання в присутності роз'єднувача відновлювалось уже після одноденного застосування ліпосом із сорбентом,

Таблиця 1 – **Активність мітохондріальних ферментів у печінці щурів різних вікових груп з токсичним ураженням солянокислим гідразином і за корекції ліпосомами та силардом П (M±m)**

Вік	Показник	Група тварин						
		Інтактні, n=6	Уражені солянокислим гідразином			Солянокислий гідразин+ ліпосоми+силард П		
			24 год, n=6	48 год, n=6	5 доба, n=6	24 год, n=6	48 год, n=6	5 доба, n=6
3 міс.	СДГ, ммоль/(кг·хв)	10,14±0,26	7,31±0,44*	7,84±0,58*	9,88±0,32	8,59±0,24**	8,95±0,32**	9,98±0,23
	ЦО, ммоль/(кг·хв)	8,98±0,20	6,65±0,32*	6,55±0,27*	8,05±0,42	7,82±0,18**	8,38±0,20**	8,79±0,22**
	H^+-АТФ-аза, моль/(кг·хв)	350,1±12,2	206,5±16,0*	372,2±6,7	358,2±8,57	290,6±12,3**	287,7±11,8	353,9±10,3
8-10 міс.	СДГ, ммоль/(кг·хв)	9,30±0,24	7,72±0,49*	9,16±0,53	10,43±0,69	8,88±0,25**	9,16±0,38	9,38±0,42
	ЦО, ммоль/(кг·хв)	8,55±0,21	5,92±0,46*	6,26±0,56*	8,22±0,77	7,87±0,19**	8,23±0,22**	8,44±0,24
	H^+-АТФ-аза, моль/(кг·хв)	345,0±13,4	211,2±14,6*	356,2±4,83	331,2±6,01	291,7±12,9**	352,5±10,9	347,7±11,6
18-24 міс.	СДГ, ммоль/(кг·хв)	8,09± 0,29	6,31±0,34*	5,83±0,50*	7,13+0,23*	7,26±0,23**	7,86±0,18**	7,99±0,19**
	ЦО, ммоль/(кг·хв)	7,88±0,16	5,05±0,15*	5,23±0,27*	6,76±0,21*	6,38±0,18**	6,96±0,23**	7,74±0,27**
	H^+-АТФ-аза, моль/(кг·хв)	328,7±10,8	224,8±9,3*	341,7±10,7	350,3±6,92	268,1±8,9**	337,9±11,0	331,2±9,7

Примітки. Тут і в таблиці 2:
1. * – різниця достовірна ($p<0,05$) порівняно з інтактними тваринами.
2. ** – різниця достовірна порівняно з тваринами, ураженими солянокислим гідразином.

Таблиця 2 – **Показники інтенсивності поглинання кисню та параметрів спряження дихання і фосфорилювання мітохондрій печінки щурів з токсичним ураженням солянокислим гідразином і за корекції ліпосомами та силардом П (M±m)**

Вік	Показник	Група тварин						
		Інтактні n=6-8	Уражені солянокислим гідразином			Солянокислий гідразин+ ліпосоми+силард П		
			24 год, n=6	48 год, n=6	5 доба, n=6	24 год, n=6	48 год, n=6	5 доба, n=6
3-міс.	V_2	42,6±2,2	26,2±2,8*	23,7±1,3*	35,1±2,8	37,5±2,7**	39,9±1,8**	41,7±1,6**
	V_3	96,8±5,7	54,8±5,3*	48,8±4,2*	78,4±6,6	69,7±5,6**	86,9±5,5**	94,8±6,2**
	V_4	33,2±2,3	28,6±1,9	25,2±1,4*	31,7±1,9	32,9±1,6	33,1±2,1**	33,3±1,7
	$V_{ДНФ}$	143,5±7,6	120,5±6,9	112,3±6,2*	134,8±7,8	139,7±6,3**	142,9±8,3**	143,0±7,8
	ДК	2,92±0,12	1,91±0,16*	1,93±0,10*	2,47±0,13	2,12±0,18**	2,63±0,12**	2,85±0,14
	V_2/V_4	1,28±0,06	0,91±0,04*	0,94±0,07*	1,10±0,08	1,14±0,05**	1,21±0,09**	1,25±0,06
8-10-міс.	V_2	38,4±2,1	30,9±2,6*	25,5±2,0*	31,4±2,5	36,9±2,4**	36,7±2,1**	37,8±2,2
	V_3	93,5±6,5	66,8±4,8*	59,2±4,2*	80,5±6,3	80,5±3,6**	86,8±5,2**	92,4±6,0
	V_4	35,1±1,3	34,7±2,7	29,3±1,9*	29,5±1,2*	34,2±2,7	32,8±1,3	34,5±1,1**
	$V_{ДНФ}$	156,2±8,2	142,6± 6,8	121,6±5,8*	131,3± 7,9	153,7±7,0**	152,9±6,1**	154,9±9,6**
	ДК	2,66±0,18	1,91±0,17*	2,02±0,12*	2,72±0,16	2,35±0,15**	2,64±0,18**	2,67±0,19
	V_2/V_4	1,09±0,10	0,89±0,05*	0,87±0,04*	1,06±0,09	1,08±0,02**	1,11±0,06**	1,09±0,06
18-24-міс.	V_2	32,2±1,8	23,3±2,1*	20,2±1,4*	24,6±2,0*	26,8±2,2	28,6±2,0**	30,9±1,8**
	V_3	75,6±4,3	48,8±4,4*	41,5±3,2*	58,4±3,3*	63,7±4,3**	69,8±3,9**	74,5±5,5**
	V_4	28,8±1,1	25,9±2,0	22,9±2,1*	25,2±2,0	26,6±1,8	28,5±1,2**	28,7±1,1
	$V_{ДНФ}$	129,4±8,6	128,3±5,4	82,3±3,7*	87,1±4,6*	126,6±7,1	119,4±6,3**	128,5±5,9**
	ДК	2,63±0,20	1,64±0,15*	1,59±0,10*	2,31±0,13	2,39±0,14**	2,45±0,18**	2,56±0,16
	V_2/V_4	1,11±0,09	0,89±0,04*	0,87±0,05*	0,97±0,04	1,01±0,04	1,01±0,05	1,08±0,06

що свідчить про повернення мітохондріальним ланцюгом здатності транспортувати електрони. Зростання інтенсивності поглинання кисню мікросомами тварин, яким вводили силард П та ліпосоми, позначилось на показникові дихального контролю – до 5-ї доби він досягнув вихідного рівня. Нормалізація співвідношення V_2/V_4 також мала місце вже на ранніх етапах дослідження.

Таким чином, поєднане застосування ентеросорбенту "Силард П" та ліпосом з інкорпорованими карнітину хлоридом, бурштиновою кислотою та цитохромом С сприяло нормалізації окиснення субстратів мітохондріями тварин різних вікових груп, уражених солянокислим гідразином, покращувало транспорт електронів по дихальному ланцюгу та стимулювало інтенсивність окиснювального фосфорилювання.

ВИСНОВКИ. 1. Поєднане застосування ліпосом з інкорпорованими карнітину хлоридом, бурштиновою кислотою та цитохромом С сприяє нормалізації функціональної активності мітохондрій тварин різних вікових груп, уражених солянокислим гідразином.

2. Найкращий ефект при використанні ліпосом та силарду П спостерігається в щурів 18-24-місячного віку.

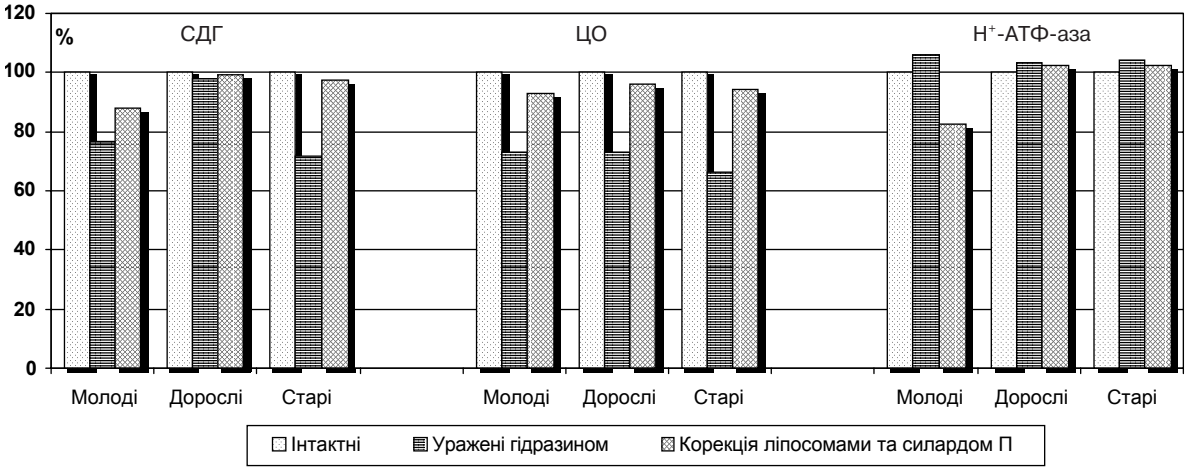


Рис. 1. Активність ферментів енергозабезпечення в печінці щурів, уражених солянокислим гідразином та за корекції ліпосомами та силардом П (48 год від моменту отруєння).

ЛІТЕРАТУРА

1. Авакян А.Х. Новые молекулярные критерии оценки токсического действия производных гидразина. Активные формы кислорода как ключевые агенты в механизме токсичности // Фармакол. и токсикол. – 1990. – **53**, № 1. – С. 70-73.

2. Будкер В.Г., Вахрушева Т.Е., Киселева Е.В., Христолюбова Н.Б. Получение липосом с лекарственными препаратами // Хим. фарм. журн. – 1987. – № 3. – С. 347-351.

3. Губский Ю.И. АТФ-азная активность митохондорий печени крыс при отравлении тетрахлорметаном // Укр. биохим. журн. – 1992. – № 1. – С. 46-50.

4. Кондрашова М.Н., Мохова Е.Н., Роттенберг Ю.С. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Под ред. Г.М. Франка. – М.: Наука, 1973. – 221 с.

5. Копылова Т.Н., Майоре А.Я. Эрлете Д.Л. и др. Перекисное окисление липидов при поражении печени солянокислым гидразином // В кн.: Клеточная и субклеточная патология печени. – Рига: Зинатне, 1982 – С. 35-45.

6. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.

7. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Из-во Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТА "СИЛЛАРД П" И ЛИПОСОМ С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ СОЛЯНОКИСЛЫМ ГИДРАЗИНОМ

И.Н. Клищ, М.М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В эксперименте, на модели токсического поражения солянокислым гидразином, исследовано влияние сочетанного применения липосом, с включенными в них карнитина хлоридом, янтарной кислотой и цитохромом С, и энтеросорбента "Силлард П" на активность митохондриальных ферментов, участвующих в процессах энергообеспечения, и интенсивность поглощения кислорода в разных метаболических состояниях. Установлено, что введение липосом и силларда П способствовало нормализации активности энергообеспечивающих ферментов и возрастанию интенсивности поглощения кислорода. Наилучшие результаты получено у старых животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **токсическое поражение печени, солянокислый гидразин, митохондрии, коррекция, липосомы, "Силлард П", возрастные особенности.**

APPLICATION OF ENTEROSORBENT “SYLLARDUM P” AND LIPOSOMES WITH THE PURPOSE OF CORRECTION OF OXIDIZING PROCESSES IN MITOCHONDRIONS OF DIFFERENT-AGED RATS WITH TOXIC DEFEAT BY HYDRAZINE HYDROCHLORIDE

I.M. Klishch, M.M. Korda

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the experiment, on the model of a toxic defeat by hydrazine hydrochloride, the efficiency of combined application of liposomes, containing the carnitine chloridum, ethane dicarboxylic acid and cytochrome C, and enterosorbent “Sillardum P” on the activity of mitochondria enzymes participating in processes of energy providing and intensity of oxygenium uptake in different metabolic states, was explored. It was fixed, that the introducing of liposomes and Sillardum P promoted the normalization of activity of energy providing enzymes and ascending of intensity of oxygenium uptake. The best results were obtained at old animals.

KEY WORDS: **toxic defeat of liver, hydrazine hydrochloride, mitochondrion, correction, liposomes, Sillardum P, age features.**

Отримано 12.09.2002 р.

Адреса для листування: *І.М. Кліщ, кафедра фармакології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 616.12:577.156.1-085.22(019)

ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ БЛОКАДИ AT_1-РЕЦЕПТОРІВ ЛОЗАРТАНОМ НА ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ У СЕРЦІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЗВУЖЕННЯ ПРОСВІТУ ЗАДНЬОЇ ПОРОЖНИСТОЇ ВЕНИ

О.Л. Кухарчук, Т.М. Чіпко
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Показано, що при експериментальній серцевій недостатності (СН) (модель звуження задньої порожнистої вени) гістологічно у серці виявляються розширення і повнокрів'я тибезієвих вен. У міокарді спостерігаються незначне підвищення протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків та зниження інтенсивності колагенолізу. Тканинні фактори фібринолітичної системи не реагують на зменшення венозного повернення крові до серця. Лозартан викликає тотальне пригнічення тканинного протеолізу і фібринолізу в міокарді щурів із СН.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **лозартан, серце, протеоліз, фібриноліз.**

ВСТУП. У даний час блокатори AT_1-рецепторів широко використовуються в кардіологічній практиці для лікування СН, оскільки відомо, що у патогенезі хронічної серцевої недостатності важливу роль відіграє ренін-ангіотензинова система [5]. Водночас доведено, що у тканинах тільки 10-15 % ангіотензину II (AII) синтезується за безпосередньої участі ангіотензин-перетворювального ферменту (АПФ), а більша частина ангіотензину II утворюється під впливом інших ензимів: хімаз, тоніну, катепсину G [13], пептидилдепептидази ендотеліальних клітин, ниркової карбоксипептидази [11]. Тому велику увагу дослідників привертає рецепторний антагоніст ангіотензину II – лозартан, який з успіхом використовується в кардіо-логічній практиці. Вплив останнього на функціональний стан нирок при НС остаточно не з'ясовано [5]. Грунтуючись на теоретичних засадах, призначення хворим інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту (АПФ) повинно не тільки давати порівняно швидкий антигіпертензивний ефект, але й чинити органопротекторний вплив, що властивий цій групі препаратів при їх тривалому застосуванні та пов'язаний з усуненням патологічних ефектів надмірно збільшеного вмісту ангіотензину II на тканинному рівні. Саме цей унікальний механізм дії дав підстави для визнання інгібіторів АПФ "золотим стандартом" в лікуванні серцево-судинних захворювань [6, 7, 8]. Отже, комплексне дослідження впливу лозартану на протеоліз і фібриноліз дозволить розширити уявлення про механізми лікувальної дії блокаторів рецепторів ангіотензину II.

© О.Л. Кухарчук – д.м.н., проф., Т.М. Чіпко, 2002.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Моделювання СН проводили за Я.Ю. Багровим [1]. Несправжньооперованим тваринам контрольної групи спіраль на задню порожнисту вену не накладали. Наважки серця одразу після декапітації щурів заморожували в рідкому азоті, гомогенізували в 2,0 мл боратного буфера (pH-9,0) і надалі використовували в біохімічному аналізі. Протеолітичну активність міокарда визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу ("Simko Ltd", Україна) [2].

Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові і тканинах внутрішніх органів проводили за лізисом азофібрину ("Simko Ltd", Україна) [4].

Результати досліджень опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента за програмою "Bio-stat" [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Через 2 місяці після дозованого звуження просвіту задньої порожнистої вени (ЗЗПВ) гістологічно у серці виявлялися незначні зміни, серед яких, однак, звертали на себе увагу розширення і

повнокрів'я тибезієвих вен (рис. 1), що є ознакою інтракардіальних порушень мікроциркуляції.

У тканині серця (табл. 1) через 2 місяці після дозованого звуження задньої порожнистої вени інтенсивність розпаду низькомолекулярних білків зростала відносно контролю на 38,8 % і була на 26,7 % більшою за таку в несправжньооперованих тварин. Лізис високомолекулярних білків достовірно не змінювався, а колагенолітична активність зменшувалася на 48,1 та 45,9 %. Сумарна фібринолітична активність, неферментативний і ферментативний фібриноліз відповідали контролю.

Отже, у міокарді щурів із ЗЗПВ спостерігаються мінімальні зміни тканинного протеолізу, які характеризуються незначним підвищенням протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків та зменшенням інтенсивності колагенолізу. Тканинні фактори фібринолітичної системи не реагують на зменшення венозного повернення крові до серця.

У тканині серця щурів зі ЗЗПВ лозартан спричиняв (табл. 1) послаблення протеолітичного розпаду низькомолекулярних білків на 44,5 %, внаслідок чого інтенсивність лізису азоальбуміну зменшувалася відносно контролю на 23,0 %. Подібні зміни спостерігалися і з боку лізису високомолекулярних білків, відповідне зменшення якого становило 33,3 та 25,8 %. Колагенолітична активність міокарда достовірно не змінювалася і залишалася меншою за таку в тварин контрольної групи у 2,6 раза. Окрім того, лозартан викликав пригнічення тканинного фібринолізу: сумарна фібринолітична активність тканини серця знижувалася на 36,1 і 39,6 %, неферментативна фібринолітична активність – на 35,2 і 35,7 %, фер-

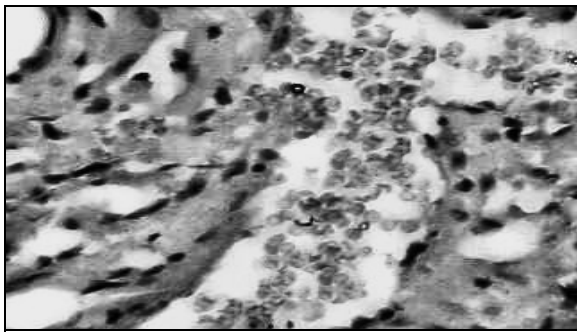


Рис. 1. Лівий шлуночок серця. Розширена і повнокровна тибезієва вена. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення у 800 разів.

Таблиця 1 – **Характеристика змін протео- і фібринолітичної активності тканини серця у щурів через 2 місяці після часткового лігування задньої порожнистої вени (x±Sx)**

Показники	Контроль, n=15	Несправжня операція, n=15	Лігування ЗПВ, n=11 *I група*	Лікування ЗПВ +лозартан, n=16 *II група*
Лізис низькомолекулярних білків, мкг азоальбуміну/1 г тканини за 1 год	15,72±0,69	17,22±0,48	21,82±1,01 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,001	12,11±0,66 p<0,01 p_1<0,001 p_2<0,001
Лізис високомолекулярних білків, мкг азоказеїну/1 г тканини за 1 год	16,78±0,55	18,47±0,62 p<0,05	18,66±1,52	12,45±0,31 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,01
Лізис колагену, мкг азоколу/1 г тканини за 1 год	9,85±0,47	9,44±0,34	5,11±0,59 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,001	3,83±0,60 p_1<0,001 p_2<0,001
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1 г тканини за 1 год	10,41±0,49	10,29±0,50	9,85±0,66	6,29±0,73 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,01
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1 г тканини за 1 год	5,13±0,25	5,51±0,29	5,09±0,41	3,30±0,38 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,01
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/ 1 г тканини за 1 год	5,28±0,26	4,78±0,23	4,76±0,28	2,99±0,36 p<0,001 p_1<0,001 p_2<0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниці показників відносно контролю; p_1 – ступінь достовірності різниці показників відносно таких у несправжньооперованих тварин; p_2 – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин I групи; n – кількість спостережень.

ментативна фібринолітична активність – на 37,2 і 43,4 % відповідно.

Таким чином, у серці щурів зі ЗЗПВ лозартан спричиняє тотальне пригнічення тканинного протеолізу і фібринолізу.

Нещодавно у клініко-біологічних дослідженнях було продемонстровано, що при використанні блокаторів рецепторів AII майже повністю блокується утворення пероксидних радикалів в артеріальній стінці [9]. Водночас повільна пресорна реакція з підвищенням середнього артеріального тиску на 30-40 мм рт. ст., що викликається безперервним введенням ангіотензину II, супроводжується підсиленням в організмі окисного стресу з накопиченням 8-ізопростагландину $F_2\alpha$, утворення якого пов'язане з окисненням арахідонової кислоти під впливом піридоксинітриту (утворення останнього пов'язане із взаємодією оксиду азоту і супероксиду) [12]. Дуже важливим, на наш погляд, є повідомлення останніх років про те, що у щурів dTGR з генами реніну і ангіотензину людини константовано підвищену активність NF-kB у взаємодії з ДНК у серці та нирках. Введення щурам піролідиндитіокарбамату як антиоксиданта пригнічувало активність даного фактора, послаблювало підвищену експресію c-fos м-РНК і знижувало підсилену імунореактивність субодиниці p65 в ендотеліоцитах і міоцитах дрібних кровоносних судин. Водночас значно знижувалася запальна моноцитарно-макрофагальна інфільтрація в серці й нирковій тканині через блокування пов'язаної з NF-kB трансактивації молекул адгезії ICAM-1 та індукованої NO-синтази [10].

Остання робота дає можливість пояснити взаємозв'язок встановлених нами змін протеолізу і фібринолізу в міокарді щурів із серцевою недостатністю, оскільки, згідно з результатами нашого дослідження, у тварин зі ЗЗПВ інтенсивність протеолізу і фібринолізу у серцевому м'язі зменшується.

ВИСНОВКИ. 1. Після звуження просвіту задньої порожнистої вени гістологічно у серці визначаються розширення і повнокрів'я тибезієвих вен, у нирках – дистрофія канальцевого епітелію з наявністю у дистальних відділах нефрону великої кількості гіалінових циліндрів.

2. У міокарді щурів із ЗЗПВ спостерігаються мінімальні зміни тканинного протеолізу, які характеризуються незначним підвищенням протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків та зменшенням інтенсивності колагенолізу. Тканинні фактори фібринолітичної системи не реагують на зменшення венозного повернення крові до серця.

3. У серці щурів із ЗЗПВ лозартан викликає тотальне пригнічення тканинного протеолізу і фібринолізу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Багров Я.Ю., Балонов М.И., Васильева В.Ф. и др. Недостаточность кровообращения и отеки при сужении грудного отдела нижней полой вены в эксперименте // Кардиол. – 1978. – № 10. – С. 127-132.

2. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы. Новые области применения в клинике // Врач. дело. – 1994. – № 1. – С. 8-13.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегра-тивних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 37 с.

5. Мареев В.Ю., Скворцов А.А., Челмакина С.М. и др. Способны ли ингибитори ангиотензинпревращающего фермента эффективно контролировать активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системи при длительном лечении хронической сердечной недостаточности? // Кардиол. – 1999. – № 2. – С. 27-34.

6. Сиренко Ю.Н., Радченко А.Д. Лозартан – первый представитель антагонистов ангиотензиновых рецепторов. Часть 1: Клиническая фармакология, оценка эффективности в эксперименте // Укр. кардіол. журн. – 1997. – № 4. – С. 58-63.

7. Сиренко Ю.Н., Радченко А.Д. Лозартан – первый представитель антагонистов ангиотензиновых рецепторов. Часть 2: Клиническая эффективность при артериальной гипертензии и сердечной недостаточности // Укр. кардіол. журн. – 1997. – № 5-6. – С. 99-105.

8. Шабалин А.В., Никитин Ю.П. Защита кардиомиоцита. Современное состояние и перспективы // Кардиол. – 1999. – **39**, № 3. – С. 4-10.

9. Dominiczak K.F., Berry C.,Brosnan M.J. et al.

Angiotensin II and superoxide formation in human arteries // International Forum on Angiotensin II Receptor Antagonism: Abstract. – Monte-Carlo, 2001. – P. 48-50.

10. Muller D.N., Dechend R., Mervaala Eero M.A. et al. NF-κB inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats // Hypertens. – 2000. – **35**, № 1. – P. 193-201.

11. Muller J. Regulation of aldosterone biosynthesis: physiological and clinical aspects. – New York: Springer-Verlag, 1998. – 658 p.

12. Romero J. C., Reckelhoff J.F. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension // Hypertens. – 1999. – **34**, № 4. – P. 943-949.

13. Urata H.,Healy B.H., Stewart R. et al. Angiotensin II forming pathways in normal and failing human hearts // Circ. Res. – 1990. – **66**. – P. 883-890.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ БЛОКАДЫ AT_1-РЕЦЕПТОРОВ ЛОЗАРТАНОМ НА ПРОТЕОЛИЗ И ФИБРИНОЛИЗ В СЕРДЦЕ КРЫС ПОСЛЕ СУЖЕНИЯ ПРОСВЕТА ЗАДНЕЙ ПОЛОЙ ВЕНЫ

О.Л. Кухарчук, Т.М. Чипко
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Показано, что при экспериментальной сердечной недостаточности (СН) (модель сужения задней полой вены) гистологично в сердце обнаруживаются расширение и полнокровие тибезиевых вен. В миокарде наблюдаются незначительное повышение протеолитической деструкции низкомолекулярных белков и снижение интенсивности коллагенолиза. Тканевые факторы фибринолитической системы не реагируют на уменьшение венозного возврата крови к сердцу. Лозартан вызывает тотальное угнетение тканевого протеолиза и фибринолиза в миокарде крыс с СН.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **лозартан, сердце, протеолиз, фибринолиз.**

CHARACTERISTIC OF LOZARTAN-INDUCED AT1-RECEPTORS BLOCKADE ON PROTEOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN RAT HEART AFTER THE NARROWING OF BACK CAVITY VEIN

O.L. Kukharchuk, T.M. Chipko
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The expansion and plethora of Tibesiev's veins were histologically established in heart in case of experimental heart failure (the model of back cavity vein narrowing). Insignificant increase of proteolytic destruction of low molecular weight proteins and decrease of collagenolysis intensity in myocardium were defined. Tissue factors of fibrinolytic system don't react on the decrease of venous blood return to the heart. Lozartan causes the total depress of tissue proteolysis and fibrinolysis in myocardium of rats with heart failure.

KEY WORDS: **lozartan, heart, proteolysis, fibrinolysis.**

Отримано 17.10.2002 р.

Адреса для листування: *Т.М. Чіпко, вул. Джамбула, 10, кв. 1, Чернівці, 58000, Україна.*

УДК 616.127-008-06:616.441-008.61]-092.9

СИНТЕЗ ТА ГІДРОЛІЗ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ З ТИРОКСИНОВИМ ТОКСИКОЗОМ

Л.М. Сас

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Зменшення вмісту ацетилхоліну в міокарді білих щурів-самців з експериментальним гіпертиреозом відбувається за умов незначного пригнічення активності синтезувального ферменту холінацетилтрансферази. Це зниження активності не можна вважати вирішальним лімітувальним фактором, здатним істотно обмежити синтез ацетилхоліну в тиреотоксичному серці й послабити ефективність вагусної регуляції. Низька холінестеразна активність тканини передсердь і шлуночків за умов гіпертиреозу розвивається як компенсаторна реакція, спрямована на збереження запасу ацетилхоліну в пресинаптичних везикулах, економну витрату його і підтримання належної концентрації медіатора в холінергічних синапсах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **гіпертиреоз, серце, ацетилхолін.**

ВСТУП. Аналіз наукових джерел [6, 7], а також результати власних досліджень [2], свідчать про те, що при гіпертиреозі послаблюється холінергічний компонент вегетативної регуляції серця. Прямим показником обмеження вагусних впливів є зменшення вмісту ацетилхоліну в передсердях і шлуночках серця. Це зменшення можна розглядати як одну з головних причин "знецінення" вагусної імпульсації при гіпертиреозі. Метою даної роботи було з'ясувати, яку роль у порушенні вмісту медіатора в тиреотоксичному серці відіграють зміни активності синтезувального і розщеплювального ферментів – холінацетилтрансферази і холінестерази.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 78 білих щурах-самцях масою близько 200 г. Гіпертиреоз викликали шляхом щодобового перорального введення l-тироксину ("Фармак", Україна) у кількості 500 мг/кг протягом двох тижнів. Активність холінацетилтрансферази визначали біологічним методом за S. Tuček [9] і виражали в мікромолях ацетилхоліну, синтезованого протягом 1 год в перерахунку на 1 г ацетонового порошку передсердь або шлуночків. Необхідний для визначення фермент ацетокіназу добували з печінки голубів за G.D. Novelli [8]. Загальну холінестеразну активність тканини міокарда визначали фотоелектроколориметричним методом [1]. Результати досліджень було піддано статистичній обробці з визначенням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані про активність холінацетилтрансферази у контрольних і гіпертиреоїдних щурів наведено в таблиці 1. У передсердях контрольних щурів активність ацетилхолінсинтезувального ферменту коливалася в дуже широкому діапазоні – від 1,24 до 7,01 мкмоль синтезованого ацетилхоліну. Така ж неоднорідність даних спостерігалася при дослідженні холінацетилтрансферази в шлуночках серця (0,41-4,95 мкмоль). Співвідношення між активністю ферменту в передсердях і шлуночках серця складало в середньому 1,8. Отримані нами величини активності холінацетилтрансферази в міокарді контрольних щурів близькі до даних S. Tuček a. Z. Koudelkova [10] і J. Ekstrxm [5], але нижчі від тих, які спостерігалися в дослідах G.E. Bilder, M.E. Hess [4].

Зміни активності холінацетилтрансферази в передсердях і шлуночках серця гіпертиреоїдних тварин не були цілком тотожними. На 5-ту добу гіпертиреоїдизації активність ферменту у передсердях зросла на 26,5 %, порівняно з контролем. На 10-ту добу відбулося

© Л.М. Сас, 2002.

зниження активності: порівняно з контролем – на 4,9 %, порівняно з попереднім (5-добовим) етапом дослідження – на 24,8 %. До 14-ї доби гіпертиреоїдизації активність ферменту продовжувала знижуватися. Порівняно з контролем, вона зменшилася на 14,9 %, порівняно з попереднім етапом – на 10,5 %. Через великий розкид даних ці зміни виявилися статистично недостовірними. У шлуночках серця активність холінацетилтрансферази знижувалася поступово: після 5-добової гіпертиреоїдизації – на 38,9 %; після 10-добової гіпертиреоїдизації – на 45,1 %, порівняно з контролем, і на 10,3 %, порівняно з попереднім етапом; через 14 діб – на 47,4 %, порівняно з контролем, і на 4,2 %, порівняно з попереднім етапом.

Порівнюючи характер змін холінацетилтрансферази в динаміці розвитку гіпертиреозу, можна помітити, що в передсердях і шлуночках ці зміни дещо відрізнялися між собою. Активність холінацетилтрансферази в передсердях спочатку підвищувалася (на 5-ту добу) і лише після цього знижувалася до кінця дослідження. У шлуночках активність ферменту знижувалася поступово, без підвищення, на 5-ту добу. В результаті цього змінилося співвідношення між середньою активністю холінацетилтрансферази в передсердях і шлуночках. На 5-ту добу коефіцієнт передсердя/шлуночки зріс до 3,7 за рахунок протилежних змін активності ферменту в обидвох відділах серця. Підвищення активності ферменту в міокарді передсердь на 5-ту добу можна розглядати як механізм, що покликаний забезпечити градієнт концентрацій ацетилхоліну між передсердями і шлуночками і утримати серце під вагусним контролем.

Фактором, який значною мірою визначає інтенсивність вагусних впливів на серце, є холінестеразна активність міокарда. Від неї залежить робоча концентрація ацетилхоліну в ділянках синапсів між закінченнями блукаючого нерва і кардіоміоцитами провідної системи. Регулюючи кількість медіатора, який досягає постсинаптичної мембрани, холінестераза таким способом впливає на ефективність вагусної імпульсації.

Результати проведених нами дослідів (табл. 2) показали, що холінестеразна актив-

Таблиця 1 – **Активність холінацетилтрансферази в міокарді передсердь і шлуночків при тироксиновому токсикозі (M±m)**

Серії дослідів	Активність холінацетилтрансферази, мкмоль ацетилхоліну на 1 г тканини за 1 год	
	Передсердя	Шлуночки
Контроль	3,09±0,67 (8)	1,75±0,62 (8)
Тироксиновий токсикоз: 5 діб	3,91±0,41 (10) p_1>0,25	1,07±0,39 (10) p_1>0,25
10 діб	2,94±0,45 (8) p_1>0,5 p_2>0,1	0,96±0,23 (9) p_1>0,1 p_2>0,5
14 діб	2,63±0,31 (10) p_1>0,5 p_2>0,5	0,92±0,24 (10) p_1>0,1 p_2>0,5

Примітка. p_1 – зміни достовірні порівняно з контролем;
p_2 –достовірність різниці порівняно з попереднім етапом дослідження; в дужках – кількість дослідів.

Примітка. p_1 – зміни достовірні, порівняно з контролем; p_2 – достовірність різниці порівняно з попереднім етапом дослідження; в дужках – кількість дослідів.

ність різних відділів серця не однакова. У контрольних тварин 1 г тканини передсердь розщеплював ацетилхолін з швидкістю 121,0-156,7 мкмоль за 1 год. Розщеплювальна здатність міокарда шлуночків виявилася в 1,5 раза нижчою (68,8-118,3 мкмоль ацетилхоліну на 1 г тканини за 1 год). Нерівномірність розподілу холінестерази свідчить, перш за все, про різну густину парасимпатичних терміналей в передсердях і шлуночках, а отже, і різну інтенсивність холінергічних процесів у цих відділах серця.

У динаміці розвитку тироксинового токсикозу спостерігалося поступове зниження холінестеразної активності передсердь і шлуночків. У передсердях активність холінестерази на 5-ту добу гіпертиреоїдизації знизилася незначно (на 6,3 %), зате на 10-ту добу відбулося значне (на 35,7 %, порівняно з контролем), а на 14-ту добу – ще помітніше (на 44,6 %) зниження гідролізуючої здатності передсердь. Зміни активності холінестерази сталися переважно між 5-ю і 10-ю добами від початку гіпертиреоїдизації. Холінестеразна активність передсердь також знизилася у тварин з гіпертиреозом, причому найістотніше зниження сталося знову ж таки між 5-ю і 10-ю добами гіпертиреоїдизації (на 38,3 %, порівняно з контролем). Ступінь зниження в обох відділах серця був приблизно однаковим, тому співвідношення між активністю тканин передсердь і шлуночків практично не змінилося.

Таким чином, зменшення вмісту ацетилхоліну в міокарді гіпертиреоїдних щурів супроводжується незначним (статистично недостовірним) зниженням активності синтезувального ферменту холінацетилтрансферази і достовірним зниженням інтенсивності гідролізу медіатора. Зниження активності холінацетилтрансферази, безумовно, має деяке значення у зменшенні запасів ацетилхоліну в тиреотоксичному серці, але, мабуть, не настільки істотне, щоб лише цим механізмом пояснити зменшення ефективності вагусної імпульсації. Зниження активності холінацетилтрансферази на 14,89 % ми не схильні розглядати як лімітувальний фактор синтезу ацетилхоліну, особливо з урахуванням даних літератури [3], що в серці гіпертиреоїдних щурів відсутній дефіцит субстратів синтезу – холіну і піровиноградної кислоти як головних донаторів ацетильних груп. Зниження холінестеразної активності в передсердях і шлуночках має компенсаторний характер. В умовах послаблення синтезу медіатора низька активність холінестерази сприяє збереженню запасу ацетилхоліну в пресинаптичних везикулах і економному витрачанню викинутого у синаптичну щілину медіатора.

ВИСНОВКИ. 1. Зміни активності холінацетилтрансферази в передсердях і шлуночках серця щурів з гіпертиреозом не можна вважати фактором обмеження синтезу ацетилхоліну в тиретоксичному серці.

2. Зниження активності холінестерази в міокарді при гіпертиреозі має пристосовний характер і спрямоване на підтримання робочої концентрації ацетилхоліну в холінергічних синапсах серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пушкина Н.Н., Климкина Н.В. Биохимические методы исследования. – М.: Наука, 1963. – 223 с.

2. Сас Л.М. Взаємовідносини між холінергічною і адренергічною регуляцією серця при гіпертиреозі // Історія та сучасні досягнення фізіології в Україні: Матеріали наукової конференції фізіологів України, присвяченої 160-річчю Національного медичного університету. – К., 2001. – С. 115-116.

3. Файфура В.В. Обеспеченность синтеза ацетилхолина исходными веществами в тиреотоксическом сердце // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1987. – № 1. – С. 35-37.

4. Bilder G.E., Hess M.E. Studies of the negative chronotropic response to vagal stimulation in hyperthyroid rats // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 1973. – **185**, № 3. – P. 468-478.

5. Ekstrxm J. Distribution of choline acetyltransferase in the hearts of mammals // Acta Physiol. Scand. – 1970. – **80**, № 1. – P. 73-78.

6. Emdin M., Pratali L., Iervasi G. Abolished vagal tone associated with thyrotoxicosis triggers prinzmetal variant angina and paroxysmal atrial fibrillation // Ann. Intern. Med. – 2000. – **132**, № 8. – P. 679.

7. Maciel B.C., Gallo J.J., Marin-Neto J.A. et. al. Depressed respiratory sinus arrhythmia: additional evidence for impairment of vagal activity in human hyperthyroidism // Braz. J. Med. – 1990. – **23**, № 2. – P. 195-197.

8. Novelli G.D. Methods for determination of coenzyme A // Methods of Biochemical Analysis. –

New York-London, 1958. – **2**. – P. 189-213.

9. Tuček S. The distribution of choline acetylase in the cardiac auricles of rats, rabbits, cats and guinea-pigs // Physiol. Bohemosl. – 1964. – **13**, fasc. 1. – P. 39-47.

10. Tuček S., Koudelkova Z. Choline acetyltransferase and acetylcholine in brain, heart atria, intenstine, uterus and diaphragm of rats and guinea pigs // Arch. Int. Physiol. Biochim. – 1966. – **74**. – P. 123-134.

СИНТЕЗ И ГИДРОЛИЗ АЦЕТИЛХОЛИНА В МИОКАРДЕ КРЫС С ТИРОКСИНОВЫМ ТОКСИКОЗОМ

Л.М. Сас

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Уменьшение содержания ацетилхолина в миокарде белых крыс-самцов с экспериментальным гипертиреозом происходит в условиях незначительного угнетения активности синтезирующего фермента холинацетилтрансферазы. Это снижение активности нельзя считать решающим лимитирующим фактором, способным существенно ограничить синтез ацетилхолина в тиреотоксическом сердце и ослабить эффективность вагусной регуляции. Низкая холинэстеразная активность ткани предсердий и желудочков в условиях гипертиреоза развивается как компенсаторная реакция, направленная на сохранение запасов ацетилхолина в пресинаптических везикулах, экономную трату его и поддержание надлежащей концентрации медиатора в холинергических синапсах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **гипертиреоз, сердце, ацетилхолин.**

SYNTHESIS AND HYDROLYSIS OF ACETYLCHOLINE IN RATS MYOCARDIUM WITH THYROXIN TOXICOSIS

L.M. Sas

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The decrease of the acetylcholine content in the myocardium of the white rats-males with experimental thyrotoxicosis is associated with insignificant inhibition of choline acetyltransferase activity. Such inhibition of activity can not be the main reason and limiting factor, which can inhibit the synthesis of acetylcholine in thyrotoxicosis heart and decrease the efficacy of vagus regulation. Low cholinesterase activity of the atrial and ventricle tissues under the conditions of hyperthyroidism is compensatory reaction, directed on saving of acetylcholine in presynaptic vesicles, its economic use and maintaining the certain concentration of mediator in cholinergic synapsis.

KEY WORDS: **hyperthyroidism, heart, acetylcholine.**

Отримано 13.05.2002 р.

Адреса для листування: *Л.М. Сас, кафедра патологічної фізіології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 638.1:57.017.32

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО АДАПТИВНОГО ЗАСОБУ "ПОЛЛЕНТАР" НА ВИТРИВАЛІСТЬ ЩУРІВ

О.Я. Міщенко, Л.В. Яковлєва, М.В. Лелека
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Проведено вивчення впливу нового адаптивного засобу "Поллентар" на основі продуктів бджільництва, порівняно з біологічно-активною добавкою янтавітом, на швидкісну витривалість щурів в тесті бігу на третбані. Встановлено, що капсули "Поллентар" чинять більш виразну актопротекторну дію. Показано, що введення капсул "Поллентар" та янтавіту на тлі фізичних тренувань сприяє адаптивній перебудові метаболічних процесів за рахунок посилення аеробної ланки гліколізу, інтенсивності ліполізу та антиоксидної дії, що в кінцевому результаті призводить до підвищення ефективності тренувань та виразної актопротекторної дії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **адаптивні засоби, продукти бджільництва, актопротекторна дія.**

ВСТУП. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, 80 % усіх захворювань зумовлені екологічним станом навколишнього середовища. Існує два можливих шляхи вирішення цієї проблеми: по-перше – охорона навколишнього середовища, що потребує значних техніко-економічних витрат, по-друге – підвищення стійкості організму людини до екстремальних ситуацій та стабілізація вже порушеного гомеостазу за допомогою лікарських засобів. Упродовж останнього десятиріччя широко вивчаються можливості використання з цією метою продуктів бджільництва, багатий склад діючих речовин яких забезпечує комплексну адаптивну дію, а природне походження – спорідненість з організмом людини та безпечність при тривалому використанні [3, 7, 10]. Результатом оптимізуючого неспецифічного впливу адаптивних засобів на функціональний стан організму в ускладнених умовах є підвищення зниженої працездатності [5, 9].

Метою нашого дослідження стало вивчення впливу нового комплексного препарату "Поллентар", розробленого на кафедрі аптечної технології ліків в НФАУ на основі продуктів бджільництва та субстрата-енергізатора, на швидкісну витривалість та біохімічні показники організму щурів при фізичному навантаженні бігом на третбані з метою вибору оптимальної дози.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У досліді використовували білих щурів-самців масою 200-220 г. Капсули "Поллентар" вводили перорально 1 раз на день протягом 15 діб трьом групам тварин у дозах 12,5 мг/кг, 25 мг/кг та 50 мг/кг відповідно. Дози було вибрано емпірично. Препаратом порівняння була біологічно-активна добавка (БАД) янтавіт (270 мг/кг), що випускається в Російській Федерації, містить бурштинову кислоту та чинить актопротекторну дію. Вказану дозу перераховано з дози для людини на дозу для щурів з використанням коефіцієнта стійкості за методом Ю.Р. Риболовлєва [12]. Тварини контрольної групи одержували еквівалентний об'єм дистильованої води. На тлі введення препаратів тварин тренували бігом на третбані протягом 10 хв при куті нахилу доріжки 10° і швидкості руху стрічки 25-28 м/хв для створення стабільного фону працездатності і адаптації до тривалих навантажень. На 15-й день щурам давали навантаження бігом при швидкості руху стрічки 42 м/хв і визначали тривалість бігу до повного втомлення. Критерієм повного втомлення була неспроможність тварин до подальшого бігу та втрата здатності реагувати на стимуляцію електричними розрядами на стартовій лінії бігової доріжки [2]. Визначення часу виконання вправи проводили з точністю до 1 с.

З метою аналізу впливу об'єктів, що вивчалися, на метаболіти енергетичного обміну визначали такі біохімічні показники у крові тварин: рівень глюкози експрес-методом на аналізаторі "Эксан-Г", пірувату в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [4], лактату в реакції з параоксидифенілом [6]. Для визначення

© О.Я. Міщенко – к.фарм.н., Л.В. Яковлєва – д.фарм.н., М.В. Лелека, 2002.

вмісту загального білка, ліпідів та активності лактатдегідрогенази використовували набори фірми "Лахема". Вміст малонового диальдегіду (МДА) визначали тіобарбітуровим методом [1], відновленого глютатіону (ВГ) – за методом [1]. Рівень глікогену в печінці та м'язах досліджували за методом М.І. Прохорової, З.Н. Тупикової [8]. Одержані дані аналізували методом варіаційної статистики, використовуючи критерій Стьюдента [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз біохімічних показників сироватки крові, печінки та м'язів тварин контрольної групи (біг) свідчить про те, що навантаження бігом призводило до активації гліколізу, на що вказує достовірне підвищення рівня основних метаболітів цього процесу – піровату та лактату (П та Л) – в 1,4 та 5,6 раза, відносно до групи інтактного контролю (табл. 1). Збільшення в 3,8 раза співвідношення Л/П у сироватці крові тварин контрольної групи вказує на посилення анаеробного шляху гліколізу в зв'язку з недостачею кисню внаслідок інтенсивного фізичного навантаження та на неспроможність своєчасної утилізації лактату незважаючи на активацію лактатдегідрогенази (табл. 1). У процесі бігу відбувається виснаження енергетичних резервів організму щурів групи контролю, про що свідчить достовірне зниження рівня глікогену в м'язах в 1,6 раза, порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Вміст глікогену в печінці, глюкози та загального білка в крові тренованих щурів зберігався на рівні інтактних тварин. Це свідчить про розвиток адаптаційних метаболічних механізмів в процесі тренувань, які є ще недостатньо ефективними. Так, мобілізація з адипоцитів ліпідів як можливого джерела енергії призводить лише до достовірного підвищення рівня загальних ліпідів у крові тварин групи контролю, бо, можливо, в силу недосконалості адаптаційних механізмів вони не можуть бути ефективно використані. Гіперліпідемія на тлі гіпоксичного стану та ацидозу, спричиненого гіперлактемією, сприяє посиленню ще одного лімітуючого фактора працездатності – перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Вміст кінцевого продукту ПОЛ – малонового диальдегіду – в групі контрольних тварин достовірно підвищився в 1,3 раза, чому сприяло зниження активності антиоксидної системи (рівень ВГ достовірно зменшився в 1,8 раза).

Результати одержаних даних (рис. 1) свідчать про те, що під впливом капсул "Поллентар" відбувається достовірне підвищення швидкісної витривалості тварин на 90-110 % відносно контрольної групи, тоді як препарат порівняння янтавіт сприяв приросту витривалості лише на 38 %. Найвищу актопротекторну активність препарат проявив у дозі 25 мг/кг. Дозозалежний ефект капсул "Поллентар" спостерігався в інтервалі доз 12,5-25,0 мг/кг, подальше збільшення дози не призвело до зростання актопротекторного ефекту.

У таблиці 1 наведені біохімічні показники, які свідчать про інтенсивність та провідні джерела енергозабезпечуючих процесів під час фізичного навантаження. На тлі введення капсул "Поллентар" у всіх дозах та препарату

Таблиця 1 – **Вплив препаратів "Поллентар" і "Янтавіт" на біохімічні показники щурів у тесті бігу на третбані**

Показник	Інтактний контроль	Контроль (біг)	Капсули "Поллентар"			Янтавіт, 270 мг/кг
			12,5 мг/кг	25 мг/кг	50 мг/кг	
Показники сироватки						
Піруват, ммоль/л	0,53±0,03	0,77±0,03*	0,77±0,007*	0,68±0,05*	0,88±0,12*	0,81±0,07*
Лактат, ммоль/л	1,42±0,63	7,94±1,28*	5,94±1,49*	2,10±0,43**	4,90±1,19*	4,40±0,56*/**
Л/П	2,67	10,3	7,7	3,08	5,57	5,43
Глюкоза, ммоль/л	4,84±1,52	5,42±0,37	6,43±0,69	5,65±0,33	6,42±0,52	5,42±0,71
Лактатдегідрогеназа, мккат/л	5,53±0,01	6,32±0,03*	6,53±0,11*	6,68±0,11*/**	5,81±0,04*/**	5,66±0,02*/**
Загальний білок, мг/г	61,2±3,8	66,2±1,8	68,5±5,6	60,8±3,2	65,3±3,6	57,2±4,9
Загальні ліпіди, г/л	2,40±0,16	4,63±0,18*	3,04±0,49**	2,04±0,26**	1,99±0,28**	1,63±0,64**
Показники гомогенату печінки						
МДА, ммоль/г	95,5±8,6	127,47±7,60*	130,00±6,94*	104,2±8,6**	105,30±8,72**	96,8±8,0**
ВГ, ммоль/г	7,34±0,47	4,10±0,68*	5,31±1,07	6,50±0,99**	9,36±1,21**	4,77±1,10
Глікоген, мг/г	54,2±3,2	57,68±10,90	55,10±11,40	114,7±34,7*/**	115,8±22,8*/**	58,6±8,7
Показники гомогенату м'язів						
Глікоген, мг/г	23,5±1,3	15,15±1,90*	18,6±1,6*/**	22,9±2,5**	22,10±2,08**	22,12±2,08**

Примітка. * – зміни достовірні відносно інтактного контролю ($p \le 0,05$);
** – зміни достовірні відносно контролю (біг) ($p \le 0,05$).

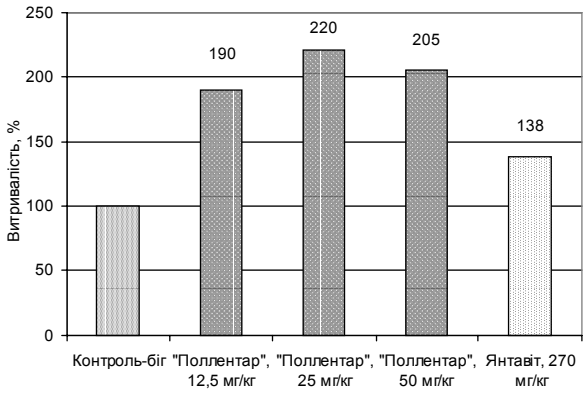


Рис. 1. Вплив досліджуваних препаратів на швидкісну витривалість тварин.

порівняння янтавіту, як і в групі контролю, спостерігалось достовірне відносно інтактних тварин підвищення рівня піруват, що свідчить про адаптивне посилення гліколізу. Під дією препаратів гліколітичний процес набував аеробного характеру. Так, при введенні капсул "Поллентар" у дозах 12,5 мг/кг та 50 мг/кг рівень лактату мав тенденцію до зниження відносно контрольної групи (біг), а у випадку дози 25 мг/кг був достовірно меншим і досягав значень інтактного контролю. Янтавіт сприяв достовірному зниженню вмісту лактату, порівняно з групою контролю, але цей рівень був достовірно вищим, ніж у групі інтактних тварин. Вказані біохімічні зміни призвели до зниження співвідношення Л/П майже до інтактного рівня під дією капсул "Поллентар" у дозі 25 мг/кг, що свідчить про активацію гліколітичних процесів за рахунок посилення аеробної ланки та про своєчасну утилізацію лактату. Таким чином, введення капсул "Поллентар" щурам під час тренувань сприяє метаболічній перебудові більшою мірою, ніж під впливом янтавіту. Саме інтенсифікація енергозабезпечуючих процесів під дією капсул "Поллентар" у дозах 25 мг/кг та 50 мг/кг і сприяла більш значному, порівняно з янтавітом, збереженню фонду глікогену в печінці. М'язовий резерв глікогену в усіх дослідних групах тварин, незважаючи на значно більшу викону роботу, порівняно з контрольною групою щурів, був достовірно вищим і, за винятком групи тварин з дозою "Поллентару" 12,5 мг/кг, досягав величини інтактного контролю. Рівень глікемії та загального білка в сироватці крові тварин, яким вводили препарати, відповідав фізіологічній нормі.

Достовірне зниження вмісту загальних ліпідів у сироватці крові дослідних тварин відносно контрольної групи (біг) вказує ще на одне ефективно використане джерело енергії для м'язової діяльності – активний ліполіз під дією препаратів – та підтверджує аеробний характер метаболізму. Відомо, що в міру розвитку тренованості змінюється питома частка вуглеводів та жирів в енергозабезпеченні м'язової діяльності: зростає окиснення вільних жирних кислот та зменшується відносне окиснення вуглеводів. Отже, вказана перебудова енергетичних процесів під дією препарату відображає стратегію адаптації і спрямована на економію вуглеводів, необхідних для більш відповідальних етапів діяльності, в тому числі й для забезпечення антиоксидного захисту організму від посиленого процесу ПОЛ у клітинах, що активується в результаті сильних фізичних навантажень й сприяє дезінтеграції функцій мембран і зниженню енергозабезпечення. У цих умовах антиоксидна система, показником активності якої є відновлений глутатіон (ВГ), відіграє важливу роль у захисті організму від ПОЛ.

Капсули "Поллентар" у дозах 25 мг/кг та 50 мг/кг спричиняли гальмівний вплив на інтенсивність ПОЛ, знижуючи рівень МДА, та посилювали антиоксидний захист, підвищуючи рівень ВГ, тобто блокували ще один лімітувальний фактор працездатності – посилення ліпопероксидації. Янтавіт меншою мірою, ніж капсули "Поллентар" в дозах 25 мг/кг та 50 мг/кг, підвищує рівень ВГ в умовах однакового зниження вмісту кінцевого продукту ПОЛ – МДА.

Отже, введення капсул "Поллентар" та янтавіту на тлі фізичних тренувань сприяє адаптивній перебудові метаболічних процесів за рахунок посилення аеробної ланки гліколізу, інтенсивності ліполізу та антиоксидної дії, що в кінцевому результаті призводить до підвищення ефективності тренувань та виразного актопротекторного ефекту при фізичних навантаженнях.

Представлені результати досліджень показали, що за величиною актопротекторної активності капсули "Поллентар" перевершують препарат порівняння янтавіт, а їх адаптивний вплив на провідні ланки енергозабезпечуючих процесів є більш багатогранним та виразнішим, що свідчить про доцільність та актуальність їх подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ. 1. Капсули "Поллентар" виявляють значну актопротекторну активність в інтервалі доз 12,5-50,0 мг/кг, що перевершує таку БАД янтавіту.

2. Актопротекторна дія капсул "Поллентар" зумовлена посиленням аеробної ланки гліколізу, інтенсивності ліполізу та антиоксидною активністю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методические рекомендации. – С.Пб.: ИКФ "Фолиант", 2000. – 104 с.

2. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф. и др. Фармакологическая кор-рекция утомления. – М.: Медицина, 1984. – 42 с.

3. Волошин О.І., Пішак О.В., Сенюк Б.П. та ін. Пилок квітковий (бджолина обніжка): клініко-експериментальні аспекти застосування у медицині // Ліки. – 1998. – № 3. – С. 31-38.

4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной ди-агностике. – Минск: Беларусь, 2000. – 2. – С.103-104.

5. Каплан Е.Я., Цыренжакова О.Д., Шантанова Л.Н. Оптимизация адаптивных процессов организма. – М.: Наука, 1990. – 94 с.

6. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследований в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина. – 1987. – С. 240.

7. Печенюк І.В. Механізм дії спиртового екстракту бджолиного пилку на обмін речовин в нормі та при експериментальній патології: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1993.- 21 с.

8. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липид-ному обмену. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1995. – С. 53-65.

9. Сейфулла Р.Д. Фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих ра-ботоспособность человека // Эксперим. и клин. фармакол. – 1998. – **61**, № 1. – С. 3-12.

10. Сенюк Б.П. Застосування квитку пилкового при виразковій хворобі (клініко-експериментальне обгрунтування): Дис. ... канд. мед. наук. – Чернівці, 1996. – 208 с.

11.Стентон Г. Медико-биологическая статистика. – 1999. – М.: Практика. – 459 с.

12. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Докл. АН СССР. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513-1516.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО АДАПТИВНОГО СРЕДСТВА “ПОЛЛЕНТАР” НА ВЫНОСЛИВОСТЬ КРЫС

О.Я. Мищенко, Л.В. Яковлева, М.В. Лэлэка

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено изучение влияния нового адаптивного средства на основе продуктов пчеловодства, в сравнении с биологически активной добавкой янтавитом, на скоростную выносливость крыс в тесте бега на третбане. Установлено, что капсулы "Поллентар" оказывают более выраженное актопротекторное действие. Показано, что введение капсул "Поллентар" и янтавита на фоне физических тренировок способствует адаптивной перестройке метаболических процессов за счет усиления аэробного звена гликолиза, интенсивности липолиза и антиоксидного действия, что в конечном результате приводит к повышению эффективности тренировок и выразительному актопротекторному действию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **адаптивные средства, продукты пчеловодства, актопротекторное действие.**

EXPERIMENTAL LEARNING OF INFLUENCE OF A NEW ADAPTIVE PREPARATION “POLLENTAR” ON THE RATS’ ENDURANCE

O.Ya. Mishchenko, L.V. Yakovleva, M.V. Leleka

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Influence of a new adaptive preparation basing on beekeeping products compared with biologically active addition yantavit, on velocity endurance of the rats in the test of run on trackbun was learnt. "Pollentar" capsules were established to render more expressed actoprotective action. It was shown, that the administration of "Pollentar" and yantavit on a background of physical trainings promotes adaptive modification of metabolic processes at the expense of amplification of aerobic link of glycolysis, intensity of lipolysis and antioxydative action, which finally results in rise of efficiency of trainings and marked actoprotective effect.

KEY WORDS: **adaptive preparations, beekeeping products, actoprotective action.**

Отримано 19.09.2002 р.

Адреса для листування: *Л.В. Яковлєва, ЦНДЛ, Національний фармацевтичний університет України, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.*

УДК 612.13:616.13-001.28:612.014.48

КОРЕКЦІЯ α-ТОКОФЕРОЛОМ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ДІЄЮ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ У ГРУДНІЙ АОРТІ КРОЛІВ

С.М. Тишкін
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Досліджували вплив α-токоферолу при його пероральному введенні (50 мг/кг) через 1 год після опромінення на розвиток індукованих іонізуючою радіацією (^{60}Co, доза – 6 Гр) змін скорочувальної активності грудної аорти кролів. Встановлено, що опромінення призводить до пригнічення NO-залежної компоненти інтегрального ендотелійзалежного розслаблення, тоді як компонента, що пов'язана з ендотелійзалежним гіперполяризувальним фактором, при дії радіації не змінюється. Показано, що α-токоферол перешкоджає пригніченню NO-залежної компоненти розслаблення і величина ефекту на ацетилхолін у судинах кролів, які одержували α-токоферол, на 9-ту добу після опромінення не відрізняється від контрольних значень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **α-токоферол, іонізуюча радіація, оксид азоту.**

ВСТУП. Останнім часом у літературі з'явились дані щодо порушення функціонального стану судинного ендотелію при дії іонізуючої радіації [2, 4]. Встановлено, що в результаті променевого впливу зменшується ендотелійзалежне розслаблення [3], проте дані електронної мікроскопії вказують на те, що морфологічно ендотелій після опромінення в багатьох випадках залишається інтактним [5, 10]. Багато авторів пов'язують пригнічення ендотелійзалежного розслаблення зі зменшенням ефективності дії ендогенного оксиду азоту (NO), що секретується при стимуляції ендотелію [6, 9]. У цьому процесі можуть брати участь різні чинники, а саме: вільнорадикальна інактивація оксиду азоту, зменшення експресії NO-синтази, зменшення кількості субстрату для NO-синтази при дії іонізуючої радіації тощо [1, 8]. Оскільки головним наслідком променевого впливу є активація вільнорадикальних процесів, можна очікувати, що посилення потужності антиоксидних систем організму послабить небажані наслідки іонізуючого опромінення. Завданням даного дослідження було вивчення механізмів радіаційних змін скорочувальних властивостей судин опромінених тварин, а також з'ясування можливості послаблення наслідків променевого впливу за допомогою природного антиоксиданта α-токоферолу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на кільцевих сегментах грудної аорти кролів породи "Шиншила" масою 2,5-3 кг. Досліджували три групи тварин по 5 кролів у кожній. Перша група була контрольною. Другу групу складали опромінені тварини, яким α-токоферол не вводили. Кролям третьої групи через 1 год після опромінення вводили α-токоферол (перорально 50 мг/кг). Реєстрацію скорочувальної активності проводили в ізометричному режимі за допомогою тензодатчиків, у ролі яких використовували механотрони 6МХ1С. Запис скорочення здійснювали на реєстраторах Model 202 (Cole-Parmer Instrument Company, USA). Перфузію судинних сегментів виконували термостатованим (36-37 °С) розчином Кребса такого складу (в ммоль): NaCl – 133; KCl – 4,7; $NaHCO_3$ – 16,3; NaH_2PO_4 – 1,38; $CaCl_2$ – 2,7; $MgCl_2$ – 1,1; глюкоза – 7,77; pH – 7,3. Дослідження дилататорних реакцій проводили на тлі попереднього скорочення судин фенілефрином у концентрації 10^{-5} моль/л. Як ендотелійзалежний вазодилататор було використано ацетилхолін (АХ) у концентрації

© С.М. Тишкін – к.б.н., 2002.

10^{-5} моль/л. Усі досліди виконували на фоні індометацину (10^{-5} моль/л). Опромінення тварин (зовнішнє, одноразове) здійснювали за допомогою джерела ^{60}Co (ТГТ "Рокус-М", Росія) у дозі 6 Гр потужністю 0,845 Гр/хв. Експерименти проводили на 9-ту добу після опромінення. Статистичну обробку даних здійснювали із застосуванням однофакторного дисперсійного аналізу і наступних посттестів за методом Тьюки. Розходження вважались статистично достовірними, якщо величина p була меншою 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що ендотелійзалежне розслаблення визначається головним чином трьома одночасно діючими факторами: оксидом азоту, простацикліном та ендотелійзалежним гіперполяризуючим фактором (ЕЗГФ), природу якого на сьогодні остаточно не встановлено. Для визначення ступеня змін у кожній із цих компонент при дії іонізуючої радіації застосовували метод їх фармакологічного поділу за допомогою селективних блокаторів, що взаємодіють із певними ланками кожного із цих ендотеліальних механізмів. Для виключення синтезу простацикліну було використано індометацин (10^{-5} моль/л). Дія індометацину на судинні препарати протягом 30 хв не призводила до достовірних змін величин розслаблення, яке викликано АХ (10^{-5} моль/л), у судинах як здорових, так і опромінених тварин.

Внесення в робочу камеру із судинними препаратами Nw-нітро-L-аргініну (L-NA), синтетичного блокатора ендотеліальної NO-синтази, в концентрації $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л призводило до скорочення м'язових смужок (рис. 1 А). Цей ефект був цілком залежним від наявності ендотелію, і судинні препарати з видаленим ендотелієм не реагували на присутність L-NA. Таке ж скорочення препаратів здорових судин викликала руйнація ендотелію сапоніном. Вищевказані ефекти не спостерігались у судинних препаратах опромінених тварин. Величина тонусу м'язових смужок опромінених судин не змінювалась при дії L-NA або сапоніну в препаратах як з інтактним, так і з видаленим ендотелієм (рис. 1 А). Отримані дані дозволяють припустити, що ендотелій здорових судин має здатність до постійного синтезу деякої базальної кількості NO, дія якого підтримує судинну стінку в стані певного вихідного розслаблення. Усунення цього фонового звільнення NO при блокаді NO-синтази або руйнуванні ендотелію призводить до скорочення судини. Відсутність цих ефектів у судинах опромінених тварин свідчить про те, що дія іонізуючої радіації зумовлює пригнічення базальної секреції NO судинним ендотелієм.

На 9-ту добу після опромінення максимальна величина реакції на АХ аорти опромінених кролів була значно знижена, порівняно з контролем (рис. 1 Б). Дія L-NA ($3 \cdot 10^{-4}$ моль/л) призводила до зменшення викликаного АХ розслаблення судин здорових тварин приблизно вдвічі, що свідчить про значний внесок NO у процес ендотелійзалежного розслаблення. На відміну від здорових судин, реакції на АХ судин опромінених кролів достовірно не змінювались при дії L-NA (рис. 1 Б). Ці дані також підтверджують припущення про серйозне ушкодження NO-залежної компоненти ендотелійзалежного розслаблення при дії іонізуючої радіації. Для визначення внеску ЕЗГФ в АХ-індуковане розслаблення судин і ступеня його модифікації іонізуючою радіацією було вико-

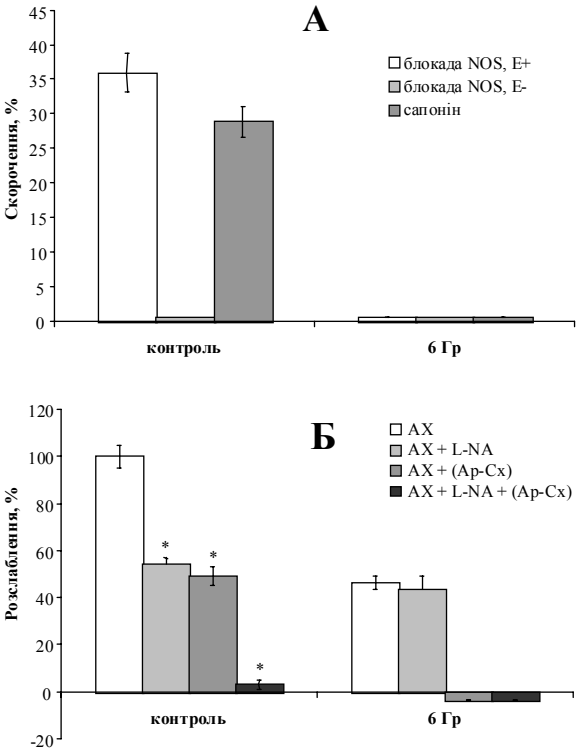


Рис. 1. Ефекти блокаторів NO-синтази (NOS) і калієвих каналів на препаратах грудної аорти здорових і опромінених кролів:

А – дія Nw-нітро-L-аргініну ($3 \cdot 10^{-4}$ моль/л) і сапоніну (0,1 мг/мл). E+ і E- – судини з інтактним і зруйнованим ендотелієм. Реакції на фенілефрин виражено у відсотках відносно скорочення.

Б – реакції на ацетилхолін (10^{-5} моль/л) після застосування блокаторів протягом 30 хв. L-NA – Nw-нітро-L-аргінін ($3 \cdot 10^{-4}$ моль/л), Ар – апамін (10^{-7} моль/л), Сх – харибдотоксин (10^{-7} моль/л). Реакції виражено у відсотках відносно контролю. * – $p<0,05$, n=14-17.

ристано блокатори калієвих каналів харибдотоксин (10^{-7} моль/л) і апамін (10^{-7} моль/л), спільна дія яких викликає пригнічення ЕЗГФ-індукованого розслаблення багатьох судин [7]. При наявності цих блокаторів розслаблення, що викликалося АХ, зменшувалось приблизно на 50 % у здорових судинах і повністю зникало в судинах опромінених тварин. Додавання 300 мкмоль L-NA до калієвих блокаторів призводило до зникнення викликаного АХ розслаблення також і в здорових судинах (рис. 1 Б). Отримані дані дозволяють припустити, що при опроміненні значною мірою порушується NO-залежна компонента ендотелійзалежного розслаблення, тоді як ЕЗФГ-компонента малочутлива до впливу іонізуючої радіації.

Результати експериментів із судинами кролів третьої групи представлено на рисунку 2. Встановлено, що реакції на АХ судин опромінених тварин, які одержували α-токоферол, не відрізнялись від аналогічних реакцій судин здорових кролів, тоді як відповіді на АХ судин опромінених тварин без застосування α-токоферолу були зменшені більше, ніж на 50 %. Блокада NO-синтази за допомогою Nw-нітро-L-аргініну призводила до пригнічення реакцій на АХ судин як здорових тварин, так і тварин, яким вводили α-токоферол, приблизно однаковою мірою. Важливо відзначити, що після блокади NO-синтази реакції на АХ судин здорових, опромінених кролів і тварин, яким вводили α-токоферол, мали приблизно однакову величину і достовірно один від одного не відрізнялись. Отримані дані дозволяють припустити, що за дії α-токоферолу стабілізується NO-залежна компонента інтегрального ендотелійзалежного розслаблення судинної стінки опромінених тварин, тоді як без застосування антиоксиданта після впливу іонізуючої радіації ця компонента пригнічується аж до повного зникнення.

ВИСНОВКИ. 1. Одноразове зовнішнє опромінення кролів іонізуючою радіацією призводить до пригнічення NO-залежної компоненти інтегрального ендотелійзалежного розслаблення грудної аорти. Компонента, пов'язана з ендотелійзалежним гіперполяризувальним фактором, при дії радіації не змінюється.

2. Застосування α-токоферолу після променевого впливу ефективно перешкоджає пригніченню NO-залежної компоненти розслаблення, що проявляється нормалізацією величини ефекту на ацетилхолін на 9-ту добу після опромінення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Братусь В.В., Тишкин С.М., Тараненко В.М. и др. Свободнорадикальное повреждение тканей как динамический процесс // Докл. РАН. – 1993. – **333**, № 6. – С. 792-794.

2. Тараненко В.М., Тишкин С.М., Руднев М.И. Изменения реактивности сосудистой стенки под влиянием ионизирующего облучения // Докл. АН СССР. – 1992. – **322**, № 3. – С. 600-603.

3. Тишкін С.М., Тараненко В.М., Руднєв М.І. та ін. Активація вільнорадикальних процесів як фактор порушення скорочувальної активності судинної стінки під дією іонізуючої радіації // Фізіол. журн. – 1993. – **39**, № 2-3. – С. 23-29.

4. Beckman J.A., Thakore A., Kalinowski B.H. et al. Radiation therapy impairs endothelium-dependent vasodilation in humans // J. Am. Coll. Cardiol. – 2001. – **37**, № 3. – P. 761-765.

5. Hirakawa Y., Kuga T., Ohara Y. et al. Mechanisms of coronary hyperconstriction in response to serotonin induced by X-irradiation in miniature pigs: increased constrictive response of medial smooth muscle // Heart Vessels. – 1995. – **10**, № 4. – P. 190-196.

6. Maynard K.I., Stewart-Lee A.L., Milner P., Burnstock G. X-radiation attenuates relaxant responses in the rabbit ear artery // Br. J. Pharmacol. – 1992. – **105**, № 1. – P. 126-128.

7. Mombouli J.V., Vanhoute P.M. Endothelium-derived hyperpolarizing factor(s): updating the unknown // Trends Pharmacol. Sci. – 1997. – **18**. – P. 252-256.

8. Qi F.Z., Sugihara T., Hattori Y. et al. Functional and morphological damage of endothelium in rabbit ear artery following irradiation with cobalt60 // Br. J. Pharmacol. – 1998. – **123**, № 4. – P. 653-660.

9. Qi F.Z., Sugihara T., Yamamoto Y., Abe K. Arterial changes following single-dose irradiation // J. Reconstr. Microsurg. – 1998. – **14**, № 3. – P. 153-158.

10. Sugihara T., Hattori Y., Yamamoto Y. et al. Preferential impairment of nitric oxide-mediated endo–thelium-dependent relaxation in human cervical arteries after irradiation // Circulation. – 1999. – **100**, № 6. – P. 635-641.

КОРРЕКЦИЯ α-ТОКОФЕРОЛОМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ В ГРУДНОЙ АОРТЕ КРОЛИКОВ

С.М. Тишкин
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Исследовали влияние α-токоферола при его пероральном введении (50 мг/кг) через 1 час после облучения на развитие индуцированных ионизирующей радиацией (^{60}Co, доза – 6 Гр) изменений сократительной активности грудной аорты кроликов. Установлено, что облучение приводит к угнетению NO-зависимой компоненты интегрального эндотелийзависимого расслабления, тогда как компонента, связанная с эндотелийзависимым гиперполяризующим фактором, при действии радиации не изменяется. Показано, что α-токоферол препятствует подавлению NO-зависимой компоненты расслабления и величина эффекта на ацетилхолин в сосудах кроликов, получавших α-токоферол, на 9-й день после облучения не отличается от контрольных значений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **α-токоферол, ионизирующая радиация, оксид азота.**

PREVENTION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RABBIT AORTA AFTER IONIZED IRRADIATION BY α-TOCOPHEROL

S.M. Tyshkin
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

The data obtained on aortic ring preparations from Chinchilla rabbits indicate that irradiation-induced endothelial dysfunction reflects the total elimination of NO-mediated relaxation, while endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) pathway appears relatively resistant to irradiation. The EDHF-mediated component is the main contributor of ACh relaxation in irradiated tissues. The NO-dependent relaxation to ACh was significantly restored following the treatment of irradiated animals with α-tocopherol (50 mg/kg), administered perorally 1 hr after irradiation unlike EDHF-dependent component which is not affected by a-tocopherol.

KEY WORDS: **α-tocopherol, ionizing radiation, nitric oxide.**

Отримано 16.07.2002 р.

Адреса для листування: *С.М. Тишкін, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потьє, 14, Київ, 03057, Україна.*

Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті: http://www.tdma.ssft.ternopil.ua/journals

УДК 546.32/.33.06:616.153.857/.155.1

ТИПИ ЧУТЛИВОСТІ Na, K-АТФази ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ДО РІВНЯ УРИКЕМІЇ ТА ДЕЯКІ ФАКТОРИ, ЩО ЇХ ДЕТЕРМІНУЮТЬ

Б.І. Аксентійчук
ЗАТ "ТРУСКАВЕЦЬКУРОРТ", ТРУСКАВЕЦЬ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

Серед хворих обох статей, які лікувалися на курорті Трускавець з приводу хронічних запальних захворювань органів травлення, виділено три типи чутливості Na, K-АТФази тіней еритроцитів до рівня урикемії – високо-, помірно- і низькоурикчутливі. Належність до певного типу, як правило, не змінюється під впливом бальнеотерапії і детермінується певним діапазоном значень катіонно-ліпідного індексу. Співвідношення середніх величин катіонно-ліпідного індексу різних типів дуже близькі (0,95-1,03) до квадратного кореня числа Фібоначчі ("золотої пропорції").

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **урикемія, Na,K-АТФаза, електроліти, ліпіди.**

ВСТУП. У попередньому повідомленні нами показано, що бальнеотерапія на курорті Трускавець чинить амбівалентно-еквілібраторний ефект на рівень урикемії, тобто підвищені показники знижуються, пересічно від 123 % статево-вікової норми (СВН) до 95 %, а знижені підвищуються від 84 до 99 % СВН, натомість нормальні показники лише переміщуються в межах діапазону СВН: від 106 до 95 % та від 90 до 107 % [1]. Це узгоджується з амбівалентно-еквілібраторною концепцією Трускавецької наукової школи бальнеології стосовно механізму дії бальнеочинників на організм [2, 3, 5, 8, 9].

У межах широкомасштабного дослідження фізіологічної активності сечової кислоти та її ролі в механізмах бальнеоефектів нами проаналізовано залежність між рівнем урикемії та активністю Na,K-АТФази еритроцитів – одного з універсальних функціональних білків, що лежить в основі різноманітних процесів (активний транспорт, скорочення, генерація імпульсів, імунітет тощо) [4, 6].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням перебували особи обох статей із хронічними запальними захворюваннями органів травлення (холециститом, гастродуоденітом, панкреатитом, колітом, гепатитом), котрі лікувалися на курорті Трускавець. Проаналізовано взаємозв'язки між вмістом у плазмі сечової кислоти та активністю Na,K-АТФази тіней еритроцитів, а також деяких інших показників електролітного та ліпідного обміну: активністю Ca- і Mg-АТФази еритроцитів, вмістом у них та плазмі Na^+ і K^+, вмістом у плазмі Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^- Рн, HCO_3^-, тригліцеридів (ТГ), загального холестерину (ХС) та ліпопротеїдів (ЛП) дуже низької щільності (ДНЩ), низької щільності (НЩ) і високої щільності (ВЩ), а також коефіцієнтом атерогенності Клімова (КАГК). Про активність АТФаз судили за приростом у супернатанті відповідного середовища інкубації [7] неорганічного фосфату, концентрацію якого, як і решти параметрів, визначали за допомогою аналізаторів "Reflotron" ("Boehringer Mannheim", BRD) та "Pointe-180" ("Scientific", USA). З огляду на сильну зумовленість величин урикемії і ліпідів статтю та віком, їх виражали у відсотках від середньої статево-вікової норми (СВН).

Цифровий матеріал оброблено на комп'ютері за допомогою програми "Excel".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При зіставленні рівнів урикемії та активності Na,K-АТФази еритроцитів нами виявлено три приблизно однакових за частотою типи дозозалежності (рис. 1). Перший тип характеризується широким діапазоном обох параметрів з максимумом активності ферменту при рівні урикемії приблизно 0,3 мМ/л, тобто середньонормальному. Іншими словами, активність Na,K-АТФази високочутлива до змін рівня урикемії відносно оптимального. В осіб другого типу аналогічні відхилення урикемії супроводжу-

© Б.І. Аксентійчук – к.м.н., 2002.

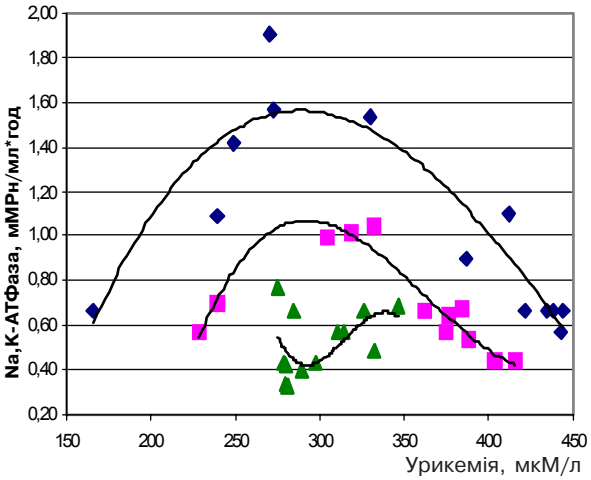


Рис. 1. Типи залежності активності Na,K-АТФази еритроцитів від уникемії

валися помірними змінами активності ензиму, а в інших остання коливалася у вузькому діапазоні. Приналежність до певного типу урикчутливості під впливом бальнеотерапії, як правило (у 85 %), не змінювалася, що свідчить або про її генетичну детермінованість, або про недостатню силу бальнеочинників як подразників. Середній вік високоурикчутливих жінок складав (37,5±3,3) років, чоловіків – (50,8±3,1) років. Помірно- та низькоурикчутливими особами виявилися лише жінки віком (47,3±1,4) та (47,8±2,5) років відповідно.

Як видно з таблиці 1, в осіб, Na,K-АТФаза котрих високочутлива до уникемії, рівень її активності суттєво перевищує середньопопуляційний, натомість низька чутливість ензиму до уникемії асоціюється з її активністю, суттєво нижчою від середньонормальної. Помірна урикчутливість Na,K-АТФази характеризується нормальними як середнім рівнем, так і діапазоном коливань (0,44-1,05 мМРн/мл·год).

Стосовно субстратів ензиму – іонів Na^+ і K^+ – не виявлено ні розбіжностей між типами, ні відхилень від середньої норми вмісту їх в плазмі та вмісту K^+ в еритроцитах. Натомість вміст в еритроцитах Na^+ виявився підвищеним у всіх обстежених, що, мабуть, зумовлено хворобами [7]. При цьому простежується тенденція до збільшення інтрацелюлярного вмісту Na^+ в міру підвищення урикчутливості Na,K-АТФази. Тенденція стає закономірністю при аналізі трансмембранного градієнта натрію ($G_{Na}=Na_p/Na_e$), а також сумарного трансмембранного натрій-калієвого градієнта ($G_{Na,K}= G_{Na}\cdot G_K$).

При аналізі інших параметрів електролітного обміну характеристичних розбіжностей між типами урикчутливості Na,K-АТФази не виявлено (табл. 2). При цьому констатовано для контингенту в цілому наявність гіпомагніємії та зниженої активності Ca-АТФази еритроцитів.

На фоні зниженого однаковою мірою в усіх групах рівня загального холестерину та вмісту його в ЛП ВЩ та НЩ звертає на себе увагу суттєве перевищення статево-вікових нормативів ХС ЛП ДНЩ і тригліцеридів, як і коефіцієнта атерогенності (табл. 3). При цьому відхилення наростають в міру підвищення урикчутливості Na,K-АТФази.

Викладене дало нам підставу запропонувати формулу обчислення індексу, названого катіонно-ліпідним (КЛІ):

$$КЛІ = (Na,K\text{-АТФаза}\cdot ТГ\cdot КАГК/G_{Na,K})^{0,25}$$

При оперуванні з абсолютними величинами параметрів КЛІ у низькоурикчутливих осіб складає пересічно 0,376, у помірноурикчутливих – 0,454, у високоурикчутливих – 0,617.

Якщо ж користуватися відносними (стосовно середньої норми) величинами, отримаємо такий ряд: 1,096; 1,323; 1,735. На графіку він утворює лінію, близьку до прямої (рис. 2). Прямолінійність графіка покращується при логарифмуванні КЛІ.

Співвідношення КЛІ високо- і помірноурикчутливих осіб складає $1,03Ф^{0,5}$, помірно- і низь-

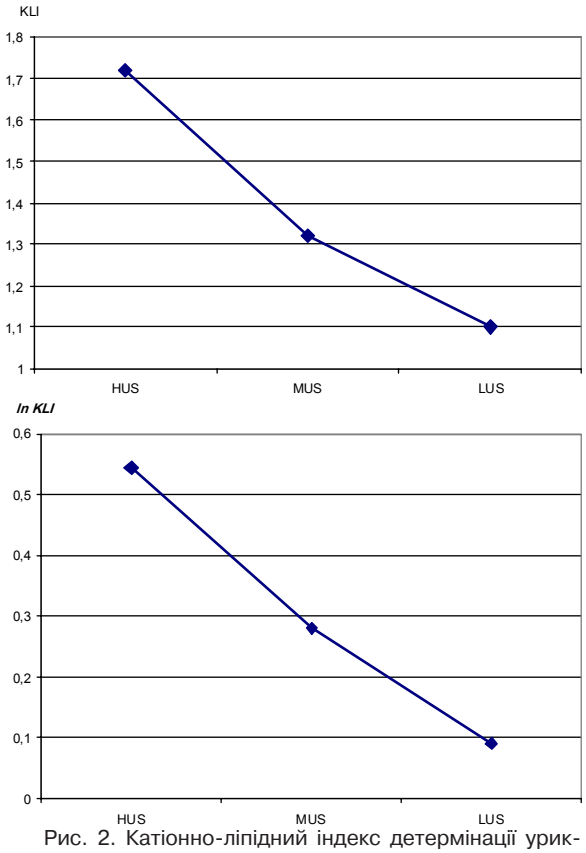


Рис. 2. Катіонно-ліпідний індекс детермінації урикселективності Na,K-АТФази.

Таблиця 1 – **Порівняльна характеристика параметрів трансмембранного транспорту Na^+ і K^+ в осіб з різною чутливістю Na,K-АТФази еритроцитів до рівня урикемії**

Тип чутливості	n	Параметр									
		Урикемія		Na,K-АТФаза		Na^+ плазми		Na^+ еритроц.		K^+ плазми	
		мкМ/л	%СВН	мМРн/мл·год	%Н	мМ/л	%Н	мМ/л	%Н	мМ/л	%Н
Високочутливий	13	347±27	107±7	1,03±0,12*	136±16*	136±5	94±3	32,2±2,7*	180±15*	4,17±0,11	96±2
Помірно чутливий	12	344±18	111±7	0,69±0,06	91±8	146±6	101±4	27,6±2,0*	154±11*	4,51±0,24	104±5
Низькочутливий	13	300±7	103±2	0,52±0,04*	68±5*	144±5	100±3	25,1±2,5*	140±14*	4,11±0,22	94±5
Середня норма	30	–	100	0,76±0,04	100	144±5	100	17,9±1,6	100	4,35±0,35	100
	P_{1-2}	ns	ns	a	a	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{1-3}	ns	ns	c	c	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{2-3}	a	ns	a	a	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Продовження табл. 1

Тип чутливості	n	Параметр									
		K^+ еритроц.		Na_p/K_p		$G_{Na}= Na_p/Na_e$		$G_K=K_e/K_p$		$G_{Na,K}=G_{Na}\cdot G_K$	
		мМ/л	%Н		%Н		%Н		%Н		%Н
Високочутливий	13	79±6	91±7	32,3±0,7	97±2	4,68±0,50*	58,5±6*	18,9±1,8	95±9	90±13*	56±8*
Помірно чутливий	12	89±3	103±4	33,3±2,3	101±7	5,59±0,43*	70±5*	20,3±1,0	101±5	113±11*	71±7*
Низькочутливий	13	82±3	94±3	36,1±1,9	109±6	6,29±0,51*	79±6*	20,8±1,4	104±7	131±14	82±9
Середня норма	30	87±3	100	33,1±1,5	100	8,0±0,5	100	20,0±1,6	100	160±13	100
	P_{1-2}	ns	ns	ns	ns	ns	a	ns	ns	ns	ns
	P_{1-3}	ns	ns	ns	ns	a	a	ns	ns	b	a
	P_{2-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Примітка. Тут і в наступних таблицях: 1. Кожен показник виражений як у абсолютних величинах, так і у % від середньої норми (Н), урикемія – у % від середньої статево-вікової норми.
2. Достовірність розбіжностей між груповими показниками позначено буквами (a<0,05; b<0,01; c<0,001; ns – недостовірна відмінність).
3. Показники, достовірні відмінні від норми, позначено *.

коурикчутливих – $0,95Ф^{0,5}$, високо- і низькоурикчутливих – 0,98Ф (Ф – число Фібоначчі, модуль "золотої пропорції", що становить 1,615). При використанні абсолютних показників співвідношення складає, відповідно, $1,07Ф^{0,5}$; $0,95Ф^{0,5}$ і 1,02Ф. Іншими словами, співвідношення між типами уриксенситивності Na,K-АТФази відповідає природній гармонії.

ВИСНОВОК. Виявлено три типи чутливості Na,K-АТФази до урикемії, детерміновані параметрами катіонно-ліпідного обміну.

Таблиця 2 – **Порівняльна характеристика активності АТФаз та вмісту в плазмі деяких електролітів у осіб з різною чутливістю Na,K-АТФази еритроцитів до рівня урикемії**

Тип чутливості	n	Параметр					
		Ca-АТФаза		Mg-АТФаза		Ca^{2+} плазми	
		мМРн/мл·год	%Н	мМРн/мл·год	%Н	мМ/л	%Н
Високочутливий	13	1,15±0,13*	72±8*	0,97±0,07	115±8	2,15±0,06	95,5±3
Помірно чутливий	12	0,96±0,11*	60±7*	1,20±0,07*	143±9*	2,08±0,08	92,5±3*
Низькочутливий	13	0,95±0,08*	60±5*	0,93±0,05	111±6	2,28±0,13	101±6
Середня норма	30	1,59±0,14	100	0,84±0,04	100	2,25±0,09	100
	P_{1-2}	ns	ns	a	a	ns	ns
	P_{1-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{2-3}	ns	ns	b	b	ns	ns

Продовження табл. 2

Тип чутливості	n	Параметр							
		Mg^{2+} плазми		Cl^- плазми		Рн плазми		HCO_3^- плазми	
		мМ/л	%Н	мМ/л	%Н	мМ/л	%Н	мМ/л	%Н
Високо-чутливий	13	0,73±0,02*	86±2*	96±3	94±3	0,93±0,06	96±6	28±2	89±6
Помірно чутливий	12	0,74±0,02*	87±2*	101±2	99±2	0,95±0,08	98±8	34±2	110±7
Низько-чутливий	13	0,73±0,02*	86±2*	98±2	96±2	0,93±0,06	96±6	35±2	114±7
Середня норма	30	0,85±0,02	100	102±2	100	0,97±0,12	100	31±2	100
	P_{1-2}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	a	a
	P_{1-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	a	a
	P_{2-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Таблиця 3 – **Порівняльна характеристика ліпідного спектра плазми в осіб з різною чутливістю Na,K-АТФази еритроцитів до рівня урикемії**

Тип чутливості	n	Параметр					
		ХС загальний		ХС ЛП ДНЩ		ХС ЛП НЩ	
		мМ/л	%СВН	мМ/л	%СВН	мМ/л	%СВН
Високо-чутливий	13	4,24±0,15	83±2*	0,92±0,18	208±51*	2,42±0,25	72±7*
Помірно-чутливий	12	4,65±0,26	87±4*	0,69±0,10	165±29*	2,78±0,30	81±8*
Низько-чутливий	13	4,38±0,28	82±4*	0,55±0,07	130±14*	2,69±0,28	79±8*
	P_{1-2}	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{1-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{2-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Продовження табл. 3

Тип чутливості	n	Параметр					
		ХС ЛП ВЩ		Коефіцієнт атерогенності		Тригліцериди	
		мМ/л	%СВН	мМ/л	%СВН	мМ/л	%СВН
Високо-чутливий	13	0,90±0,11	67±7*	4,48±0,54	168±19*	2,80±0,55	220±53*
Помірно-чутливий	12	1,18±0,11	77±7*	3,30±0,40	144±16*	2,11±0,31	166±29*
Низько-чутливий	13	1,14±0,08	74±5*	3,01±0,32	135±14*	1,68±0,22	129±14*
	P_{1-2}	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	P_{1-3}	ns	ns	a	ns	ns	ns
	P_{2-3}	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксентійчук Б.І. Роль сечової кислоти у ефектах бальнеотерапевтичного комплексу курорту Трускавець на інтракардіальну гемодинаміку людини // Мед. реабіл., курортол., фізіотер. – 2002. – № 2 (30). – С. 12-15.

2. Балановський В.П. Амбівалентно-еквілібраторна концепція дії лікувальної води "Нафтуся" на організм людини // Укр. бальнеол. журн. – 1999. – № 1. – С. 51-57.

3. Балановський В.П., Попович І.Л., Карпинець І.С. Про амбівалентно-еквілібраторний характер дії лікувальної води "Нафтуся" на організм людини // Доп. АН України. Мат., природозн., техн. науки. – 1993. – № 3. – С. 154-158.

4. Болдырев А.А., Мельгунов В.И. Транспортные АТФазы // Итоги науки и техники, Серия: Биофизика. – М.: ВИНИТИ, 1985. – **17**. – С. 5-105.

5. Івасівка С.В., Попович І.Л., Аксентійчук Б.І., Білас В.Р. Природа бальнеочинників води Нафтуся і суть її лікувально-профілактичної дії. – Трускавець, 1999. – 125 с.

6. Лишко В.К. Натриевый насос биологических мембан. – К.: Наукова думка, 1977. – 144 с.

7. Макаренко Е.В. АТФазная активность эри-

троцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 14-17.

8. Попович І.Л. Адаптогенна амбівалентно-еквілібраторна теорія механізму лікувально-профілактичної дії біоактивної води Нафтуся // Мед. реабіл., курортол., фізіотер. – 2001. – **2**, № 3. – С. 69-73.

9. Чебаненко О.І., Флюнт І.С., Попович І.Л. та ін. Вода Нафтуся і водно-сольовий обмін. – К.: Наук. думка, 1997. – 141 с.

10. Яременко М.С., Ивасивка С.В., Попович И.Л. и др. Физиологические основы лечебного действия воды Нафтуся. – К.: Наук. думка, 1989.- 144 с.

ТИПЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ Na,K-АТФазы ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА К УРОВНЮ УРИКЕМИИ И НЕКОТОРЫЕ ФАКТОРЫ, ИХ ДЕТЕРМИНИРУЮЩИЕ

Б.И. Аксентийчук
ЗАТ "ТРУСКАВЕЦКУРОРТ", ТРУСКАВЕЦ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Среди больных обоих полов, лечившихся на курорте Трускавец по поводу хронических воспалительных заболеваний органов пищеварения, выделено три типа чувствительности Na,K-АТФазы теней эритроцитов к уровню урикемии – высоко-, умеренно- и низкоурикчувствительные. Принадлежность к определенному типу, как правило, не изменяется под влиянием бальнеотерапии и детерминируется определенным диапазоном значений катионно-липидного индекса. Соотношения средних величин катионно-липидного индекса различных типов очень близки (0,95-1,03) к квадратному корню числа Фибоначчи ("золотой пропорции").

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **урикемия, Na,K-АТФаза, электролиты, липиды.**

THE TYPES OF SENSITIVITY OF Na,K-ATP-ASE OF HUMAN ERYTHROCYTES TO LEVEL OF URICAEMIA AND SOME OF THEIR DETERMINING FACTORS

B.I.Aksentiychuk
JSC "TRUSKAVETS – RESORT", TRUSKAVETS
INSTITUTE OF PHYSIOLOGY BY O.O. BOHOMOLETS OF NAS OF UKRAINE, KYIV

Summary

Among the patients of both sexes have being at the spa treatment by the reason of chronic inflammatory gastric diseases there were established three types of uricsensivity of Na,K-ATPase: high-, medium- and low-uricsensitive. No type changes during balneotherapy and is determined by cation-lipid index. Ratio of average values of cation-lipid index are rather similar (0,95-1,03) to square root of Fibonacci's number ("the golden mean").

KEY WORDS: **uricaemia, Na,K-ATPase, electrolytes, lipids.**

Отримано 28.05.2002 р.

Адреса для листування: *Б.І. Аксентійчук, вул. Біласа, 13, Трускавець, Львівська обл., 82200, Україна.*

УДК 616-005.1-085.272.4]-092.9

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІПІНУ, СЕЛЕНИ ТА ПІРАЦЕТАМУ ЗА ЇХ ОКРЕМОГО ТА ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ ПРИ КРОВОВТРАТІ У ВИСОКО- ТА НИЗЬКОСТІЙКИХ ДО ГІПОКСІЇ ЩУРІВ

І.Ю. Бережна
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

В експериментах на нелінійних білих щурах-самцях з уродженою різною резистентністю до гіпоксії встановлено, що порушення процесів перекисного окиснення ліпідів, системи антиоксидного захисту та мікросомальної ферментної системи гепатоцитів при циркуляторно-гемічній гіпоксії більшою мірою проявляються у низькостійких до нестачі кисню тварин. У цій групі найвищу лікувально-профілактичну дію проявляє комбінація ліпіну, селени і пірацетаму, а в щурів з високою резистентністю до гіпоксії – поєднання ліпіну і селени. При окремому введенні препаратів більшу ефективність має ліпін. Лікувальна дія пірацетаму спостерігається у низькостійких до гіпоксії тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **індивідуальна чутливість до гіпоксії, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидний захист, ліпін, селена, пірацетам, циркуляторно-гемічна гіпоксія.**

ВСТУП. Відомо, що розвиток гіпоксичного стану після крововтрати зумовлений обмеженням постачання тканин киснем за рахунок зменшення об'ємної швидкості кровотоку (циркуляторний компонент) і кисневої ємності крові (гемічний компонент) [10]. Це супроводжується накопиченням у тканинах недоокиснених продуктів обміну, що, в свою чергу, призводить до зниження активності цитохромоксидаз, дискоординації процесів перекисного окиснення ліпідів, розвитку метаболічного ацидозу [10]. Результатом цих змін є структурна перебудова клітинних та субклітинних мембран, зміни їх проникності та загибель клітини [2].

Індивідуальні особливості реакції організму на гіпоксію відіграють суттєву роль у її патогенезі, причому зміни функціональної активності зберігаються на тканинному і клітинному рівнях [6]. З іншого боку, ефективність фармакологічних препаратів не однакова при їх застосуванні у тварин з різною чутливістю до гіпоксії [7]. Тому метою нашого дослідження стало з'ясування особливостей лікувально-профілактичної активності ліпіну, селени та пірацетаму (за їх окремого та поєднаного введення) при циркуляторно-гемічній гіпоксії у високо- (ВС) та низькостійких (НС) до нестачі кисню тварин.

© І.Ю. Бережна, 2002.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на нелінійних білих щурах-самцях, які утримувались на звичайних харчовому, світловому і температурному режимах віварію. Розподіл тварин залежно від стійкості до гіпоксії проводили за методикою В.А. Березовського [1]. Кожну із серій ділили на 9 груп: 1) інтактні тварини (контроль); 2) щури з циркуляторно-гемічною гіпоксією (ЦГГ, крововтрата – 20-25 % від ОЦК без заміщення об'єму, тривалість гіпоксичного впливу – 30 хв); щури, яким вводили: 3) пірацетам (П, Галичфарм, Львів, по 400 мг/кг внутрішньочеревно); 4) ліпін (Л, яєчний фосфатидилхолін у вигляді ліпосом, ХФО "Біолек", Харків, по 20 мг/кг внутрішньочеревно); 5) селену (С, органічну сполуку селену, А/О Хухтамяки, Новамед-Турку, Фінляндія, по 40 мкг/кг внутрішньошлунково); тварини, яким застосовували комбінації препаратів: 6) Л+С; 7) Л+П; 8) С+П; 9) Л+С+П. Кожен з препаратів та їх комбінації використовували двічі – за 12 і 2 год до крововтрати. Визначали: у гомогенатах печінки – вміст гідроперекисів ліпідів (ГПЛ), ТБК-активних продуктів (ТБК), відновленого глутатіону (G-SH), активність супероксиддисмутази (СОД), сукцинатдегідрогенази (СДГ), цитохромоксидази (ЦХО), швидкість N-деметилазної (N-д) і р-гідроксилазної (р-г) реакцій; у крові – кількість молекул середньої маси

($МСМ_1$, $МСМ_2$), церулоплазміну (ЦП); у м'язах – напруження кисню (pO_2). Математичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою методу варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що розвиток ЦГГ у тварин супроводжується активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та пригніченням активності процесів антиоксидного захисту (табл. 1).

Отримані результати свідчать про те, що при ЦГГ зміни вивчених показників у НС і ВС є односпрямованими, але відрізняються кількісно (табл. 1). Зокрема, розвиток ЦГГ супроводжується збільшенням вмісту ГПЛ у ВС і НС тварин на 20 і 40 %, ТБК – на 15 і 30 % відповідно. Активність СОД зменшується у НС особин в 1,5 раза, у ВС – на 50 %. Зниження активності цього ферменту можна пояснити або агрегацією його у неактивні комплекси, або інактивуючою дією гідроперекисів [9]. У результаті зазначених змін відбувається накопичення токсичних продуктів, що супроводжується підвищенням в плазмі крові кількості $МСМ_1$ і $МСМ_2$: у ВС – на 20 і 23 %, у НС щурів – на 30 і 42 %. Це є одним з факторів порушення функціонування мембранних ферментних систем, зокрема тканинного дихання і мікросомального окиснення [4]. У наших дослідах це проявляється, зокрема, гальмуванням активності мітохондріальних СДГ і ЦХО на 15 і 19 % у НС тварин і СДГ у ВС на 4 % (табл. 2). Водночас відмічається зниження N-д і р-г активності у ВС особин на 8 і 9 %, що можна пояснити зменшенням витрат кисню на процеси, не пов'язані з енергоутворенням, оскільки в умовах гіпоксії підтримання енергетичного гомеостазу більш важливе, ніж збереження мікросомального окиснення [9]. У НС щурів за даних умов активність N-д і р-г реакцій, навпаки, зростає на 10 і 18 % відповідно. Розвиток ЦГГ супроводжується зменшенням вмісту ЦП у сироватці крові ВС тварин на 16 % і збільшенням у НС щурів на 10 %, що може бути позв'язано з різницею в процесах, які викликають централізацію кровообігу після зупинки кровотечі. За останніми даними [5], ВС і НС тварини принципово відрізняються за характером післягеморагічного розподілу крові між важливо життєвими органами. У НС щурів централізація кровообігу обмежується перерозподілом крові тільки до серця, а у ВС тимчасово відновлюється кровотік у печінці, нирках і мозку. Розвиток гіпоксичного стану в наших дослідах супроводжувався зниженням pO_2: у

Таблиця 1 – **Зміни показників перекисного окиснення ліпідів, системи антиоксидного захисту при циркуляторно-гемічній гіпоксії у тварин з різною стійкістю до гіпоксії**

Показник	ВС		НС	
	Контроль	ЦГГ	Контроль	ЦГГ
ГПЛ	6,80±0,02	8,16±0,03*	4,64±0,12	6,50±0,21*
ТБК	7,40±0,21	8,51±0,20*	6,56±0,30	8,52±0,10*
$МСМ_1$	0,56±0,03	0,67±0,02*	0,44±0,02	0,57±0,01*
$МСМ_2$	0,24+0,02	0,30+0,01*	0,12+0,01	0,17+0,01*
СОД	5,82±0,03	3,88±0,02*	4,78±0,01	3,19±0,02*

Примітки. 1. * – зміни достовірні, порівняно з контролем.
2. Одиниці виміру: ГПЛ – ум. од./кг; ТБК – ммоль/кг; МСМ – ум. од.; СОД – ум. од./кг.

Таблиця 2 – **Зміни активності сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази при циркуляторно-гемічній гіпоксії і при введенні ліпіни, селени, пірацетаму за їх окремого та комбінованого застосування у тварин з різною стійкістю до гіпоксії**

Група	ВС		НС	
	СДГ	ЦХО	СДГ	ЦХО
Контроль	7,90±0,04	6,86±0,14	5,29±0,20	4,12±0,06
ЦГГ	7,58+0,02**	6,51+0,10	4,50+0,17**	3,34+0,03**
Введення С	7,81±0,01*	6,64±0,18	4,68±0,15	3,41±0,04
Введення П	7,73±0,01*	6,71±0,16	4,63±0,10	3,57±0,04*
Введення Л	7,96±0,01*	6,77±0,14	4,77±0,20	3,54±0,04*
Введення С+П	8,03±0,01*	6,84±0,16*	4,91±0,15	3,67±0,04*
Введення Л+П	8,07±0,01*	6,88±0,10*	4,98±0,10*	3,87±0,02*
Введення Л+С	8,19+0,01*	6,97+0,10*	5,04+0,10*	3,91+0,03*
Введення Л+С+П	8,10±0,01*	6,90±0,10*	5,18±0,15*	4,00±0,02*

Примітки. 1. ** – зміни достовірні, порівняно з контролем; * – зміни достовірні, порівняно з гіпоксією.
2. Одиниці виміру: СДГ – ммоль/(хв·кг); ЦХО – ммоль/(хв·кг).

ВС тварин – до (23,0±1,8) мм рт. ст. проти (28,0±2,1) мм рт. ст. у контролі; у НС – до (18,0±1,4) мм рт. ст. проти (25,0±2,1) мм рт. ст.

При введенні лікувальних агентів встановлено, що захисна дія пірацетаму більшою мірою проявляється у НС особин. У цій групі зменшуються вміст ГПЛ, ТБК, $МСМ_1$, $МСМ_2$ і швидкість р-г реакції на 10, 10, 6, 6 і 4 %, зростає активність ЦХО і СДГ на 7 і 3 % відповідно (табл. 2), СОД – на 5 %. У ВС тварин під впливом П спостерігається тенденція до зменшення вмісту ГПЛ і зростання активності СОД і СДГ. Відомо, що антигіпоксичний ефект П реалізується за допомогою його мембранопротекторної дії, антиоксидних властивостей, позитивного впливу на гомеостаз кальцію [3].

Під впливом Л знижується вміст ГПЛ, ТБК, $МСМ_1$, $МСМ_2$ в обох групах тварин: у НС – на 11, 9, 8, 10 %, у ВС – на 12, 9, 9 і 10 % відповідно. Активність СОД у ВС зростає на 20 %, у НС – на 10 % і ЦХО – на 6 % (табл. 2). Збільшується вміст G-SH і ЦП у ВС – на 7 і 8 %, у НС – на 7 і 4 % відповідно. Як відомо, позитивний внесок фосфатидилхоліну при активації процесів перекисного окиснення ліпідів мембранних структур зумовлений його здатністю вбудовуватись у ділянки пошкоджених клітинних і субклітинних мембран [8].

Під впливом С зменшується вміст ТБК-активних продуктів, $МСМ_1$ і збільшується активність СОД: у НС особин – на 8, 9 і 7 % відповідно. У ВС щурів при введенні С зменшується вміст ГПЛ на 10 % і підвищується активність СОД на 15 %.

При комбінованому введенні Л і С перед ЦГГ у ВС тварин спостерігаються зменшення вмісту ГПЛ, ТБК, $МСМ_1$, $МСМ_2$ на 16, 15, 14, і 22 % відповідно, збільшення активності СОД на 45 %, вмісту G-SH і ЦП на 15 і 18 %, активності СДГ і ЦХО (табл. 2), а також відновлення швидкості N-д і р-г реакцій – на 9 і 8 % відповідно і напруження pO_2 у м'язі. У НС тварин застосування цієї комбінації достовірно зменшує вміст ГПЛ, ТБК, $МСМ_1$ і $МСМ_2$ на 22, 17, 17 і 21 % відповідно, збільшує активність СОД на 34 %, вміст G-SH і ЦП – на 12 і 10 %.

Профілактичне введення комбінації Л, П і С у НС тварин збільшує pO_2 до (21,0±1,4) мм рт. ст., нормалізує вміст $МСМ_1$, активність СОД і швидкість реакцій мікросомального окиснення. У ВС щурів введення цієї комбінації не має переваги, порівняно з поєднаним застосуванням Л і С.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток ЦГГ супроводжується напруженням компенсаторно-пристосовних реакцій і перевагою процесів пошкодження над процесами компенсації у печінці.

2. При окремому застосуванні препаратів при ЦГГ у НС тварин відмічено кращу лікувально-профілактичну активність пірацетаму, у ВС щурів – ліпіну.

3. Найвищу ефективність при гострій ЦГГ у НС особин відзначено при комбінованому введенні ліпіну, селени і пірацетаму, а у ВС тварин – при поєднаному використанні ліпіну і селени.

4. Встановлені особливості перебігу гіпоксичного стану і індивідуальної чутливості до фармакологічних засобів у особин з уродженою різною резистентністю до нестачі кисню свідчать про необхідність диференційованого підходу до комплексної терапії циркуляторно-гемічної гіпоксії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Березовский В.А. Индивидуальные реакции животных на недостаток кислорода // В кн.: Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности. – К.: Наукова думка, 1978. – С. 24-35.

2. Брюсов П.Г., Шарапов Г.Н., Елькин А.И., Пивоваров А.А. Состояние перекисного окисления липидов при травматическом шоке и некоторые пути его коррекции. – Вестн. хир. – 1992. – № 5. – С. 216-219.

3. Карнаух Е.В., Киричок Л.Т. Патогенетичний аспект кардіопротекторної дії антистресових засобів // Ліки. – 1999. – № 2. – С. 7-11.

4. Кліщ І.М., Загрійчук О.П., Кравчук Л.О. Вплив молекул середньої маси плазми крові щурів на вільнорадикальні процеси в нормі та при токсичному ураженні печінки // Мед. хім. – 1999. – **1**, № 1. – С. 82-86.

5. Коваленко Н.Я., Мациевский Д.Д. Различия в кровоснабжении мозга и печени при острой кровопотере у крыс с различной устойчивостью к циркуляторной гипоксии // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1997. – **123**, № 3. – С. 253-257.

6. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1997. – **124**, № 9. – С. 244-254.

7. Лукьянова Л.Д. Механизмы действия антигипоксантов. Антигипоксанты – новый класс фармакологических веществ // Антигипоксанты. – М., 1991. – **27**. – С. 5-26.

8. Посохова К.А. Експериментальна терапія гепатопротекторами і індукторами уражень печінки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Тернопіль, 1996. – 46 с.

9. Савченкова Л.В. Биохимические основы

патогенеза гипоксического синдрома // Укр. мед. альм. – 1998. – № 1. – С. 90-99.

10. Середенко М.М, Дударев В.П., Лановенко И.И. и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии / Под ред. М.М. Середенко. – К.: Наук. думка, 1987. – 200 с.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИПИНА, СЕЛЕНА И ПИРАЦЕТАМА ПРИ ИХ ОТДЕЛЬНОМ И КОМБИНИРОВАННОМ ВВЕДЕНИИ ПРИ КРОВОПОТЕРИ У ВЫСОКО- И НИЗКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ КРЫС

И.Ю. Бережная

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В экспериментах на нелинейных белых крысах-самцах с врожденной различной резистентностью к гипоксии установлено, что нарушения процессов перекисного окисления липидов, системы антиоксидной защиты и микросомальной ферментной системы гепатоцитов при циркуляторно-гемической гипоксии в большей степени проявляются у низкоустойчивых к недостатку кислорода животных. В этой группе лучшее лечебно-профилактическое действие проявляет комбинация липина, селены и пирацетама, а у крыс с высокой резистентностью к гипоксии – сочетание липина и селены. При отдельном использовании препаратов большую эффективность имеет липин. Лечебное действие пирацетама наблюдается у низкоустойчивых к гипоксии животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **индивидуальная чувствительность к гипоксии, перекисное окисление липидов, антиоксидная защита, липин, селена, пирацетам, циркуляторно-гемическая гипоксия.**

EFFICACY OF LIPIN, SELENIUM AND PYRACETAM AT THEIR SEPARATE AND COMBINED ADMINISTRATION AT CIRCULATORY HEMIC HYPOXIA IN ANIMALS WITH DIFFERENT OXYGEN DEFICIENCY RESISTANCE

I.Yu. Berezhna

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA.HORBACHEVSKY

Summary

The background differences of prooxydant – antioxydant homeostasis findings (hydroperoxide of lipoid, TBA-active products, superoxidodismutase, reduced glutathione, ceruloplasmin, cytochrome oxidase, succinic dehydrogenase, N-demethylase activity, p-hydroxylase activity) and their transformations in acute circulators hemic hypoxia have been experimentally investigated on white mongrel rats with different oxygen deficiency resistance. The beneficial effects of preventive injection of lipin, pyracetam and selenium and their combinations (lipin and selenium, pyracetam and selenium, lipin and pyracetam, lipin, selenium and pyracetam) have been evaluated. Disorders of peroxide lipids oxidation processes and antioxydant protection in circulatory hemic hypoxia have been found to occur mainly in the animals with low oxygen deficiency stability. Combined introduction of lipin and selenium has been shown to result in normalizing prooxydant – antioxydant homeostasis findings in the animals with high hypoxia stability.

KEY WORDS: **individual sensitivity to hypoxia, lipid peroxidation, antioxidant protection, lipin, selenium, pyracetam, circulatory hemic hypoxia.**

Отримано 16.07.2002 р.

Адреса для листування: *І.Ю. Бережна, вул. Руська, 11, кв. 10, Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 611.611:546.172.6-31

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ПРИ ХРОНІЧНІЙ БЛОКАДІ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ В ЩУРІВ

А.І. Гоженко, Н.І. Куксань, І.В. Погоріла
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У роботі наведено дані досліджень на білих щурах-самцях лінії Vistar масою 120-130 г впливу інгібітора NO-синтази – структурного аналога L-аргініну (L-NWNA) – на функціональний стан нирок. З'ясовано, що з 1-го по 14-й день досліджень L-NWNA, змінюючи вироблення NO, змінює функцію нирок. Дані процеси реалізуються на рівні канальцевої реабсорбції та секреції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **оксид азоту, нирки, екскреція натрію, канальцеві процеси.**

ВСТУП. NO в невеликих концентраціях є унікальним за своєю природою та механізмами дії вторинним месенджером у більшості клітин організму. Оксид азоту є медіатором нітрергічних нервів, регулює тонус непосмугованих м'язів та рівень артеріального тиску, впливає на згортання крові, реакції імунної системи та стан пам'яті в людини [5, 7, 9, 16]. Упродовж останнього десятиріччя інтенсивно досліджують роль NO у формуванні вазомоторних реакцій і підтриманні тонусу судин. Встановлено роль NO в розвитку реактивної гіперемії на прикладі коронарних і стегнових судин [4]. Крім реактивної гіперемії, показано участь оксиду азоту в розвитку робочої гіперемії міокарда і судинному руслі скелетних м'язів. NO звільняється артеріолами при функціональному навантаженні [2].

Дуже важливим в останні роки стало відкриття в ендотеліальних клітинах судин самостійної вазоактивної системи, яка більш потужна, ніж ренін-ангіотензинова система. Вона включає в себе фактор, що звужує судини, – ендотелін [17] та протиставлений йому ендотеліальний фактор релаксації (EDRF), який розширює судини. Хімічна природа останнього залишалась незрозумілою до того часу, аж поки в 1987 році R. Palmer та співавт. [11, 12] не ідентифікували EDRF як оксид азоту (NO). Він утворюється з амінокислот L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази (NOS) [8, 10]. Відомо, що L-аргінін може бути використаний для корекції порушень судинної реактивності при змінах внутрішньосудинного тиску [3].

Судинорозширювальна дія EDRF зумовлена накопиченням циклічного 3',5'-гуанозинмонофосфату (цГМФ). ЦГМФ активізує протеїнкіназу і Ca^{2+}-АТФ-азу, сприяє дефосфорилюванню міозинових ланцюгів, зумовлює вихід Ca^{2+} із м'язових клітин, при цьому викликає розслаблення непосмугованих м'язів судин [13]. На даний час відомо, що утворення EDRF з аргініну має місце і в інших клітинах та тканинах [6, 14], у тому числі в тромбоцитах людини [15].

Нирки значною мірою залежать від функціонального стану ендотелію у зв'язку з наявністю величезного пулу ендотеліальних клітин, які є першим шаром на шляху ультрафільтрації клубочків. Тому можна припустити, що ендогенна NO-синтази відіграє важливу роль у регулюванні функції нирок.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проводили дослідження на 30 білих щурах-самцях лінії Vistar масою 120-130 г в гострому та хронічному експериментах (протягом 13 днів) при підшкірному введенні інгібітора NO-синтази – структурного аналога L-аргініну (L-NWNA) – з розрахунку 15 мг/кг маси тіла тварини в разі гострого експерименту і 3 мг/кг на добу при хронічному дослідженні. Функцію нирок вивчали в умовах водного діурезу, який індукували внутрішньошлунковим введенням води у кількості 0,5 % від маси тіла через 1 год після введення інгібітора.

© А.І. Гоженко – д.м.н., проф., Н.І. Куксань, І.В. Погоріла, 2002.

Діурез визначали через 2 год. У сечі вивчали концентрацію натрію (CNa) та калію (CK) методом фотометрії полум'я, креатиніну (Ccr) – за допомогою тестів фірми "Lachema", білок – рефрактометричним методом.

Функцію нирок оцінювали за виділенням ряду речовин із сечею. Розраховували екскрецію із сечею натрію, калію, титрованих кислот, аміаку, креатиніну за формулою [1]:

$$Ecr = Ccr \cdot V,$$

де Ccr – концентрація креатиніну в сечі;
V – діурез.

Оцінку кислотовидільної діяльності нирок проводили за концентрацією активних іонів водню (pH визначали на pH-метрі), екскрецією титрованих кислот та аміаку, вміст яких визначали титрометрично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Однократне введення інгібітора утворення ендогенного NO не змінювало величину водного діурезу і, судячи з незмінених показників виділення креатиніну, не впливало на швидкість клубочкової фільтрації (табл. 1).

Проте, ряд параметрів, які характеризують ниркові функції, змінювався достовірно. Особливо підвищувалось виділення натрію: майже в 7 разів зростала його концентрація в сечі й такою ж мірою збільшувалася екскрекція цього електроліту.

Зміни іонорегулювальної функції нирок торкались виключно регуляції натрієвого балансу, виділення калію залишилось на рівні контрольних величин. Виявлені відмінності, на фоні постійної екскреції креатиніну, свідчать про їх залежність від зменшення реабсорбції натрію в канальцях. Причому постійне виділення білка дозволяє думати про те, що канальці при цьому не пошкоджуються і зміни реабсорбції натрію мають регуляторний характер.

Одночасно було виявлено різку активацію кислотовидільної функції нирок: достовірно зменшувався pH сечі, збільшувались виділення та кліренс активних іонів водню, титрованих кислот та аміаку (табл. 2).

Збільшення кислотовиділення відбувалось за рахунок активації секреції активних іонів водню та аміаку. Виділення останнього було

Таблиця 1 – **Виділення креатиніну, калію і білка при водному діурезі після однократного введення NWNLA (M±m)**

Показник	Контроль, n=15	Дослід, n=15
Діурез, мл/2 год	4,08±0,17	3,84±0,16
Ccr, ммоль/л	1,19±0,12	1,29±0,09
Ecr, мкмоль/2 год	4,83±0,53	4,91±0,39
C білка, мг	0,120±0,005	0,140±0,006
E білка, мг/2 год	0,51±0,04	0,53±0,03
CNa^+, ммоль/л	0,44±0,06	3,14±0,78 p<0,002
ENa^+, мкмоль/2 год	1,78±0,30	11,99±2,98 p<0,002
CK^+, ммоль/л	8,30±1,56	6,80±1,09
EK^+, мкмоль/2 год	33,21±5,54	25,6±13,66

Примітка. p – ступінь достовірності відмінностей показників, порівняно з контролем;
n – кількість спостережень.

Таблиця 2 – **Стан кислотовидільної функції нирок при водному діурезі після однократного введення NWNLA (M±m)**

Показник	Контроль, n=15	Дослід, n=15
pH сечі	7,130±0,084	6,610±0,053 p<0,001
CH^+, мкмоль/л	0,086±0,016	0,260±0,034 p<0,001
EH^+, нмоль/2 год	0,360±0,075	1,00±0,12 p<0,001
ETK, мкмоль/2 год	32,19±6,96	57,90±5,84 p<0,01
ENH_3, мкмоль/2 год	123,30±13,80	161,07±10,55 p<0,05
ENH_3/ETK, ед	4,82±0,67	2,92±0,22

Примітка. p – ступінь достовірності відмінностей показників, порівняно з контролем;
n – кількість спостережень.

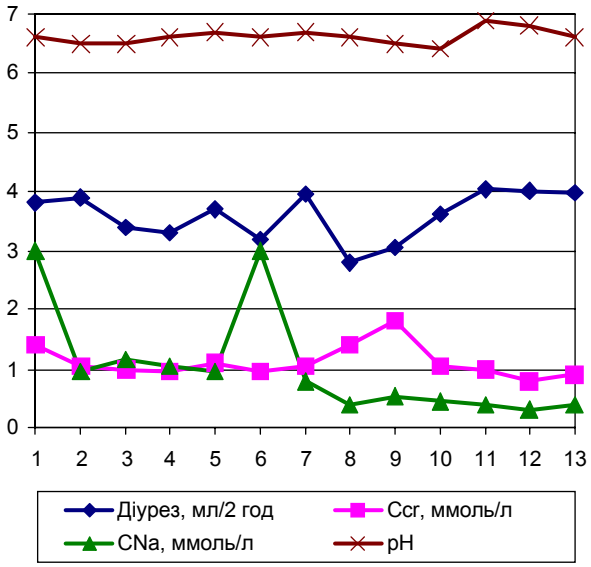


Рис. 1. Динаміка діурезу, Ccr, CNa, pH у щурів протягом 13 днів при підшкірному введенні L-NWNA.

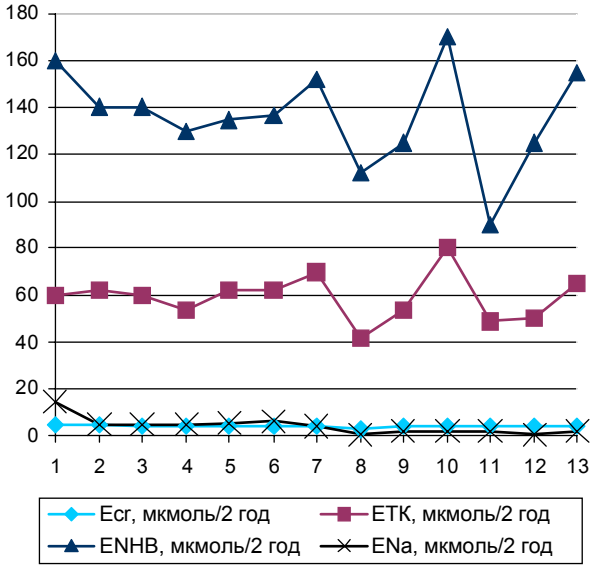


Рис. 2. Динаміка екскреції креатиніну, титрованих кислот, аміаку та натрію в дослідних тварин протягом 13 днів при підшкірному введенні L-NWNA.

найбільш інтенсивним, судячи з підвищення амонійного коефіцієнта.

Введення NWNLA протягом 13 днів також супроводжувалось зміною функції нирок. Діурез достовірно відрізнявся на 3-тю, 8-му та 9-ту добу ($p<0,001$), в інші дні він був майже однаковий або змінювався недостовірно. Концентрація креатиніну (Ccr) та його екскреція (Ecr) майже не змінювались за 13 днів, а це означає, що всі інші зміни, які було виявлено, відбувались не за рахунок фільтрації. Факту пошкодження клубочків нирок також не спостерігалось, оскільки білок у сечі майже не змінювався.

При введенні інгібітора синтезу оксиду азоту протягом 13 днів відбувались зміни іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок. Так, концентрація натрію (CNa), особливо на початку досліду, була вищою норми й у всіх випадках достовірно зростала. Аналогічно змінювалась ENa, особливо підвищуючись у перші дні й наприкінці експерименту. Меншою мірою змінювалось виділення калію. Концентрація калію в сечі достовірно зростала наприкінці дослідження, а решту днів незначно відрізнялася від контролю. Екскреція калію на 8-му і 9-ту добу в дослідних тварин достовірно зменшувалась. Отже, зміна іонорегулювальної функції нирок стосується в основному тільки натрію.

Після введення інгібітора виділяється кисла сеча, pH за весь період спостережень має достовірно менші значення в дослідних тварин, порівняно з контрольною групою. Відносно титрованих кислот, то сеча має тенденцію до збільшення їх вмісту, але достовірність існує тільки в окремі дні. Екскреція аміаку змінюється по-різному. Вона може як зростати, так і зменшуватись протягом дослідження. Так, на 1-й, 10-й та 13-й день даний показник з достовірністю зростає, а на 8-й – знижується (рис. 1 і 2).

ВИСНОВОК. З 1-го по 14-й день введення інгібітор NO-синтази, змінюючи вироблення NO, змінює функцію нирок. Дані процеси реалізуються на рівні канальцевої реабсорбції та активації секреції, не залежать від пошкодження і пов'язані з регуляторними процесами синтезу NO. Можливо, зменшення продукції NO в ендотелії викликає звуження судин та зменшення внутрішньосудинного об'єму. Закономірною реакцією при цьому є збільшення екскреції натрію внаслідок включення волюморегуляторної системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Наточин Ю.В. Физиология почки. Формулы и расчеты. – Л.: Наука, 1974. – 60 с.

2. Сагач В.Ф., Киндыбалюк А.М. О роли эндотелия в развитии функциональной гиперемии скелетных мышц // Бюл. эксперим. биол. – 1991. – **112**, № 11. – С. 453-456.

3. Сагач В.Ф., Соловйов А.І., Базилюк О.В. та ін. Ендотелійзалежні судинні реакції у кроликів під

час тривалої експериментальної гіперхолистеринемії // Фізіол. журн. – 1994. – **40**, № 2. – С. 73-82.

4. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н., Дмитриева А.В. О роли эндотелия в реакции реактивной гиперемии коронарных сосудов // Докл. АН СССР. – 1989. – **307**, № 3. – С. 765-767.

5. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide:a physiologic messengers // New Engl. J. Med. – 1986. – **315**. – P. 1046-1051.

6. Marletta M.A., Yoon P.S., Jvengar K. et al. Role of nitric oxide in the digestive systems // Biochem. – 1989. – **27**. – P. 8706-8711.

7. Moncada S., Higgs A. Mechanisms of disease: the L-arginine – nitric oxide pathway // New Engl. J. Med. – 1993. – **329**. – P. 2002-2012.

8. Myers P.M., Minor R.L., Gucrra R. et al. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // Nature. – 1990. – **345**. – P. 161-163.

9. Nakaki T. Physiological and clinical significance of NO (nitric oxide) – a review // Keio J. Med. – 1994. – **43**. – P. 15-26.

10. Omar H.A., Figueroa R., Tejani N. et al. Mechanisms of disease the L-arginine-nitric oxide pathway // Amer. J. Obstet. Gynecol. – 1993. – **169**, № 4. – P. 912-914.

11. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Role of nitric oxide in glomerular arterioles and macula densa // Nature. – 1987. – **327**. – P. 524-526.

12. Palmer R.M.J., Ashton D.S. Moncada S. Endoteline et rein // Ibit. – 1988. – **333**. – P. 664-666.

13. Petros A., Bennet D., Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension with septic shock // Lancet. – 1991. – **338**. – P. 1557-1558.

14. Polacions M., Knowles R.O., Palmer R.M. et al. Nitric oxide a physiologic messengers // Biochem., Biophys. Res. Commun. – 1989. – **165**. – P. 802-809.

15. Radomski M.W., Palmer R.M., Moncada S. The role of nitric oxide in the central control of blood pressure // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – **87**. – P. 5193-5197.

16. Snyder S.H. Janus faces of nitric oxide // Nature. – 1993. – **364**. – P. 577.

17. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S. et al. Role of nitric oxide in glomerular arterioles and macula densa // Nature. – 1988. – **332**. –P. 411-415.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БЛОКАДЕ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА У КРЫС

А.И. Гоженко, Н.И. Куксань, И.В. Погорелая
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В работе приведены данные исследований на белых крысах-самцах линии Vistar массой 120-130 г воздействия ингибитора NO-синтазы – структурного аналога L-аргинина (L-NWNA) – на функциональное состояние почек. Выяснено, что с 1-го по 14-й день исследований L-NWNA, изменяя выработку NO, изменяет функцию почек. Данные процессы реализируются на уровне канальцевой реабсорбции и секреции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **оксид азота, почки, экскреция натрия, канальцевые процессы.**

FUNCTIONAL CONDITION OF KIDNEYS AT CHRONIC BLOCKADE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS IN RATS

A.I. Hozhenko, N.I. Kuksan', I.V. Pohorila
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The work presents the investigational data of NO-synthase inhibitor (the structural analog of L-arginine (L-NWNA)) effect on the functional condition of the kidneys on the white rat males of Vistar line with body mass 120-130 g. From the 1-st to the 14-th day of the experiments L-NWNA was ascertained to change the renal function, changing NO producing.

KEY WORDS: **nitric oxide, kidneys, nitrogen excretion, pathway processes.**

Отримано 21.10.2002 р.

Адреса для листування: *Н.І. Куксань, вул. Довженка, 9а, гурт. 6, к. 822, Одеса, 65058, Україна.*

УКД 616.48/185.848

ВПЛИВ ФЛУРЕНІЗИДУ НА ВМІСТ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЖІНОК З ФАКТОРАМИ РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ

Т.В. Кравець
РІВНЕНСЬКИЙ ОБЛАСНИЙ КЛІНІЧНИЙ ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНИЙ ЦЕНТР

При обстеженні 138 породілей з факторами ризику виникнення післяпологових гнійно-септичних захворювань, які проживають більше 5 років у зоні з незначним радіаційним забрудненням, виявлено, що в них підвищений вміст загальних фракцій молекул середньої маси (МСМ). Після операції кесаревого розтину в цих жінок відбувається значне зростання загальних фракцій МСМ і спостерігається різниця співвідношення між ними. Введення флуренізиду в комплекс лікувальних заходів достовірно знижує вміст МСМ та нормалізує їх фракційний склад.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **кесарів розтин, гнійно-запальні ускладнення, молекули середньої маси, флуренізид.**

ВСТУП. Гнійно-запальні захворювання після операції кесаревого розтину є однією з найактуальніших проблем в акушерстві. У структурі материнської захворюваності та смертності гнійно-септичні ускладнення, як і раніше, стійко утримують одне з провідних місць, причому, якщо в структурі материнської смертності вони становлять 8-15 %, займаючи за частотою 3-4 місця, то в структурі материнської захворюваності – 1-2 місця [5, 6, 7, 13].

Відомо, що багато патологічних станів супроводжується підвищенням вмісту в плазмі крові молекул середньої маси (МСМ) [2, 8, 9, 10, 11, 12]. Виходячи з цього, ми поставили перед собою мету дослідити концентрацію МСМ у жінок з факторами інфекційного ризику, які тривалий час проживають на радіаційно забруднених територіях, та можливість корекції рівня МСМ у післяопераційний період за допомогою профілактичного застосування флуренізиду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 138 жінок, які проживають у зоні з незначним радіаційним забрудненням. Їх було поділено на 4 групи: I (контрольна) – 25 здорових породілей після фізіологічних пологів, які проживають на незабрудненій території; II – 30 породілей після операції кесаревого розтину, які не мали факторів ризику виникнення інфекційних ускладнень і проживали на радіаційно незабруднених територіях; III – 42 породіллі після кесаревого розтину з факторами ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, які отримували загальновизнану превентивну терапію; IV – 41 породілля з факторами ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, які одержували загальновизнану превентивну терапію в комплексі із застосуванням протимікробного препарату флуренізиду (по 0,3 г у вигляді таблеток 3 рази на добу протягом 6-8 днів, починаючи з 2-3 дня післяопераційного періоду).

У динаміці (до пологів, на 1-2, 5-6 доби після фізіологічних пологів та на 1-2, 9-10 доби після операції кесаревого розтину) в отриманій плазмі крові визначали вміст МСМ після осадження білків 30 % розчином трихлороцтової кислоти з подальшою детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжині хвилі 254 нм ($МСМ_1$, визначаються ланцюгові амінокислоти) та 280 нм ($МСМ_2$ – ароматичні амінокислоти) [4]. Для одержання окремих фракцій МСМ 2 мл плазми фракціонували на колонці з сефадексом G-15 (47х1,8 см) зі швидкістю 44 мл/год 0,02 М оцтовою кислотою; об'єм однієї фракції складав 3 мл. Оптичну густину визначали при довжині хвилі 254 і 280 нм. Вміст МСМ виражали в умовних одиницях екстинкції. Отримані фракції групували залежно від показників екстинкції (об'єднані фракції) [11].

© Т.В. Кравець, 2002.

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено (табл. 1), що в жінок контрольної групи загальний вміст МСМ до пологів був достовірно нижчим, ніж у тих, які мали фактори ризику виникнення гнійно-запальних захворювань. Варто відмітити, що жінки, які проживали на радіаційно забруднених територіях і в яких були відсутні фактори ризику, також мали вищий рівень $МСМ_2$, порівняно з контрольною групою. При дослідженні виділених фракцій МСМ у допологовий період нами не виявлено суттєвої різниці між досліджуваними групами.

На 1-2 добу післяпологового періоду в породілей без факторів ризику (I група) ми відмітили незначне зростання вмісту загальних фракцій МСМ, яке, однак, достовірно не відрізнялось від допологового періоду. У фракційному складі МСМ зафіксовано суттєве зростання в ділянці фракцій 16-18 (рис. 1). За даними ряду авторів [1, 3], серед фракцій МСМ є й такі, які мають антиоксидні, аналгезивні властивості, проявляють антистресорну дію. Це, на наш погляд, і може бути причиною змін фракційного складу в жінок у ранній післяпологовий період. До 6-ї доби як кількісний вміст МСМ, так і їх фракційна характеристика були такими ж, як і до пологів.

Дослідження загальних фракцій МСМ у жінок без факторів ризику, які проживали на радіаційно забруднених територіях, показало, що вміст їх у ранній післяопераційний період достовірно зростав і перевищував аналогічні показники до операції, відповідно, на 95 та 89 %, що можна вважати наслідком надходження продуктів катаболізму, зумовленим оперативним втручанням та стрес-реакцією. Спостерігалась різниця і в їх фракційному складі – знижувався вміст фракцій 7-10, зростали фракції 16-19, з'явився додатковий пік у фракціях 13-15. На 9-10 добу післяопераційного періоду вміст загальних фракцій МСМ та їх фракційний склад у жінок даної групи наближалися до показників, які були перед операцією.

У породілей з факторами ризику, яким проводили традиційне лікування, у ранній післяопераційний період нами зафіксовано різке зростання вмісту МСМ. Так, на 1-2 добу показник екстинкції при довжині хвилі 254 нм зростав у 3,5, а при 280 нм – у 4 рази, порівняно з результатами, отриманими до пологів. Ці показники були також достовірно вищими, ніж у контрольній групі жінок. Суттєві відмінності зафіксовано і при дослідженні фракцій МСМ. Значно знижувались показники високомолекулярних фракцій 6-10, проте зростали показники низькомолекурних фракцій. На 9-10 добу після операції вміст МСМ дещо знижувався, однак показники все ж достовірно відрізнялись від аналогічних параметрів контрольної групи. Це ж стосується і фракційного складу.

У групі жінок з факторами ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень, яким, поряд із традиційним лікуванням, вводили ще й флуренізид, нами відмічено нормалізацію вмісту обох фракцій МСМ на 9-10 добу після операції. Фракційний склад МСМ наближався до того, який спостерігався до операції.

Таким чином, введення флуренізиду у комплекс лікувальних заходів, які проводять

Таблиця 1 – **Вміст загальних фракцій МСМ у плазмі крові породіль після операції кесаревого розтину (M±m)**

Довжина хвилі, нм	Здорові породіллі, n=25			Породіллі після кесаревого розтину без факторів ризику, n=30			Породіллі після кесаревого розтину з факторами ризику, які отримували загальновизнану терапію, n=42			Породіллі після кесаревого розтину з факторами ризику, які отримували загальновизнану терапію+ флуренізид, n=41		
	Місце проживання											
	Незабруднена територія						Територія з радіаційним забрудненням					
	до пологів	1-2 доба після пологів	5-6 доба після пологів	до операції	1-2 доба після операції	9-10 доба після операції	до операції	1-2 доба після операції	9-10 доба після операції	до операції	1-2 доба після операції	9-10 доба після операції
254	0,36± 0,06	0,72± 0,07**	0,43± 0,05	0,42± 0,06	0,82± 0,07**	0,49± 0,03	0,60± 0,10*	2,10± 0,17**	1,63± 0,13**	0,61± 0,07*	2,08± 0,16**	0,57± 0,06
280	0,42± 0,05	0,79± 0,08**	0,51± 0,05	0,58± 0,09*	1,09± 0,09**	0,52± 0,05	1,08± 0,08*	4,32± 0,35**	2,73± 0,16**	1,05± 0,09*	4,11± 0,32**	0,54± 0,04

Примітки. 1. * – різниця достовірна, порівняно зі здоровими жінками до пологів;
2. ** – різниця достовірна відносно показників допологового періоду.

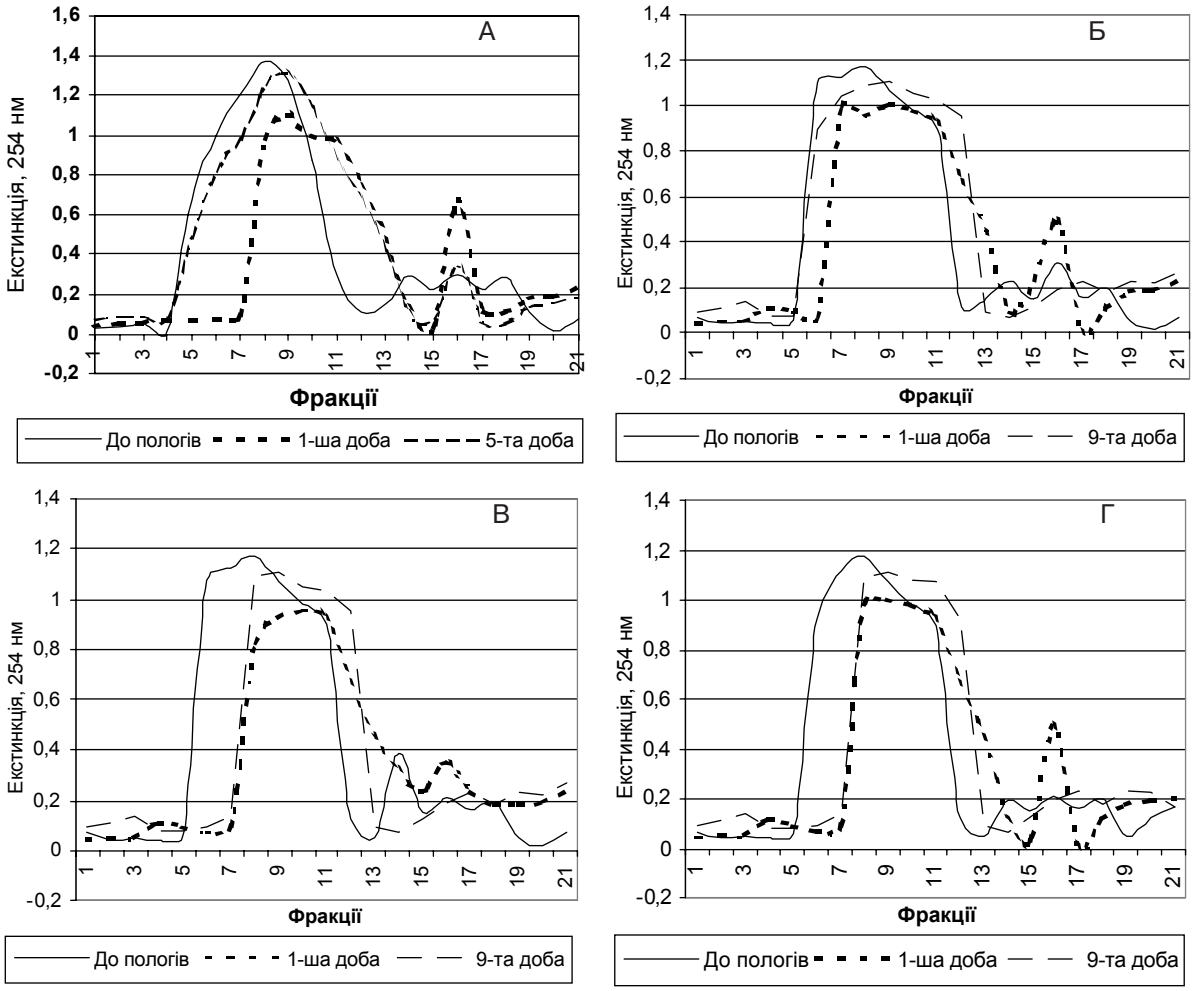


Рис. 1. Співвідношення фракцій МСМ до пологів та в післяпологовий період: А – здорові жінки; Б – жінки без факторів ризику, які проживали на радіаційно забрудненій території; В – жінки з факторами ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, яким проводили традиційну терапію; Г – жінки з факторами ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, яким, крім традиційної терапії, вводили флуренізид.

породіллям, що мають фактори ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, сприяло нормалізації вмісту МСМ та їх фракційного складу.

ВИСНОВКИ. 1. Після операції кесаревого розтину в жінок, які проживають у зонах радіоактивного забруднення і мають фактори ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, спостерігаються значне зростання вмісту МСМ та зміна їх фракційного складу.

2. Включення флуренізиду до традиційної превентивної терапії дозволяє знизити рівень МСМ та нормалізувати їх фракційний склад.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вальдман Б.М., Волчегорский И.А., Лифшиц Р.И. Влияние среднемолекулярных пептидов крови собак здоровых и с ожогами на проницаемость гематоэнцефалического барьера // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1985. – № 2. – С. 3-11.

2. Власова Л.И., Куликова Н.И., Смекуна Ф.А. Определение уровня среднемолекулярных пептидов у беременных с гестозом // Вопр. охр. матер. – 1990. – **35**, № 10. – С. 19-212.

3. Волчегорский И.А., Вальдман Б.М., Собелева И.А. Анальгетические и антистрессорные эффекты среднемолекулярных пептидов в норме и при термических ожогах // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1991. – № 3. – С. 44-47.

4. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Жигалкин В.Н. Определение средних молекул у больных в условиях гемодиализной терапии // Тер. арх. – 1983. – **5**, № 11. – С. 107-110.

5. Кирковский В.В., Николайчик В.В., Пилотович В.С. Содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови при острой почечной недостаточности // Здравоохр. Белор. – 1986. – № 10. – С. 31-35.

6. Колочун Г.В. Профілактика гнійно-септичних ускладнень після операції кесаревого розтину у

жінок групи ризику // Пед., акуш. і гінекол. – 1999. – № 1. – С. 93-95.

7. Лифшиц Р.И., Вальдман Б.М. Волчегорский И.А., Лужевский А.С. Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах // Бюл. эксперм. биол. – 1986. – **101**, № 3. – С. 280-282.

8. Ничик А.З. Ендогенна інтоксикація у вагітних і породіль після операції кесаревого розтину з факторами ризику виникнення гнійно-запальних захворювань // Міжнародна конференція "Актуальні питання морфології". – Тернопіль, 1996. – С. 376-377.

9. Салихова И.И., Ахмеджанов Р.И., Мухамедиева О.Г., Сахибов А.Д. Количественный метод определения среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови больных с хронической почечной недостаточностью // Лаб. дело. – 1989. – № 3. – С. 48-52.

10. Содержание среднемолекулярных пептидных фракций в плазме крови больных хроническим алкоголизмом // Здравоохр. Белор. – 1990. – № 1. – С. 19-21.

11. Туряница И.М., Федорович Т.М., Туряница С.М. Фракции средних молекул сыворотки у крыс при токсическом гепатите // Укр. биохим. журн. – 1987. – **59**, № 33. – С. 82-84.

12. Funk-Bretano J.I., Man N.K., Sause A. Neuropathy and "middle molecular toxine" // Kidney Intern. – 1975. – № 7. – P. 352-356.

13. Libombo A., Folgosa E., Berdstron S. Risk factors in puerperal endometritis-myometritis, an incident case referent study // Gynec. Obst. Invest. – 1994. – **38**, № 3. – P. 198-205.

ВЛИЯНИЕ ФЛУРЕНИЗИДА НА СОДЕРЖАНИЕ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С ФАКТОРАМИ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ

Т.В. Кравец
РОВЕНСКИЙ ОБЛАСНОЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

Резюме

При обследовании 138 рожениц с факторами риска возникновения послеродовых гнойно-септических заболеваний, которые проживают больше 5 лет в зоне с незначительным радиационным загрязнением, выявлено, что у них повышено содержание общих фракций МСМ. После операции кесарева сечения у этих женщин происходит значительное возрастание общих фракций МСМ и наблюдается разница соотношения между ними. Введение флуренизида в комплекс лечебных мероприятий достоверно снижает МСМ и нормализует их фракционный состав.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **кесарево сечение, гнойно-воспалительные осложнения, молекулы средней массы, флуренизид.**

THE INFLUENCE OF FLURENIZIDE ON THE CONTENT OF MEDIUM MASS MOLECULES IN WOMEN WITH PRESENCE OF RISK FACTORS OF INFECTIOUS COMPLICATIONS AFTER THE OPERATION OF CESAREAN SECTION

T.V. Kravets
RIVNE REGIONAL CLINICAL MEDICO-PROPHYLACTIC CENTRE

Summary

At examination of 138 parturient women with presence of risk factors of afterbirth purulent-septic diseases, living more than 5 years in the zone with insignificant radioactive pollution, was found, that they have raised content of common medium mass molecules (MMM) fractions. After the operation of Cesarean section a considerable shift of MMM common fractions as well as the difference of correlation between them was observed. The administration of Flurenizide in addition to a complex of medical measures reliably reduces MMM content and normalizes their fractional composition.

KEY WORDS: **cesarean section, purulent-inflammatory complications, molecules of medium mass, flurenizide.**

Отримано 16.01.2002 р.

Адреса для листування: *Т.В. Кравець, вул. Зелена, 18, Сарни, Рівненська обл., Україна.*

УДК 616.127-007.17:577.175.522-02:612.015.11/.396]-092.9

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ГЛІКОЛІЗУ, ПОЛ ТА АОС У САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ З АДРЕНАЛІНОВОЮ МІОКАРДІОДИСТРОФІЄЮ

М.Р. Хара

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Ін'єкція кардіотоксичної дози адреналіну зумовлює загибель частини тварин. Смертність самців в 3 рази більша, ніж самок. Розвитку адреналінових некрозів в міокарді властиве інтенсивне нагромадження продуктів гліколізу та ПОЛ в шлуночках щурів-самців. Стан АОС характеризується раннім збільшенням кількості -SH-груп в самок та активності каталази в самців. У період максимального некрозоутворення активність АОС у самців і самок не відрізняється. Більш виражена в самців активація ПОЛ та гліколізу сприяє значному пошкодженню міокарда.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **адреналін, міокардіодистрофія, гліколіз, перекисне окиснення ліпідів, антиоксиданти.**

ВСТУП. В умовах дії стресорного агента важливим патогенетичним ланцюгом пошкодження різних органів, зокрема серця, є інтенсивність гліколітичних та окиснювальних процесів. Наукових даних про особливості метаболізму міокарда при його пошкодженні багато, проте мало вивчено статевий аспект цієї проблеми. Метою даної роботи було вивчити особливості гліколітичних та ПОЛ-процесів в міокарді тварин різної статі за умов його пошкодження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 96 самцях та 96 самках лінії Вістар масою 170-230 г. Внутрішньом'язовим уведенням 0,1 % розчину адреналіну (1 мг/кг) викликали некротичні зміни в серці, моделюючи адреналінову міокардіодистрофію (АМД). Кров, міокард передсердь і шлуночків досліджували на 1 та 24 години АМД, що відповідає початку та максимуму процесу некрозоутворення. Рівень молочної (МК) та піровиноградної (ПВК) кислот вивчали за методом [1, 4], вміст МДА і ДК – за методом [5, 6], активність каталази – за [3], концентрацію -SH-груп – за методом [7]. Статистичну обробку даних проводили за методом Фішера-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення кардіотоксичної дози адреналіну викликало загибель частини тварин на 1 годині досліду. Самці гинули в 32,9 %, а самки – в 14,8 % випадків. Визначення рівня МК (табл. 1) показало, що концентрація її в крові контрольних самців була на 30,4 % більшою, ніж у самок. На 1 годині АМД відбулося зростання рівня МК: у крові самців – на 46,0 %, в передсердях – на 30,4 %, в шлуночках – в 2,1 раза. В організмі самок приріст становив, відповідно, 61,6, 50,6 і 86,4 %. 24 година АМД характеризувалась подальшим нагромадженням МК в усіх тканинах, зокрема в крові самців її рівень зріс проти контролю в 2,7, в передсердях – в 2,2, в шлуночках – в 2,7 раза. Нагромадження МК в тканинах самок було менш виражене. Визначення рівня ПВК (табл. 1) довело переважання її в крові інтактних самок та передсердях самців. На 1 годині АМД спостерігали збільшення рівня ПВК: у крові самців – на 58,0 %, в передсердях – на 32,3 %, в шлуночках – на 22,1 %, в самок змін не було. Через добу спостереження рівень ПВК в крові самців зменшився, але на 41,1 % переважав контрольний показник, в передсердях при аналогічній динаміці відмінність становила 16,2 %, в шлуночках рівень ПВК продовжував зростати і переважав контрольний на 28,6 %. Через 24 год з моменту розвитку АМД рівень ПВК зростав в передсердях (на 42,3 %) і шлуночках (на 26,4 %) самок. Порівняння динаміки показників показало, що суттєве збільшення рівня ПВК в шлуночках самців відбулося вже на 1 годині АМД, а в самок – лише через добу. Наведені дані свідчать про те, що спровокована адреналіном стимуляція гліколітичних процесів більше виражена в міокарді самців. Це, очевидно, є відображенням

© М.Р. Хара – к.м.н., 2002.

інтенсивнішої роботи серця і підвищеної енергетичної потреби для її забезпечення.

За рівнем ДК і МДА (табл. 2) контрольні тварини не відрізнялись. Розвиток АМД спричинив збільшення ДК в шлуночках самців на 30,2 %, самок – на 22,1 % та МДА відповідно на 58,7 і 38,9 %. Аналіз стану антиоксидної системи (АОС) показав, що статевої відмінності в рівні –SH-груп та активності каталази в шлуночках не було. Розвиток АМД супроводжувався зростанням концентрації -SH-груп в самок на 49,1 % вже на 1 годині, а в самців – на 17,2 % лише через добу. Процес некротизування міокарда шлуночків зумовив збільшення активності каталази на 1 годині експерименту на 80,0 % в самців і на 47,4 % в самок. Через 24 год відмінність від контрольних цифр становила у самців 79,8 %, в самок – 61,2 %. Вивчення стану АОС у самців і самок показало, що ефект раннього зростання рівня -SH-груп в міокарді самок є позитивним явищем, яке сприяло сповільненню нагромадження продуктів ПОЛ в умовах розвитку АМД. На етапі максимального некрозоутворення нижчий рі-

Таблиця 1 – **Показники гліколізу в самців і самок в умовах розвитку адреналінової міокардіодистрофії**

Показник	Вид тканини	Контроль		1 година АМД		24 година АМД	
		Самці n=8	Самки n=8	Самці n=8	Самки n=8	Самці n=8	Самки n=8
ПВК, мкмоль/л	кров	2,31± 0,16 1	3,07± 0,25 4	3,65± 0,11 2	2,61± 0,15 5	3,26± 0,01 3	2,56± 0,10 6
мкмоль/кг	перед-сердя	0,68± 0,03 7	0,52± 0,03 10	0,90± 0,07 8	0,52± 0,02 11	0,79± 0,04 9	0,74± 0,01 12
мкмоль/кг	шлуночки	0,77± 0,03 13	0,72± 0,05 16	0,94± 0,05 14	0,75± 0,05 17	0,99± 0,041 15	0,91± 0,04 18
МК, мкмоль/л	кров	1,28± 0,06 19	0,98± 0,05 22	1,86± 0,08 20	1,58± 0,06 23	3,42± 0,10 21	2,16± 0,05 24
мкмоль/кг	перед-сердя	1,20± 0,07 25	1,09± 0,05 28	1,57± 0,07 26	1,64± 0,08 29	2,65± 0,06 27	2,15± 0,06 30
мкмоль/кг	шлуночки	1,08± 0,09 3 1	0,88± 0,06 34	2,26± 0,09 32	1,64± 0,06 35	2,90± 0,11 33	2,15± 0,07 36

Примітка. $P_{1-2}<0,001$; $P_{2-3}<0,01$; $P_{1-3}<0,001$; $P_{1-4}<0,02$; $P_{2-5}<0,001$; $P_{3-6}<0,01$; $P_{7-8}<0,02$; $P_{8-9}<0,02$; $P_{7-9}<0,05$; $P_{10-12}<0,001$; $P_{11-12}<0,001$; $P_{7-10}<0,02$; $P_{8-11}<0,001$; $P_{13-14}<0,01$; $P_{13-15}<0,001$; $P_{16-18}<0,02$; $P_{13-16}<0,01$; $P_{14-17}<0,02$; $P_{19-20}<0,001$; $P_{20-21}<0,001$; $P_{19-21}<0,001$; $P_{22-23}<0,001$; $P_{23-24}<0,001$; $P_{22-24}<0,001$; $P_{19-22}<0,02$; $P_{20-23}<0,01$; $P_{21-24}<0,001$; $P_{25-26}<0,01$; $P_{26-27}<0,001$; $P_{25-27}<0,001$; $P_{28-29}<0,001$; $P_{29-30}<0,001$; $P_{28-30}<0,001$; $P_{27-30}<0,001$; $P_{31-32}<0,001$; $P_{31-33}<0,005$; $P_{34-35}<0,001$; $P_{35-36}<0,001$; $P_{34-36}<0,001$; $P_{32-35}<0,001$; $P_{33-36}<0,001$.

Таблиця 2 – **Показники ПОЛ та АОС у самців і самок в умовах розвитку адреналінової міокардіодистрофії**

Показник	Вид тканини	Контроль		АМД 1 год		АМД 24 год	
		Самці n=8	Самки n=8	Самці n=8	Самки n=8	Самці n=8	Самки n=8
ДК, відн. од.	міокард шлуночків	209,8± 3,9 37	207,2± 5,8 40	253,1± 5,7 38	228,6± 5,8 41	273,2± 4,5 39	253,1± 4,9 42
МДА, мкмоль/кг	плазма	2,57± 0,12 43	2,46± 0,15 46	3,41± 0,12 44	2,96± 0,05 47	4,46± 0,17 45	3,64± 0,13 48
	міокард шлуночків	3,58± 0,16 49	3,31± 0,17 52	4,36± 0,19 50	4,17± 0,15 53	5,68± 0,22 51	4,60± 0,10 54
-SH-групи, ммоль/кг	передсердя	0,98± 0,05 55	0,84± 0,04 58	1,02± 0,04 56	1,04± 0,05 59	1,33± 0,07 57	1,17± 0,07 60
	шлуночки	1,27± 0,08 61	1,16± 0,08 64	1,51± 0,09 62	1,73± 0,07 65	1,77± 0,12 63	1,74± 0,09 66
Каталаза, кат/кг	кров	17,68± 0,84 67	17,47± 0,65 70	25,08± 1,77 68	24,85± 1,55 71	34,62± 1,97 69	34,99± 1,97 72
	передсердя	15,96± 0,79 73	14,49± 0,60 76	20,03± 0,82 74	17,47± 0,85 77	21,92± 0,84 75	21,57± 0,60 78
	шлуночки	16,77± 0,45 80	16,53± 0,57 83	23,05± 1,20 81	24,36± 0,94 84	30,16± 1,01 82	27,72± 1,31 85

Примітка. $P_{38-39}<0,02$; $P_{37-39}<0,001$; $P_{40-41}<0,02$; $P_{41-42}< 0,01$; $P_{40-42}<0,001$; $P_{38-41}<0,01$; $P_{39-42}<0,01$; $P_{43-44}<0,05$; $P_{44-45}<0,001$; $P_{43-45}<0,001$; $P_{46-47}<0,01$; $P_{47-48}<0,001$; $P_{46-48}<0,001$; $P_{44-47}<0,01$; $P_{45-48}<0,002$; $P_{49-50}<0,01$; $P_{50-51}<0,001$; $P_{49-51}<0,001$; $P_{52-53}<0,002$; $P_{52-54}<0,001$; $P_{51-54}<0,001$; $P_{67-68}<0,002$; $P_{68-69}<0,01$; $P_{67-69}<0,001$; $P_{70-71}<0,001$; $P_{71-72}<0,001$; $P_{70-73}<0,001$; $P_{73-74}<0,01$; $P_{73-75}<0,001$; $P_{76-77}<0,02$; $P_{77-78}<0,002$; $P_{76-78}<0,001$; $P_{74-77}<0,05$; $P_{80-82}<0,001$; $P_{81-82}<0,001$; $P_{80-82}<0,001$; $P_{83-84}<0,001$; $P_{84-85}<0,02$; $P_{83-85}<0,001$; $P_{56-57}<0,002$; $P_{55-57}<0,001$; $P_{58-59}<0,01$; $P_{58-60}<0,001$; $P_{55-58}<0,05$; $P_{61-63}<0,01$; $P_{64-65}<0,001$; $P_{64-66}<0,001$

вень продуктів ПОЛ в самок при відсутній відмінності в активності механізмів антиоксидного захисту можна пояснити ще й захисним впливом естрогенів [2].

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток некротично-дистрофічного процесу в серці тварин різної статі супроводжується інтенсивнішим нагромадженням продуктів гліколізу та ПОЛ в міокарді самців.

2. Активність АОС характеризується раннім зростанням концентрації -SH-груп в самок, а активності каталази – в самців при відсутності відмінностей між тваринами в пік некрозоутворення.

3. Інтенсивніше нагромадження продуктів гліколізу та ПОЛ в міокарді самців свідчить про більш значний, порівняно із самками, пошкоджуючий вплив кардіотоксичної дози адреналіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Анищенко Т.Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Усп. совр. биол. – 1991. – **111**, № 13. – С. 460-475.

2. Караченцев А.Н., Шварц Г.Я., Кукес В.Г. Эстрогены и инфаркт миокарда // Пробл. эндокринол. – 1998. – № 6. – С.49-54.

3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 35-38.

4. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен. – Ленинград: Издательство ЛГУ, 1982. – 271 с.

5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии. – Москва: Медицина, 1977. – С. 66-68.

6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой коньюгации ненасыщенных высших жирных кислот // В кн.: Современные методы в биохимии. – Москва: Медицина, 1977. – С. 63-64.

7. Ellman G.I. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – **82**. – P. 70-77.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЛИКОЛИЗА, ПОЛ И АОС У САМЦОВ И САМОК КРЫС С АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОДИСТРОФИЕЙ

М.Р. Хара

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОБАЧЕВСКОГО

Резюме

Иньекция кардиотоксической дозы адреналина вызывает гибель части животных. Смертность самцов в 3 раза больше, чем самок. Развитию адреналиновых некрозов в миокарде свойственно более интенсивное нагромаждение продуктов гликолиза и ПОЛ в желудочках крыс-самцов. Состояние АОС характеризируется ранним увеличением количества -SH-групп у самок и активности каталазы у самцов. В период максимального некрозообразования активность АОС у самцов и самок не отличается. Более выраженная у самцов активация ПОЛ и гликолиза способствует значительному повреждению миокарда.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **адреналин, миокардиодистрофия, гликолиз, перекисное окисление липидов, антиоксиданты.**

GLYCOLYSIS, POL AND AOS INDICES DINAMICS OF FEMALE AND MALE RATS WITH ADRENAL MYOCARDIODYSTROPHY

M.R. Khara

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Injection of adrenalin cardiotoxic dosage causes the death of some part of animals. Mortality in the group of males was 3 times higher than in the females one. Development of adrenal necrosis in myocardium is characterized by higher level of glycolysis and POL's products accumulation in ventricles of males. State of AOS is characterized by primary increasing of females quantity of -SH-groups and males activity of catalase. There is no difference between AOS activity of males and females during the maximum necroformative period. Higher level of males POL and glycolysis activity causes more intensive damage of myocardium.

KEY WORDS: **adrenalin, myocardiodystrophy, lipid peroxidation, antioxidants.**

Отримано 05.06.2002 р.

Адреса для листування: *М.Р. Хара, кафедра патологічної фізіології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 615.015; 615.212.7

ФАРМАКОДИНАМІКА ПІРОДАЗОЛУ ТА ПАРАЦЕТАМОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ф.П. Трінус, Т.А.Бухтіарова, О.Є. Ядловський, В.С. Хоменко, Т.В. Шатиркіна, Т.А. Бершова, З.П. Омельяненко, І.Л. Сопіна
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Було досліджено в порівняльному аспекті аналгезивну активність нового неопіоїдного аналгетика піродазолу та парацетамолу при ентеральному шляху введення у тварин на моделях ноцицептивної стимуляції "оцтовокислі корчі" та "гаряча пластина". Результати показали розбіжності у тривалості знеболювання та силі аналгезивної активності аналгетиків, що вивчаються.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **аналгетик, аналгезія, піродазол, парацетамол, біль.**

ВСТУП. Біль є однією з найбільш розповсюджених патологій. Останні клінічні та експериментальні дані дозволяють говорити про те, що він у ряді випадків стає самостійною нозологічною одиницею [3]. Тому створення та впровадження у медичну практику нових неопіоїдних аналгезивних препаратів і оптимізація їх застосування з урахуванням фармакодинаміки є одним з актуальних завдань сучасної медицини. Піродазол – новий ненаркотичний аналгетик, який є похідним піролоімідазолу. Метою цього дослідження було порівняти аналгезивну активність піродазолу з аналгезивною активністю одного з найбільш поширених у медичній практиці ненаркотичних аналгетиків – парацетамолу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 54 щурах-самках лінії Wistar масою тіла (200±50) г розведення віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Піродазол та парацетамол вводили тваринам внутрішньошлунково у вигляді емульсії, використовуючи як емульгатор твін-80. Піродазол та парацетамол вводили щурам у наступних дозах: 1,6 мг/кг на моделі "гаряча пластина" та 3 мг/кг на моделі "оцтовокислі корчі" для піродазолу, 90 мг/кг на моделі "гаряча пластина" та 92 мг/кг на моделі "оцтовокислі корчі" для парацетамолу. В дослідах використовували піродазол синтезований д.х.н. А.М. Демченко, (Чернігівський педагогічний Інститут та субстанцію парацетамолу (ВАТ "Дарниця").

Хімічне ноцицептивне подразнення (модель "оцтовокислі корчі") моделювали згідно з [7].

Миші внутрішньочеревно вводили 0,5 % розчин оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10 г тіла. Через 5 хв після цього протягом 10 хв реєстрували кількість корчів (судомних скорочень очеревинних м'язів), що супроводжуються прогинанням спини і витягуванням задніх кінцівок. Аналгетичну дію оцінювали шляхом порівняння кількості корчів у тварин контрольної і дослідної груп.

Hot plate (модель "гаряча пластина" – термічне подразнення) моделювали згідно з [6].

Тварину поміщали на скляну пластину з температурою 55 °С (температуру підтримували за допомогою термостата). Показником аналгезії було подовження латентного періоду перед появою оборонної реакції (облизування задньої лапки) порівняно з контролем.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Парацетамол (ацетамінофен) є одним із найбільш широко застосовуваних аналгетиків. За своїми властивостями він близький до піродазолу: має слабку протизапальну дію, погано розчиняється у воді тощо. Парацетамол застосовується при болю різноманітного генезу (головному, зубному, ниркових і печінкових коліках та ін.), а також при простудних захворюваннях [2, 5].

© Ф.П. Трінус – д.м.н., проф., чл.-кор. НАН та АМН України, Т.А.Бухтіарова – д.м.н., О.Є. Ядловський, В.С. Хоменко – к.м.н., Т.В. Шатиркіна, Т.А. Бершова, З.П. Омельяненко – к.м.н., І.Л. Сопіна – к.б.н., 2002.

На моделі вісцерального болю ("оцтовокислі корчі") значна аналгезія виявлялася при введенні парацетамолу через 0,5 год (інгібіція корчів – 47,1 %) (табл. 1). Далі аналгезія поволі знижувалася, складаючи 40,6 та 32,2 % через 1 та 2 год після введення відповідно. Через 3 год після введення аналгезія дорівнювала 14,4 %, не достовірно відрізняючись від контролю (табл. 1).

Піродазол на моделі ноцицептивної стимуляції "оцтовокислі корчі", як і парацетамол, виявляв значну аналгезію через 0,5 год (45,3 %). Вона майже дорівнювала аналгетичній активності парацетамолу в цей час. Через годину кількість інгібіції корчів істотно не змінювалася (табл. 1), поволі знижуючись через 2-3 год після введення. У цей час антиноцицептивна активність піродазолу дещо переважала таку парацетамолу. Через 4 год аналгезія піродазолу істотно не відрізнялася від контролю. Тобто можна говорити, що піродазол не поступається парацетамолу за силою аналгезії на моделі ноцицептивної стимуляції "оцтовокислі корчі", а за тривалістю аналгезії перевищує його.

Відомо про центральний компонент аналгезії ненаркотичних аналгетиків. Парацетамол пригнічує простагландини у ЦНС [1, 4]. Тому нами було порівняно аналгезію парацетамолу та піродазолу на тесті "гаряча пластина", що характеризує супраспінальний рівень аналгезії.

Через 0,5 год після введення парацетамолу визначався максимум аналгезії – латентний період реакції становив 26,3 с (42,3 %). Далі протягом наступних 3 год аналгезія знижувалася і через 2 год після введення латентний період реакції практично не відрізнявся від вихідного (табл. 2).

На відміну від парацетамолу, при введенні піродазолу аналгезія зростала: латентний період реакції становив 24,51 с, що, порівняно з вихідним його значенням (16,06 с), складало аналгезію 52,6 %. У період часу 1,5-8 год після введення аналгетика антиноцицептивний ефект виходив на "плато" і коливався від 118,9 до 102,9 % (табл. 2). Через 24 та 48 год виявлявся значний аналгетичний ефект: латентний період реакції дорівнював, відповідно, 25,42 та 22,8 с, що відповідало аналгезії 58,7 та 42,1 %. Наведені дані не виключають значний елемент центрального компонента аналгезії піродазолу при знеболюванні.

ВИСНОВКИ. 1. Піродазол на моделі ноцицептивної стимуляції "оцтовокислі корчі" за аналгетичною активністю не поступається, а за тривалістю аналгезії переважає парацетамол.

2. На моделі ноцицептивної стимуляції "гаряча пластина" піродазол переважає парацетамол як за силою, так і за тривалістю аналгезії.

Таблиця 1 – **Динаміка аналгезивної активності парацетамолу і піродазолу при внутрішньошлунковому введенні на тесті "оцтовокислі корчі" (M±m)**

Препарат	Показник	Контроль	Час після введення, год				
			0,5	1	2	3	4
Парацетамол	Кількість корчів	46,33±5,23	24,50±2,64	27,50±2,64	31,50±2,27	39,66±4,06*	–
	Інгібіція корчів, %		47,1	40,6	32,2	14,4	–
Піродазол	Кількість корчів	40,80±2,83	22,33±1,94	21,66±3,90	26,16±3,90	27,80±1,83	37,00±3,55*
	Інгібіція корчів, %		45,3	46,2	35,8	31,7	9,3

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – зміни недостовірні (p>0,05), порівняно з контролем.

Таблиця 2 – **Динаміка аналгезивного ефекту парацетамолу та піродазолу при внутрішньошлунковому введенні на тесті "гаряча пластина" (M±m)**

Препарат	Показник	Контроль	Час після введення, год							
			0,5	1	1,5	2	4	8	24	48
Парацетамол	Латентний період реакції, с	18,48±1,10	26,30 ±2,67	24,90 ±0,84	21,48 ±1,31	20,10 ±1,02*	19,26 ±2,78*	–	–	–
	Зростання латентного періоду порівняно з вихідним значенням, %		42,3	34,7	16,2	8,7	4,2	–	–	–
Піродазол	Латентний період реакції, с	16,06±1,04	24,51 ±1,91	28,23 ±1,35	35,16 ±2,89	34,70 ±2,05	35,00 ±2,05	32,60 ±1,29	25,42 ±1,43	22,80 ±1,50
	Зростання латентного періоду порівняно з вихідним значенням, %		52,6	75,8	118,9	116,4	117,9	102,9	58,7	42,1

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. – М.: Универсум паблишинг, 1997. – 530 с.

2. Бурчинский С.Г. Колдрекс-найт – современное средство, применяемое при респираторных инфекциях // Укр. мед. час. – 1998. – № 4/6. – С. 70-72.

3. Курт Сигизмунд. Симптом и болезнь // Pyarm. – 1995. – № 1. – С. 3.

4. Лоуренс Д.Р., Бенитт П.Н. Клиническая фармакология: В 2 т. – М.: Медицина, 1993. – Т. 1. – 640 с.

5. Снисарь В.И., Слива В.И. Послеоперационная аналгезия препаратами парацетамола фирмы "SmithKline Beechem" у детей // Провизор. – 1999. – № 21. – С. 49.

6. Komlos E., Porsresr J., Knole J. Morfin – prostigmin synergismus // Az. Acta. Phisiologica. Acad. Sc. Hungar. – 1950. – № 1. – P. 77–83.

7. Wood R.L. Animal models in analgesic testing// Analgesics: Neurochemical, Behavioral and Clinical perspectives. – Raven Press. – New-York, 1941. – **42**. – P. 74.

ФАРМАКОДИНАМИКА ПИРОДАЗОЛА И ПАРАЦЕТАМОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Ф.П. Тринус, Т.А. Бухтиарова, О.Є. Ядловский, В.С. Хоменко, Т.В. Шатиркина, Т.А. Бершова, З.П. Омельяненко, И.Л. Сопина
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Была исследована в сравнительном аспекте аналгезирующая активность нового неопиоидного аналгетика пиродазола и парацетамола при энтеральном пути введения у животных на моделях ноцицептивной стимуляции "уксуснокислые корчи" и "горячая пластина". Результаты показали расхождения в длительности обезболивания и силе аналгезивной активности изучаемых аналгетиков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **аналгетик, аналгезия, пиродазол, парацетамол, боль.**

PHARMACODYNAMICS OF PIRODAZOL AND PARACETAMOL AT THE EXPERIMENT

F.P. Trinus, T.A. Bukhtiyarova, O.Ya. Yadlovsky, V.S. Khomenko, T.V. Shatyrkina, T.A. Bershova, Z.P. Omelianenko, I.L. Sopina
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF UKRAINIAN AMS, KYIV

Summary

It was studied in comparative aspect the analgesic activity of new non-opioid analgesic pirodazol and paracetamol by enteral administration to the animals. The results showed that pirodazol is more effective than paracetamol using various nociceptive models.

KEY WORDS: **analgesic, analgesia, pirodazol, paracetamol, pain.**

Отримано 05.06.2002 р.

Адреса для листування: *О.Є. Ядловський, вул. Е. Потьє, 14, Київ, 03057, Україна.*

УДК: 616.2-036.12-091.88-053.2

ЗАЛЕЖНІСТЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ ВІД ПЕРЕБІГУ БРОНХІТУ У ДІТЕЙ

Н.В. Банадига, Т.В. Рибіна, І.В. Кміта, І.О. Рогальський
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидної системи в дітей з різними формами бронхіту. Простежено залежність стану антиоксидної системи від форми і перебігу бронхіту. Встановлено, що хронічний бронхіт супроводжується максимальним накопиченням продуктів пероксидації ліпідів в умовах істотного дефіциту ензимів внутрішньоклітинного антиоксидного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **бронхіт, перекисне окиснення, антиоксидна система.**

ВСТУП. Бронхолегенева патологія, зокрема рецидивна та хронічна, в дитячому віці вимагає неабиякої уваги педіатрів, оскільки вона є підгрунтям до формування хронічних захворювань у дорослих. Хронічні й рецидивні хвороби бронхів умовно об'єднує поняття гіпоксії, яка зумовлює порушення процесів обміну в організмі, пригнічення синтезу структурних компонентів мембран, а також безпосередньо їх руйнування [2, 4, 9].

Клінічна інтерпретація біоенергетики клітини передбачає перш за все поняття глибини дихальної недостатності. Саме вона асоціюється з явищем дестабілізації клітинних мембран, мембранопатією або руйнуванням клітинних структур. Численні дослідження стану біомембран при бронхолегеневій патології базувались на вивченні стаціонарної моделі: перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – антиоксидна система (АОС) [1, 2].

Встановлено, що інтенсифікація ПОЛ у хворих на хронічний бронхіт (ХБ) асоціюється із змінами структури цитомембран стінки клітин миготливого епітелію з дисфункцією клітинних війок. Під час електронної мікроскопії біоптатів слизової бронхів помічено збільшення поверхні цитомембран через набухання війок з утворенням вуалей та відшнуровкою мембран [1, 10]. За таких обставин глибина порушень визначається функціональною спроможністю АОС.

© Н.В. Банадига – д.м.н., Т.В. Рибіна, І.В. Кміта, І.О. Рогальський, 2002.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення активності АОС проведено у 332 хворих із різними формами бронхіту. При цьому антиоксидну здатність оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) в гемолізаті [8], каталази (К) в еритроцитах [8], церулоплазміну (ЦП) в плазмі [7], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [3], вмістом SH-груп в сироватці [6]. Процеси вільнорадикального окиснення ліпідів ухворих оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) в крові [5]. До групи контролю ввійшло 80 здорових дітей віком від 2 до 14 років. Результати досліджень опрацьовано за допомогою пакета прикладних статистичних програм на персональному комп'ютері.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Комплексне клініко-лабораторне обстеження проведено дітям із різними формами бронхіту, серед яких із гострим (ГБ) було 46 пацієнтів, рецидивним (РБ) – 172, хронічним (ХБ) – 114.

Визначення вмісту МДА в крові показало, що у період вираженої клінічної картини бронхіту (незалежно від форми) спостерігалось істотне його збільшення (табл. 1). При цьому максимально високі показники МДА відповідали загостренню ХБ ((5,37±0,23) мкмоль/л). Очевидно, активація ПОЛ зумовлена передусім гіпоксією, яка при ХБ сягає максимальних проявів у силу активації хронічного запалення бронхів, а також органічними змінами у бронхіальній стінці. У випадку ГБ та РБ (табл. 1)

Таблиця 1 – **Вміст МДА та функціональний стан системи антиоксидного захисту в крові дітей із бронхітами (M±м)**

Форми бронхіту	МДА, мкмоль/л	К, %	СОД, од. 10 ер.	СДГ, ммоль/год/л	SH-групи, нмоль/л	ЦП, мг/л
Гострий (n=46)	4,21±0,14 p<0,001	20,23±1,54 p<0,05	78,75±1,75 p<0,01	0,87±0.03 p>0,05	82,45±2,01 p<0,001	405,50±19,24 p<0,001
Рецидивний (n=172)	4,94±0,15 p<0,001	11,05±0,54 p<0,05	41,97±1,16 p<0,001	0,50±0,02 p<0,001	79,34±1,96 p<0,001	345,72±10,19 p<0,001
Хронічний (n=144)	5,37±0,23 p<0,001	10,16±0,55 p<0,05	42,24±1,60 p<0,001	0,43±0,02 p<0,001	85,38±1,83 p<0,001	338,00±13,21 p<0,001
Контроль (n=80)	2,80±0,23	17,48±2,87	68,02±1,33	0,98±0,03	60,51±4,13	198,00±3,31

Примітка. p – достовірність змін, порівняно з контролем.

також мала місце активація пероксидації ліпідів, про що свідчив вищий, ніж у здорових дітей (p<0,001), вміст МДА у крові.

Оцінку стану АОС проводили у розрізі трьох провідних її компонентів: внутрішньоклітинних ензимів (К, СОД, СДГ), низькомолекулярних антиоксидантів (SH-групи) та позаклітинних ензимів (ЦП). Активність представників першої групи залежала від форми бронхіту. Зокрема, вміст СОД у крові хворих на РБ і ХБ був істотно нижчим за показники у здорових (табл. 1). Натомість ГБ супроводжувався зростанням рівня СОД. Аналогічна ситуація спостерігалась при визначенні вмісту К, який підвищувався лише при ГБ, у решті випадків її значення були істотно меншими за фізіологічні (p<0,05). Активність СДГ при вираженій клініці бронхіту була суттєво зниженою при РБ і ХБ. Натомість при ГБ вона істотно не відрізнялася від фізіологічної і водночас була найвищою серед усіх груп обстежених. Таким чином, діагностована раніше при всіх формах бронхіту активація ПОЛ лише у випадку ГБ супроводжувалася достатньою активністю внутрішньоклітинних компонентів АОС. У хворих із загостренням РБ і ХБ різко знижена активність СОД, К, СДГ, що свідчить про некероване прискорення ПОЛ в умовах гіпоксії.

Під час визначення вмісту SH-груп, встановлено, що при всіх нозологічних формах бронхіту він був істотно підвищеним (табл. 1). При зіставленні рівнів сульфгідрильних груп залежно від виду бронхіту з'ясувалось, що суттєвої різниці між ними не було. Тобто при всіх бронхітах у дітей за умов активованого ПОЛ спостерігається підвищення концентрації SH-груп у крові. Останнє свідчить про протидію низькомолекулярних антиоксидантів процесам прискореного окиснення ліпідів. Серед компонентів АОС найбільшою функціональною активністю володіє ЦП. Її значення у всіх пацієнтів були істотно вищі за показники у здорових (табл. 1). Максимальні значення ЦП виявлено у хворих на ГБ ((405,50±19,24) мг/л, p<0,001). У випадку РБ та ХБ рівень ЦП перевищував фізіологічний у 1,7 раза.

ВИСНОВКИ. 1. Перебіг бронхіту в дітей супроводжується активацією ПОЛ з максимальним накопиченням їх продуктів при загострені ХБ, який є найтяжчою формою.

2. В умовах активації процесів пероксидації ліпідів функціональний стан АОС залежить від форми бронхіту. Зокрема, при ГБ встановлено високу функціональну активність компонентів антиоксидного захисту. Натомість при загострені РБ чи ХБ спостерігається зниження активності ензимів внутрішньоклітинного захисту (СОД, К, СДГ), збільшення активності ЦП та вмісту SH-груп.

3. Рецидивний та хронічний перебіг бронхіту зумовлює виснаження АОС, що перш за все проявляється істотним дефіцитом внутрішньоклітинних ферментів антиоксидного захисту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Омарова К.О., Муратаев Г.И., Байжанова М.М. К патогенезу хронической неспецифической пневмонии у детей // Здравоохр. Казахстана. – 1991. – № 7. – С. 24-26.

2. Перцева Т.А., Конопкина Л.И., Гончар М.Н. Роль мембранных изменений в патогенезе дыхательной недостаточности // Укр. пульмон. журн. – 1994. – № 2. – С. 29-32.

3. Петросян Р.Е. Активность некоторых ферментов в лимфоцитах периферической крови у здоровых детей раннего возраста // Вопр. охр. матер. и детства. – 1971. – № 5. – С. 81.

4. Саркісян А.А., Татарчук Т.Ф. Перекисне окислення ліпідів та антиоксидна система за фізіологічних умов (Попереднє повідомлення) // ПАГ. – 1995. – № 4. – С. 54-55.

5. Стальная И.Д., Гавришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

6. Травина И.С. Руководство по биохимическим исследованиям (Пособие для врачей-лаборантов). – М.: Медицина, 1972. – С. 97.

7. Церулоплазмин в крови по Равину // В кн.: Биохимические исследования в клинике / Под ред. А.А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 450-452.

8. Чевари С., Андял Т., Штренгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9-13.

9. Kogan A.Ch., Mannilov B.M., Tsypin A.B. The role of active oxygen forms generation by leukocytes and their accumulation in lungs together with the increasing of phagocytic activity // International Conference on Critical Aspects of Free Radicals: Abstracts. – Vienna, 1993. – P. 122.

10. Luc G., Fruchard J.C. Nouells methods d'exploration des lipids // Presse Mod. – 1994. – **23**, № 31. – P. 1446-1449.

ЗАВИСИМОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АРТИОКСИДНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ОТ ТЕЧЕНИЯ БРОНХИТА У ДЕТЕЙ

Н.В. Банадыга, Т.В. Рыбина, И.В. Кмита, И.О. Рогальский
ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено состояние перекисного окисления липидов и антиоксидной системы у детей с разными формами бронхита. Отслежена зависимость состояния антиоксидной системи от формы и течения бронхита. Установлено, что хронический бронхит сопровождается максимальным накоплением продуктов пероксидации липидов в условиях существенного дефицита энзимов внутриклеточной антиоксидной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **бронхит, перекисное окисление, антиоксидная система.**

DEPENDENCE OF BRONCHITIS SEVERITY IN CHILDREN ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTIVE SYSTEM

N.V. Banadyga, T.V. Rybina, I.V. Kmita, I.O. Rogalsky
TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The research shows the results of investigation of lipid peroxidation and stage of antioxidant protection system in children with various forms of bronchitis. Antioxidant protection system depends on the form and course severity of bronchitis. Chronic bronchitis is accompanied by maximal increasing of lipid peroxidation products in the presence of intracellular antioxidant enzyme deficiency.

KEY WORDS: **bronchitis, peroxidation, antioxidant protective system.**

Отримано 23.05.2002 р.

Адреса для листування: *Н.В. Банадига, кафедра педіатрії ФПО, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 637.127.3.001.5

ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ПЕПТИДИ КАЗЕЇНОВОГО ПОХОДЖЕННЯ

В.Г. Юкало, Б.Л. Луговий
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. ПУЛЮЯ

Казеїнові білки молока є попередниками біоактивних пептидів, які здатні впливати на роботу різних фізіологічних систем організму. Зокрема, казоморфіни потенціюють морфіноподібну активність, казоксини є антагоністами опіатних рецепторів, казокініни гальмують активність ангіотензинперетворюючого ферменту і знижують артеріальний тиск при гіпертензії, казоплателіни попереджують утворення тромбів, впливаючи на процес гемокоагуляції, імуноказопептиди модулюють діяльність імунної системи організму, казоцидини пригнічують розвиток патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, фосфоказопептиди впливають на мінеральний обмін, а глікомакропептид κ-казеїну інгібує шлункову секрецію і моторику. Крім цього, казопептиди можуть попереджувати злоякісні перетворення у товстій та прямій кишках, а також зв'язувати вільні радикали. Для багатьох казопептидів характерний феномен поліфункціональної активності. У роботі розглядаються історія відкриття та фізіологічні ефекти, казеїнових пептидів, описуються шляхи їх отримання, обговорюється питання про можливість їх майбутнього використання у продуктах спеціального призначення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **молоко, казеїни, пептиди, протеоліз, травні ферменти, молокозгортаючі препарати, молочнокислі бактерії.**

Головна фізіологічна функція харчових білків полягає в постачанні організму достатньою кількістю есенціальних амінокислот та органічного азоту. Серед харчових білків особливе місце займають білки молока, зокрема казеїни, оскільки вони є першими аліментарними білками, які забезпечують харчові потреби новонародженого організму ссавців, а також здійснюють регуляторний вплив на ряд фізіологічних функцій організму як у постнатальний період, так і в дорослому віці. Фізіологічно активні пептиди можуть утворюватися при протеолізі казеїнів як *in vitro* під дією ферментів мікроорганізмів та молочнокоагулянтних препаратів, так і *in vivo* у травному тракті ссавців. На сьогодні доведено, що ряд казеїнових фізіологічно активних пептидів можуть проникати через ентеральний бар'єр і з течією крові переноситися до тканин-мішеней [31, 80, 99]. Казеїнові пептиди володіють різними фізіологічними активностями, на основі чого виділяють декілька класів казеїнових біоактивних пептидів (табл. 1).

Вперше фізіологічну активність казеїнових пептидів виявили в 1979 р. німецькі вчені Віктор Брантл та ін. [29, 51, 73], які ідентифікували пептиди з опіоїдною морфіноподібною активністю, що відповідали послідовності β-казеїну (β-CN) *60-70*, і назвали їх β-казоморфінами. Ця послідовність, на думку Fiat і співавт. [40], є "стратегічною зоною" β-казеїну і може бути джерелом фізіологічно активних пептидів різної дії. Було встановлено, що β-казоморфіни та їх амідний аналог пролонгованої дії – морфіцептин [32], як і морфій, є лігандами μ-опіатних рецепторів і проявляють аналгезивну, седативну активність, індукують сон, пригнічують дихання, спричиняють гіпотензію, брадикардію, викликають медикаментозну толерантність і залежність [27, 109]. Fiat та співавт. [42] відзначають, що молоко, яке містить β-казоморфіни чи морфіцептин, потенціює глибокий сон немовлят і зменшує їх неспокій. Згодом β-казоморфіни було виявлено в аналогічній позиції в овечому та людському β-казеїні [116]. Опіатна активність також була характерна для фрагментів людського β-казеїну *50-54 і 40-53*, які названо β-казорфінами. Іншим попередником опіоїдних пептидів є αs_1-CN. Їх отримано шляхом пепсинового протеолізу і названо екзорфінами. Екзорфіни, як і ендорфіни, є лігандами σ-опіатних рецепторів [74]. Будова опіоїдних казеїнових пептидів має як спільні, так і відмінні риси, порівняно з ендогенними опіоїдними пептидами – енкефалінами, ендорфінами та динорфінами [82]. Спільною структурною особливістю ендогенних і екзогенних

© В.Г. Юкало – к.х.н., Б.Л. Луговий – к.б.н., 2002.

Таблиця 1 – **Фізіологічно активні казеїнові пептиди за Schlimme і Meisel [116]**

Класи за фізіологічною активністю	Білок-попередник	Фізіологічна активність
Казоморфіни	α-, β-Казеїни	Опіоїдні агоністи
Казоксини	κ-Казеїн	Опіоїдні антагоністи
Казокініни	α-, β-Казеїни	Антигіпертензивні
Казоплателіни	κ-Казеїн	Антитромботичні
Імунопептиди	α-, β-Казеїни	Імуномодулятори
Фосфопептиди	α-, β-Казеїни	Мінеральний обмін

опіоїдних пептидів є присутність тирозинового залишку в аміно-термінальному хвості молекули (за винятком екзорфінів) і наявність додаткового ароматичного залишку (фенілаланіну чи тирозину) в третій або четвертій позиції, що важливо для формування сайта зв'язування з опіатними рецепторами [116]. Негативний потенціал, локалізований навколо фенольної гідроксильної групи тирозину, є необхідним для опіоїдної активності, оскільки відсутність тирозинового залишку призводить до втрати фізіологічної активності опіоїдів [32]. Вирішальним для активності опіоїдних пептидів є проліновий залишок [28], який потрібний для просторової орієнтації тирозину і фенілаланіну в пептидному ланцюгу [92]. Опіатні рецептори μ-, σ- і κ-типів локалізовані в нервовій, ендокринній та імунній системах, а також у шлунково-кишковому тракті ссавців, і тому можуть взаємодіяти як з ендогенними, так і з екзогенними лігандами. Показано, що казеїнові опіоїдні пептиди здатні впливати на поведінку [102], а їх інтрацеребральне введення експериментальним тваринам викликає аналгезію [104]. Крім опіоїдної активності, казоморфіни можуть впливати на різні ланки обміну речовин [85], наприклад на ліпідний обмін [105], стимулювати секрецію інсуліну і соматостатину [117], дія на інтестинальний транспорт амінокислот [25], продовжувати час евакуації мас по шлунково-кишковому тракту та запобігати діареї [33, 35], що опосередковується через субепітеліальні опіоїдні рецептори чи специфічні люмінальні зв'язувальні сайти на мембрані ворсинчастого епітелію кишечника [121]. Хоч казоморфіни розглядаються як опіати зовнішнього походження, проте можуть відігравати роль ендогенних регуляторів, зокрема вони можуть вивільнятися молочною залозою, переноситися через кров, зв'язуватися з опіатними рецепторами [19, 67] і, таким чином, брати участь в ендокринній регуляції вагітності, стимулюючи вивільнення пролактину. Іншою мішенню казоморфінів у ссавців під час вагітності й лактації є серцево-судинна система, зокрема вони мають позитивний інотропний ефект і антиаритмічний вплив та виконують кардіопротекторну функцію, проте залишається невідомим механізм такої дії. β-Казоморфіни, потрапляючи у кров, швидко деградують [26, 120], однак вони можуть перебувати у кров'яному руслі у формі попередників – преказоморфінів, які, досягаючи мішені, "скидають" захисну амінокислотну послідовність шляхом обмеженого протеолізу і здійснюють фізіологічний вплив [82]. На відміну від опіоїдних агоністів з αs- і β-казеїнів, κ-казеїн – джерело фізіологічно-активних пептидів, які є антагоністами μ- і κ-опіатних рецепторів. Механізм дії цих пептидів подібний до механізму налоксону, за що їх стали називати казоксинами [34].

Важливою групою казеїнових фізіологічно-активних пептидів є імуномодуляторні пептиди [45], які були ідентифіковані як фрагменти коров'ячого *αs_1-CN 194-199,* β-*CN 63-68 і 191-193,* κ-*CN 38-39* та людського β-*CN 54-59* [21, 60, 103]. Migliore-Samour та співавт. [93] встановили, що казоімунопептиди стимулюють фагоцитоз овечих еритроцитів перитонеальними макрофагами мишей та після внутрішньовенного введення тваринам посилюють імунітет до інфекції, викликаної *Klebsiella pnenmoniae*. Gattegno і співавт. [44] показали, що пептиди з коров'ячого β-CN посилювали адгезію та інтерналізацію старих еритроцитів моноцитами та макрофагами. Hadden [47] виявив імуностимуляторний ефект пептидів, отриманих з κ-казеїну та білків молочної сироватки, на популяцію лейкоцитів у 93 хворих з ВІЛ-інфекцією, в яких сповільнився розвиток захворювання. Особливо важливу роль казеїнові імунопептиди можуть відігравати в організмі новонароджених [94], у яких ще не сформувалася імунна система і фактори клітинного та гуморального імунітету передаються материнським молоком при годуванні. Дія імунопептидів може опосередковуватися через μ-опіатні рецептори, які присутні на Т-лімфоцитах і фагоцитарних лейкоцитах. Трипсиновий фрагмент *Phe-Phe-Ser-Asp-Lys* (залишок 17-21 κ-казеїну) та коров'ячий пара-κ-казеїн (1-105 послідовність κ-казеїну) володіють властивістю посилювати утворення антитіл та активувати

людські й мишачі макрофаги *in vitro* [58, 59]. Крім цього, *Tyr-Gly* (дипептидний фрагмент 38-39 к-казеїну) теж має імуномодуляторні властивості й теоретично може проходити через інтестинальний бар'єр та, всмоктуючись у кров, діяти на периферичні лімфоцити. Зокрема показано імуностимуляторний ефект цього дипептиду на проліферацію людських периферичних лімфоцитів крові *in vitro* [64, 82]. Kawasaki й співавт. [63] показали, що глікомакропептид к-казеїну (далі ГМП) здатний зв'язувати холерний токсин, і експериментально довели це *in vivo*, попередивши за допомогою ГМП діарею в мишей. Neeser і співавт. [100] дослідили механізм, завдяки якому компоненти молока попереджують карієс зубів. Ці автори встановили роль ГМП у гальмуванні адгезії бактерій у ротовій порожнині, види яких найчастіше спричиняють карієс, а саме *Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Streptococcus sorbinus* і *Actynomyces viscosus*.

Заслуговують уваги і антивірусні властивості ГМП. Зокрема показано, що ГМП гальмує гемаглютинацію, спричинену різними серотипами вірусу людського грипу, і попереджує розвиток вірусу Епштейна-Барр [36]. Brody [30] вказує на те, що ГМП, завдяки своїй хімічній будові, може зв'язувати *Mycoplasma gallisepticum* і *Mycoplasma pneumoniae*, що, як вважають, пов'язані з автоімунними захворюваннями. Відомо також, що ГМП людського молока володіє антимікробними властивостями, зокрема сповільнює інфекцію, викликану *Helicobacter pylori*, блокуючи адгезію бактерій до їхніх клітин-мішеней [119], що може мати велике значення для природної корекції патологічних процесів, які призводять до розвитку виразкової хвороби. Крім цього, ГМП гальмує адгезію *Haemophilus influenzae* і *Streptococcus pneumoniae* [16]. Згідно з результатами багатьох досліджень, к-казеїн є попередником пептидів, які посилюють ріст популяції біфідобактерій, попереджуючи розвиток ряду шлунково-кишкових захворювань [22, 38, 107, 108]. Завдяки такій активності к-казеїн можна вважати пробіотиком. Крім імуномодуляторних казеїнових пептидів, у молоці є ще і бактерицидні пептиди, які присутні у вільному стані, а також можуть утворюватися з неактивних білків-попередників, зокрема з казеїнів. У 1996 р. Lahov і Regelson [70] показали, що при дії хімозину на αs_1-казеїн утворюється імуностимуляторний пептид, названий ізрацидином, який відповідає амінокислотній послідовності 1-23 N-кінця αs_1-казеїну. Цей пептид підвищує резистентність мишей до інфекції, викликаної *Staphylococcus aureus,* за умов внутрішньом'язового введення пептидного препарату ще до моменту потрап-

Таблиця 2 – **Приклади казеїнових фізіологічноактивних пептидів з білків коров'ячого молока**

Пептид[1]	Фрагмент	Назва	Отримання
YPFPGPIPNSL	β-CN 60-70	β-Казоморфін-11	Кишковий хімус
YPFPGPI	β-CN 60-66	β-Казоморфін-7	Трипсин
YPFPG	β-CN 60-64	β-Казоморфін-5	Трипсин
RYLGYLE	αs_1-CN 90-96	α-Казеїн Екзорфін	Пепсин
SRYPSY·OCH_3	к-CN 33-38	Казоксин 6	Пепсин
YIPIQYVLSR	к-CN 25-34	Казоксин С	Трипсин
VPP	β-CN 84-86	β-Казокінін	Сквашене молоко
IPP	β-CN 74-76	β-Казокінін	Сквашене молоко
AVPYPQR	β-CN 177-183	β-Казокінін	Трипсин
FFVAPFPEVFGK	αs_1-CN 23-34	αs_1- Казокінін	Трипсин
FFVAP	αs_1-CN 23-27	αs_1- Казокінін	Трипсин+пептидаза
VAP	α_{s1}-CN 25-27	αs_1- Казокінін	Синтез
VQQPVLGPVR	β-CN 93-202	β-Казокінін-10	Синтез
TTMPLW	α_{s1}-CN194-199	αs_1-Імуноказокінін	Трипсин
PGPIPN	β-CN 63-68	Імунопептид	Синтез
LLY	β-CN 191-193	Імунопептид	Синтез
RELEELNVPGEIVES*LS* S*S*EESITR	β-CN (1-25)4P	Казеїновий фосфопептид	Трипсин
DIGS*ES*TEDQAMEDIM	α_{s1}-CN (43-58)2P	Казеїновий фосфопептид	Трипсин
QMEAES*IS*S*S*EEIVP PNS*VEQK	α_{s1}-CN (59-79)5P	Казеїновий фосфопептид	Трипсин
MAIPPKKNQDK	к-CN 106-116	Казоплателін	Трипсин

Примітка. [1] – амінокислотні послідовності подано однолітерним кодом; S* – фосфосерин.
Таблиця цитована за Meisel і Bockelmann, 1999 р. [84].

ляння інфекції в організм тварини. Крім цього, ізрацидин при внутрішньовенному введенні мишам стимулює фагоцитарну відповідь *in vivo* на інфекцію, спричинену *Candida albicans*. Ці вчені також показали, що введення ізрацидину у вим'я запобігає розвитку маститів у корів та овець. При хімозиновому протеолізі казеїну утворюється антимікробний пептид казецидин, який проявляє активність *in vitro* проти бактерій родів *Staphylococcus sp*., *Sarcina sp*., а також таких видів бактерій, як *Bacillus subtilis, Diplococcus pneumoniae* і *Streptococcus pyogenes* [70]. Інший пептид казоцидин-I, отриманий з αs_2-казеїну коров'ячого молока, гальмує ріст культур *Escherichia coli* і *Staphylococcus carnosus* [130]. У 2001 р. Liepke і співавт. [72] повідомили, що фрагмент 63-117 людського κ-казеїну гальмує ріст грампозитивних, грамнегативних бактерій і дріжджів.

Серед казеїнових фізіологічно активних пептидів виділяють антитромботичні пептиди, названі казоплателінами [111], джерелом яких є фрагмент С-кінця коров'ячого κ-казеїну, що структурно схожий на γ-ланцюг людського фібриногену [24, 55, 56, 57]. Фрагменти коров'ячого κ-*CN 106-116, 106-112, 113-116* гальмують АТФ-індуковану агрегацію тромбоцитів і зв'язування γ-ланцюга фібріногену зі специфічним рецепторним регіоном на поверхні тромбоцитів [41]. Інший фрагмент κ-*CN 103-111* теж гальмує агрегацію тромбоцитів, але за іншим механізмом [42]. Як вважають Fiat і співавт. [41], три залишки Ile_{108}, Lys_{112}, Asp_{115}, які є у фрагменті κ-*CN 106-116*, конкурують з аналогічними залишками γ-ланцюга фібриногену при зв'язуванні з рецепторами тромбоцитів.

Близько 30 % фосфору молока з'єднані через моноефірні зв'язки із залишками серину казеїнових білків, які можуть у процесі протеолізу як *in vitro* так і *in vivo*, вивільняти різні фосфопептиди, зокрема було виділено фосфопептид αs_1-*CN 66-74* з кишкового хімусу свиней після казеїнової дієти [86]. Відомо, що фосфопептиди можуть утворювати розчинні фосфоорганічні солі й функціонувати як переносники мінералів, а особливо кальцію та заліза [96, 115]. Казеїнові фосфопептиди здатні посилювати всмоктування кальцію, а також макро- і мікроелементів у кишечнику [87]. З αs_1-, αs_2- і β-казеїнів було виділено декілька фосфопептидів [89]. Такі пептиди є стійкими до протеолізу в травному тракті й були навіть ідентифіковані в екскрементах лабораторних тварин [62]. Hansen і співавт. [48] встановили, що казеїнові фосфопептиди посилюють абсорбцію цинку і кальцію, а Reynolds [110] виявив, що зв'язування кальцію казеїновими фосфопептидами має антикарієсний ефект, оскільки вони посилюють процес рекальцифікації дентинової емалі. Показано, що у процесі вторинного протеолізу в сирі фосфопептиди можуть розщеплюватися до олігопептидів, окремі з яких є інгібіторами ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) [88], проте всі фізіологічні ефекти, які можуть викликати казеїнові фосфопептиди, ще не відомі.

Відомо, що кисломолочні продукти проявляють антиканцерогенний ефект [22, 23, 52]. Hosono і співавт. [53] припустили, що він детермінується білковим фактором, а Macdonald і співавт. [75] встановили, що казеїнові пептиди, отримані в молочнокислому процесі, пригнічують розвиток раку кишечника. Nagaune і співавт. [95] виявили, що трипсиновий фрагмент *177-183* коров'ячого β-CN стимулює синтез ДНК, Azuma і співавт. [20] показали цей ефект для фрагментів *1-18 і 105-117* людського β-CN, що дозволяє розглядати дані пептиди як фактори росту. Вони можуть утворюватися під дією трипсину в організмі немовлят, у яких клітини більшості органів перебувають на стадії проліферації, яка може посилюватися такими пептидами. Інтенсивні дослідження будови різних типів клітинних рецепторів дозволять у майбутньому перевірити казеїнові пептиди як потенційні ліганди, здатні впливати на клітинний цикл. Asano і співавт. [18] виявили, що 37 фрагментів людського β-CN є інгібіторами проліл-ендопептидази (*EC 3.4.21.26*) (далі ПЕП), і зробили висновок, що такі пептиди володіють антиамнестичними властивостями і можуть позитивно впливати на вищу нервову діяльність людини. Найактивніші інгібітори ПЕП є у вже згаданій "стратегічній зоні" β-казеїну, фрагменти якої мають імуностимуляторну, опіоїдну та інші активності.

Цікавими є також дослідження впливу казеїнового глікомакропептиду на травлення, які проводились М.П. Черніковим, Е.Я. Стан та їх колегами. Було встановлено, що ГМП гальмує шлункову секрецію і моторику [6, 7, 9, 10], а пептиди з κ-казеїну мають нейротропну холецистокінінподібну активність [8], яка пов'язана з механізмом харчової реакції та харчового насичення.

Серед фізіологічно активних пептидів найбільший інтерес викликають антигіпертензивні пептиди, оскільки вони можуть запобігати розвитку артеріальної гіпертензії та володіти кардіопротекторною дією, попереджуючи ряд серцево-судинних захворювань [122]. Останні, за даними ВООЗ, найбільш розповсюджені серед населення і є причиною інвалідності та смерті переважно людей працездатного віку.

В останні роки у країнах Східної Європи відмічається зростання кількості серцево-судинних захворювань. Так, в Україні найвищий рівень смертності від цих захворювань серед 30 європейських країн [3, 114]. Серед антигіпертензивних та кардіопротекторних засобів одними з найефективніших вважаються інгібітори ангіотензин-перетворювальнго ферменту (ІАПФ). У ренін-ангіотензин-альдостероновій системі організму АПФ впливає на декапептид ангіотензин-І, відщеплюючи дипептидний залишок *His-Leu* із С-кінця молекули, і продукує октапептид ангіотензин-ІІ, який проявляє сильну вазоконстрикторну дію. Крім цього, в кінін-калікреїновій системі АПФ інактивує брадікінін, який має вазодилататорну дію. Як зазначає Й. Дриновець [1], ІАПФ є однією з найважливіших груп медикаментів для лікування артеріальної гіпертензії, застійної серцевої недостатності, станів після інфаркту міокарда та дисфункцій лівого шлуночка. Їх застосовують для профілактики прогресування хронічних захворювань нирок, що дозволяє розглядати ІАПФ як засоби лікування і профілактики одночасно. Крім цього, вони зменшують ступінь гіпертрофії міокарда лівого шлуночка і стінки артерій. У 2000 р. Francis [43] підсумував результати дослідження HOPE (Heart outcomes prevention evaluation), які довели ефективність ІАПФ як засобів захисту серця і судин у пацієнтів без серцевої недостатності й систолічної дисфункції лівого шлуночка, що дає підстави розширити сферу застосування цих препаратів для первинної і вторинної профілактики серцевих захворювань [2]. Серед природних пептидів інгібіторний ефект на АПФ вперше показав пентапептидний компонент отрути змій *Bothrops jararaca* [39]. АПФ-інгібіторні пептиди було ізольовано та ідентифіковано з окремих харчових білків [17]. Maruyama і співавт. вперше ідентифікували інгібітори АПФ з казеїну в 1982 р. [79]. Це були пептиди з коров'ячого β-казеїну 177-183, αs_1-казеїну 23-24, 23-27 та 194-199 [77,78]. Kohmura і співавт. [68,69] синтезували 69 пептидних фрагментів людського ($CN_л$) β-казеїну і 23 фрагменти κ-казеїну та виявили, що найвища інгібіторна активність характерна для регіону β-$CN_л$ 39-52 і κ-$CN_л$ 63-65, а пептид *SFQPQPLIYP* фрагменту β-$CN_л$ 43-52 виявився найсильнішим інгібітором АПФ з усіх синтезованих пептидів в умовах *in vitro* та *in vivo*. Meisel [83] виявив, що синтетичний фрагмент, який відповідає коров'ячому β-CN 193-202, гальмує АПФ, і за його пропозицією всі казеїнові інгібітори АПФ стали називатись казокінінами завдяки їх брадикінінподібній дії. Він також показав, що казокініни можуть конкурентно зв'язуватися, як і ендогенні пептиди, з активним центром АПФ і навіть розщеплюватися цим ферментом, що значною мірою залежить від спорідненості пептиду-інгібітора з АПФ, при цьому дипептидний продукт, який утворюється при дії АПФ на пептид-інгібітор, може гальмувати активність АПФ [90].

Saito і співавт. [112, 113] показали антигіпертензивні дозозалежні ефекти казокінінів після їх перорального введення гіпертензивним щурам (SHR-spontaneously hypertensive rats). Успіхи у вивченні протеолітичних систем молочнокислих бактерій дали можливість протестувати бактеріальні протеїнази *in vitro* на їх здатність розщеплювати казеїнові білки до казокінів, і в 1994 р. Yamamoto і співавт. [123] показали антигіпертензивний ефект пептидів, отриманих при протеолізі αs_1- і β-казеїнів екстрацелюлярною протеїназою з *Lactobacillus helveticus* CP790 при їх пероральному введенні в дозі 15 мг/кг SHR-щурам, тоді як трипсиновий препарат казеїнових пептидів не володів такою активністю. У 1996 р. Maeno і співавт. [76] виділили β-казеїновий пептид *KVLPVPQ* з антигіпертензивною дією *in vivo* з препарату казеїну, одержаного при дії протеїнази *L. helveticus* CP790. Проте несподівано цей пептид проявив низьку інгібіторну активність на АПФ *in vitro*. Виявилось, що під час травлення під дією панкреатичних протеаз відбувається розщеплення гептапептиду *KVLPVPQ* до гексапептиду *KVLPVP*, який мав високу АПФ-інгібіторну активність і володів антигіпертензивним ефектом *in vivo* на гіпертензивних щурів. Ці автори роблять висновок, що антигіпертензивні пептиди можуть утворюватися під впливом травних ферментів з пептидів-попередників, які потрапляють у складі їжі. Nakamura і співавт. [98] виділили β-казеїнові трипептиди *VPP* і *IPP* – інгібітори АПФ β-казеїнового походження – з японського кисломолочного напою Calpis™, при приготуванні якого використовується симбіотична закваска, яка містить *Lactobacillus helveticus* і *Saccharomyces cerevisiae*. Цими авторами встановлено, що пероральне одноразове введення 5 мл/кг молочного напою Calpis™ гіпертензивним щурам достовірно зменшує систолічний тиск через 6-8 год після призначення пептидів, що відповідає 0,6 і 0,3 мг/кг введення *VPP* і *IPP*. Антигіпертензивна активність цих пептидів була доведена дозозалежним ефектом. Ці результати свідчать про те, що обидва пептиди відіграють значну роль в антигіпертензивних ефектах кислого

молока Calpis™. З іншого боку введення кислого молока чи суміші трипептидів не змінює систолічний тиск крові в нормотензивних щурів, незважаючи на те, що кількість кислого молока і трипептидів, які вводилися, була значно вищою від дози, яка є ефективною у SHR-щурів. Ці результати, на думку Nakamura і співавт. [99], дозволяють припустити, що антигіпертензивна активність кислого молока і трипептидів *VPP* та *IPP* є специфічною при гіпертензивному статусі організму. Ефекти казокінінів, введених перорально, дають підстави вважати, що такі біоактивні пептиди здатні в активній формі всмоктуватися в кров у кишечнику. Це підтверджується даними, згідно з якими ди- і трипептиди легше всмоктуються, ніж амінокислоти чи більші олігопептиди [14, 49]. Крім цього, пептиди, що містять пролін, як правило, стійкіші до деградації травними ферментами [15, 16]. Є декілька пептидаз, які специфічні для проліну, але відомо, що трипептиди, які мають *Pro-Pro* послідовність на С-кінці, резистентні до деградації пролідазами [66]. Тому ці пептиди можуть бути стійкі до травлення, ефективно всмоктуються в кишечнику і, відповідно, володіють антигіпертензивним ефектом. Ikemoto і співавт. [54] встановили, що у гіпертензивних щурів активність АПФ у аорті значно вища, ніж у нормотензивних. Подібні результати отримали Okunishi і співавт. [101], які виявили вищу активність АПФ у черевній аорті та легенях SHR-щурів, порівняно з нормотензивними тваринами. Показано, що активність АПФ в серці, яєчках, нирках, легенях і мозку, а найбільше в аорті, була знижена після згодовування тваринам сквашеного молока Calpis™ [97]. Остаточним доказом абсорбції казокінінів є експерименти, проведені у 1996 р. Masuda і співавт. [80]. Ними було ідентифіковано вже згадані β-казокініни *VPP* і *IPP* у черевній аорті щурів, яким давали Calpis™, тоді як у тварин, яким цей продукт не призначали, β-казокініни не виявляли. Також ці автори показали, що після абсорбції β-казокініни досягали абдомінальної аорти і гальмували АПФ, після чого, через 6 год з моменту перорального введення Calpis™, у SHR-щурів систолічний артеріальний тиск (далі АТс) зменшувався приблизно на 26 %. Hata і співавт. [50] перевірили дію β-казокінінів на пацієнтах з артеріальною гіпертензією, яких було поділено на дві групи. Хворі першої групи пили штучно підкислене молоко як плацебо протягом 8 тижнів, друга група стільки ж часу приймала Calpis™. Починаючи з четвертого тижня від початку вживання скислого молока по 95 мл/день, АТс у хворих другої групи достовірно зменшився, тоді як у пацієнтів першої групи залишався без змін. Shimizu у 1999 р. [118] висловив припущення, що регуляторні казеїнові біоактивні пептиди, зокрема казокініни, можуть всмоктуватися ентероцитами за допомогою переносників шляхом активного транспорту чи міжклітинного (парацелюлярного) транспорту, проникність якого регулюється щільними контактами клітин кишкового епітелію, переносення речовин через які, в свою чергу, може регулюватися різними речовинами харчового походження. Pihlanto-Leppälä у 1998 р. [106] і Meisel у 1999 р. [84], аналізуючи казеїнові фізіологічно активні пептиди, вказували на можливість їх утворення в процесі протеолізу казеїнів комерційними штамами молочнокислих бактерій, проте не було даних про ідентифікацію казокінінів у продуктах протеолізу під дією найбільш поширених молочнокислих бактерій – *Lactococcus lactis*, які входять до складу багатьох промислових заквасок для виробництва різних молочних продуктів. У 1991 р. В.Г. Юкало і Т.Л. Шуляк [13] вказали на можливість утворення біоактивних пептидів з білків молока під впливом протеїназ лактококів і протеолітичних ферментів. Клітини лактококів мають складну протеолітичну систему, до складу якої входять протеїнази і пептидази різної локалізації, а також транспортні системи для перенесення вільних амінокислот та олігопептидів [71, 91]. Juillard і співавт. [61] показали, що дія лише однієї протеїнази PrtP, виділеної із штаму Wg2 *Lactococcus lactis subsp. cremoris* на β-казеїн, спричиняє утворення більш ніж 100 різних олігопептидів. Попередньо нами було відібрано протеолітично-активні штами лактококів з високими технологічними властивостями, змодельовано процес протеолізу α_{S1}- і β-казеїнів лактококами, пепсином та фромазою і показано, що інкубація лактококів *Lactococcus lactis subsp. lactis* з казеїнами призводить до утворення казокінінів. Їх продукування посилюється шляхом внесення у середовище інкубації молокозгортаючого препарату фромази і є максимальним при синергічній дії на казеїни протеаз лактококів і пепсину [4, 5, 11, 12]. Gobbetti і співавт. [46] виявили утворення пептидних інгібіторів АПФ у кислому молоці при використанні заквасок *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (фрагменти β-казеїну 6-14, 7-14, 73-82, 74-82, 75-82) і *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (фрагменти β-казеїну 7-14, 47-52, 169-175 і к-казеїну 155-160, 152-160). Характерним є те, що надалі ці пептиди виявились стійкими до дії трипсину і хімотрипсину і зберігались протягом всього процесу виготовлення молоч-

ного продукту, а згадані види мікроорганізмів використовуються у технології виробництва багатьох сирів.

Інтенсивні дослідження харчових білків дозволили створити в 1999 р. [37] базу даних, яка налічує 527 фізіологічно активних послідовностей харчових білків, серед яких вагоме місце займають казеїнові пептиди. Активні дослідження умов, за яких утворюються фізіологічно активні пептиди з білків казеїнового комплексу молока, та визначення меж і форм їх застосування як функціональних біологічно-активних харчових добавок у продуктах спеціального призначення дозволять у майбутньому отримати новий клас лікувально-профілактичних харчових продуктів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дриновець Й. Профілактичне та лікувальне застосування інгібіторів АПФ // Мед. світу. – 1998. – **4**, № 3. – С. 128-135.

2. Жарінов О. Захист серця і судин – майбутнє покликання інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту // Мед. світу. – 2000. – **8**, № 2. – С. 80-85.

3. Жарінов О. Тягар смертності від серцево-судинних захворювань у Європі та Україні // Мед. світу. – 1998. – **4**, № 3. – С. 149-159.

4. Луговий Б.Л., Юкало В.Г., Гнатюк М.С. Антигіпертензивна активність олігопептидних препаратів, отриманих при протеолізі b казеїну лактококами у щурів з артеріальною гіпертензією // Мед. хім. – 2000. – № 3. – С. 16-19.

5. Луговий Б.Л., Юкало В.Г., Гнатюк М.С. Кардіопротекторні властивості олігопептидних препаратів, отриманих у процесі протеолізу β-казеїну протеазами клітин *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* // В зб.: Проблеми екологічної та медичної генетики та клінічної імунології. – Київ-Луганськ-Харків, 2001. – Вип. 7 (39). – С. 143-151.

6. Стан Е.Я., Гройсман С.Д., Красильщиков К.Б., Черников М.П. Влияние κ-казеинового гликомакропептида на моторику желудочно-кишечного тракта собак // Бюл. эксперим. биол. – 1983. – № 7. – С. 10-12.

7. Стан Е.Я., Екимовский А.П., Алейник С.И. и др. Выделение, аминокислотный состав и характер действия ингибиторов желудочной секреции из κ-казеина // Вопр. мед. хим. – 1986. – № 6. – С. 98-102.

8. Стан Е.Я., Екимовский А.П., Алейник С.И., Журавлёв Б.В. К вопросу о гетерогенности и физиологической активности продуктов протеолиза коровьего κ-казеина // Вопр. пит. – 1988. – № 1. – С.39-43.

9. Стан Е.Я., Черников М.П. Образование in vivo из белков крысиного молока пептида – ингибитора желудочной секреции // Бюл. эксперим. биол. – 1982. – № 8. – С. 64-66.

10. Черников М.П. Протеолиз и биологическая ценность белков (казеины как собственно пищевые белки). – М.: Медицина, 1975. – 231 с.

11. Юкало В.Г., Луговий Б.Л. Утворення антигіпертензивних пептидів при модельному протеолізі β-казеїну // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 3. – С. 78-83.

12. Юкало В.Г. Вплив продуктів протеолізу α_{S1}-казеїну на активність ангіотензинперетворюючого ферменту // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 5. – С. 28-32.

13. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеолиз казеинов ферментами молочнокислых стрептококков // Химические превращения пищевых полимеров: Тез. докл. – Калининград, 1991. – С. 22.

14. Adibi S.A. Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption // J. Clin. Inv. – 1971. – **50**. – P.2266-2275.

15. Adibi S.A., Kim Y.S. Peptide absorption and hydrolysis / Phisiology of the gastrointestinal tract / Ed. L.R. Johnson. – New York: Raven Press, 1981. – P. 1097-1099.

16. Aniansson G., Andersson B., Lindstedt R. et al. Anti-adhesive activity of human casein against Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae // Microbial. Pathogen. – 1990. – **8**. – P. 315-323.

17. Ariyoshi Y. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from food proteins // Trends Food Sci. Technol. – 1993. – **4**. – P. 139.

18. Asano M., Nio N., Ariyoshi Y. Inhibition of prolyl endopeptidase by synthetic peptide fragments of human β-casein // Agricult. Biol. Chem. – 1991. – **55**, № 3. – P. 825-828.

19. Assargard U., Larsson C., Norby U. et al. Beta-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments / Eds. Brantl V., H. Teschemacher – New York: VCH-Weinheim, 1994. – P. 247-254.

20. Azuma N., Nagaune S., Ishino Y. et al. DNA-synthesis stimulating peptide from human β-casein // Agricult. Biol. Chem. – 1989. – **53**, № 10. – P. 2631-2634.

21. Berthou J., Migliore-Samour D., Lifchitz A. et al. Immunostimulating properties and three-dimensional structure of two tripeptides from human and cow caseins // FEBS Lett. – 1987. – **218**, № 1. – P. 55-58.

22. Bezkorovainy A., Grolich D., Nichols J.H. Isolation of a glycopolypeptide fraction with Lactobacillus subspecies pennsylvanicus growth-promoting activity from whole human milk casein // Amer. J. Clin. Nutr. – 1979. – **32**. – P. 1428-1432.

23. Bodana A.R., Rao D.R. Antimutagenic activity of milk fermented by Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus // J. Dairy Sci. – 1990. – **73**. –

P. 3379.

24. Bouhallab S., Molle D., Leonil J. Tryptic hydrolysis of caseinomacropeptide in membrane reactor: preparation of bioactive peptides // Biotechnol. Lett. – 1992. – **14**. – P. 805-810.

25. Brandsch M., Brust P., Neubert K. et al. β-Casomorphins – chemical signals of intestinal transport systems // β-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments / Eds. V. Brantl, H. Teschemacher – New York: VCH Weinheim, 1994. – P. 207-219.

26. Brantl V., Neubert K. Opioid peptides derived from food proteins // Trends in Pharmacol. Sci. – 1986. – **7**. – № 1. – P. 6-7.

27. Brantl V., Pfeiffer A., Herz A. et al. Antinociceptive potencies of β-Casomorphin analogs as compared to their affinities towards m and s opiate receptor sites in brain and periphery // Pept. – 1982. – **3**. – P. 793-797.

28. Brantl V., Teschemacher H., Blдsig J. et al. Opioid activities of β-casomorphins // Life Sci. – 1981. – **28**, № 17. – P. 1903-1909.

29. Brantl V., Teschemacher H., Henschen A. et al. Novel opioid peptides derived from casein (β-Casomorphins). I. Isolation from bovine casein peptone // Hoppe-Seylers Zeitschrift fur Physiologische Chemie. – 1979. – **360**, № 9. – P. 1211-1216.

30. Brody E.P. Biological activities of bovine glycomacropeptide // British J. Nutr. – 2000. – **84**, Suppl. 1. – S. 39-46.

31. Chabance B., Marteau P., Rambaud J.C. et al. Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt // Biochim. – 1998. – **80**, № 2. – P. 155-165.

32. Chang K.J., Killian A., Hazum E. et al. Morphiceptine (NH_4-Tyr-Pro-Phe-Pro-$CONH_2$): a potent and specific agonist for morphine (m) receptors // Sci. – 1981. – **212**, № 4490. – P. 75-77.

33. Charlin V., Defilippi C., Vargas V. et al. Treatment of acute secretory diarrhea with casein: an effect of beta-casomorphins? // Revista Medica de Chile. – 1992. – **120**, № 6. – P. 667-669.

34. Chiba H., Tani F., Yoshikawa M. Opioid antagonist peptides derived from κ-casein // J. Dairy Res. – 1989. – **56**, № 3. – P. 363-366.

35. Daniel H., Vohwinkel M., Rehner G. Effect of casein and beta-casomorphins on gastrointestinal motility in rats // J. Nutr. – 1990. – **120**, № 3. – P. 252-257.

36. Dosako S., Kusano H., Deya E. et al. Infection Protectant // United States Patent 5147853. – 1992.

37. Dziuba J., Minkiewicz P., Nalecz D. et al. Database of biologically active peptide sequences // Nahrung. – 1999. – **43**, № 3. – P. 190-195.

38. Faure J-C., Schellenberg D.A. et al. Barrier effect of Bifidobacterium longum on a pathogenic Escherichia coli strain by gut colonization in the germfree rat // Zeitschrift fur Ernahrungswissenschaft. – 1984. – **23**. – P. 41-51.

39. Ferreira S.H., Barlet D.C., Green L.J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* // Biochem. – 1970. – **9**, № 13. – P. 2583-2593.

40. Fiat A.M., Jollиs P. Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects // Mol. Cel. Biochem. – 1989. – **87**. – P. 5-30.

41. Fiat A.-M., Levy-Tolenado S., Caen J.P. et al. Biologically active peptides of casein and lactotransferrin implicated in platelet function // J. Dairy Res. – 1989. – **56**, № 3. – P. 351-355.

42. Fiat A.M., Migliore-Samour D., Jollиs P. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities // J. Dairy Sci. – 1993. – **76**, №1. – P.301-310.

43. Francis G.S. ACE Inhibition in cardiovascular disease // New Engl. J. Med. – 2000. – **342**, № 3. – P. 201-202.

44. Gattegno L., Migliore-Samour D., Saffar L. et al. Enhancement of phagocytic activity of human monocytic-macrophagic cells by immunostimulating peptides from human casein // Immunol. Lett. – 1988. – **18**. – P. 27-32.

45. Gill H.S., Doull F., Rutherfurd K.J. et al. Immunoregulatory peptides in bovine milk // British J. Nutr. – 2000. – **84**, Suppl. 1. – S. 111-117.

46. Gobbetti M., Ferranti P., Smacchi E. et al. Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides in fermented milks started by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus SS1 and Lactococcus lactis subsp. cremoris FT4 // Appl. Envir. Microbiol. – 2000. – **66**, № 9. – P. 3898-3904.

47. Hadden J.W. Immunotherapy of human immunodeficiency virus infection // Trends Pharmacol. Sci. – 1991. – **12**. – P. 107-111.

48. Hansen M., Sandstom B., Jensen M., Sorensen S.S. Casein phosphopeptides improve zinc and calcium absorption from rice-based but not from whole grain infant cereal // J. Ped. Gastroenterol. Nutr. – 1997. – **24**. – P. 56-62.

49. Hara H., Funabiki R., Iwata M. et al. Portal absorption of small peptides in rats under unrestrained condition // J. Nutr. – 1984. – **114**. – P. 1122-1129.

50. Hata Y., Yamamoto M., Ohni M. et al. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects // Amer. J. Clin. Nutr. – 1996. – **64**, № 5. – P. 767-771.

51. Henschen A., Lottspeich F., Brantl V. et al. Novel opioid peptides derived from casein (β-Casomorphins). II. Structure of active components from bovine casein peptone // Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie. – 1979. – **360**, № 9. – P. 1217-224.

52. Hosoda M., Hashimoto H., Morita H. et al. Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine // J. Dairy Sci. – 1992. – **75**. – P. 976.

53. Hosono A., Kashina T., Kada T. Antimutagenic properties of lactic-acid-cultured milk on chemical and fecal mutagens // J. Dairy Sci. – 1986. – **69**, № 9. – P. 2237-2242.

54. Ikemoto F., Tanaka M., Ito S. et al. Angiotensin converting enzyme (ACE) in the kidney: contribution to blood pressure regulation and possible role of brush-border ACE // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1986. – **8**. – P. 69-74.

55. Jollčs P. Structural aspects of the milk clotting process // Mol. Cell. Biochem. – 1975. – **7**. – P. 73-85.

56. Jollčs P., Henschen A. Comparison between

the clotting of blood and milk // Trends Biochem. Sci. – 1982. – **7**. – P. 325-328.

57. Jollиs P., Loucheux-Lefebvre M.H., Henschen A. Structural relatedness of k-casein and fibrinogen γ-chain // J. Mol. Evol. – 1978. – **11**. – P. 271-277.

58. Jolles P., Migliore-Samour D. Preparation of immunological agents by treating lipid-free bovine casein with proteolytic enzyme and fractionating the product. – 1986. – Patent Assignee: Rhone-Poulenc Sante. WPI Acc No, 86-037423/06, United States Patent 4 851 509, European Patent 170 550.

59. Jolles P., Migore-Samour D., Parker F. Immunostimulant substances derived from bovine casein and compositions containing the same. – 1988. – Patent Assignee: Rhone-Poulenc Sante. United States Patent 4 777 243.

60. Jollиs P., Parker F., Floc'h F. et al. Immunostimulating substances from human casein // J. Immunopharmacol. – 1982. – **3**. – P. 363-369.

61. Juillard V., Laan H., Kunji E.R.S. et al. The extracellular PI type proteinase of *Lactococcus lactis* hydrolyzes β-casein into more than one hundred different oligopeptides // J. Bacteriol. – 1995. – **177**, № 12. – P. 3472-3478.

62. Kasai T., Honda T., Kiriyama S Caseinophosphopeptides (CPP) in feces of rats fed casein diet // Bioscie., Biotechnol., Biochem. – 1992. – **56**. – P. 1150-1151.

63. Kawasaki Y., Isoda H., Tanimoto M. et al. Inhibition by lactoferrin and k-casein glycomacropeptide of binding of cholera toxin to its receptor // Biosci., Biotechnol., Biochem. – 1992. – **56**. – P. 195-198.

64. Kayser H., Meisel H. Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins // FEBS Lett. – 1996. – **383**. – P. 18-20.

65. Kim Y.S., Bertwhistle W., Kim Y.W. Peptide hydrolyses in the brush border and soluble fractions of small intestinal mucosa of rat and man // J. Clin. Invest. – 1972. – **51**. – P. 1419-1427.

66. Kim Y.S., Brophy E.J., Nicholson J.A. Rat intestinal brush border membrane peptidases. 2. Enzymatic properties, immunochemistry and interaction with lectins of two different forms of the enzymes // J. Biol. Chem. – 1976. – **251**. – P. 3206-3214.

67. Koch K., Wiedemann K., Drebes E. et al. Human β-casomorphin-8 immunoreactive material in the plasma of women during pregnancy and after delivery // Regul. Pept. – 1988. – **20**. – P. 107-117.

68. Kohmura M., Nio N., Arioshi Y. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptide fragments of human κ-casein // Agricult. Biol. Chem. – 1990. – **54**, № 3. – P. 835-836.

69. Kohmura M., Nio N., Kubo K. et al. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptides of human β-casein // Agricult. Biol. Chem. – 1989. – **53**, № 8. – P. 2107-2114.

70. Lahov E., Regelson W. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk, casecidin, isracidin peptides // Food Chem. Toxicol. – 1996. – **34**. – P. 131-145.

71. Law J., Haandrikman A. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria // Intern. Dairy J. – 1997. – **7**. – P. 1-11.

72. Liepke C., Zucht H.D., Forssmann W.G. et al. Purification of novel peptide antibiotics from human milk // J. Chromatogr. B (Biomedical Sciences Applications). – 2001. – **752**, № 2. – P. 369-377.

73. Lottspeich F., Henschen A., Brantl V. et al. Novel opioid peptides derived from casein (β-Casomorphins). III. Synthetic peptides corresponding to components from bovine casein peptone // Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie. – 1980. – **361**, № 12. – P. 1835-1839.

74. Loukas S., Varoucha D., Zioudrou C. et al. Opioid activities and structures of α-casein-derived exorphins // Biochem. – 1983. – **22**, № 19. – P. 4567-4573.

75. Macdonald R.S., Thornton W.H., Marshal R.T. A cell culture model to identfy biologically active peptides generated by bacterial hydrolysis of casein // J. Dairy Sci. – 1994. – **77**, № 5. – P. 1167-1175.

76. Maeno M., Yamamoto N., Takano T. Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from Lactobacillus helveticus CP790 // J. Dairy Sci. – 1996. – **79**, № 8. – P. 1316-1321.

77. Maruyama S., Mitachi H., Awaja J. et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of the C-terminal hexapeptide of casein // Agricult. Biol. Chem. – 1987. – **51**, № 6. – P. 2557-2561.

78. Maruyama S., Nakagomi K., Tomizuka N. et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin-potentiating activity on the uterus and ileum of rats // Agricult. Biol. Chem. – 1985. – **49**. – P. 1405-1409.

79. Maruyama S., Suzuki H. A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein // Agricult. Biol. Chem. – 1982. – **46**. – P. 1393-1394.

80. Masuda O., Nakamura Y., Takano T Antihypertensive peptides are present in aorta after oral administration of sour milk containing peptides to spontaneously hypertensive rats // J. Nutr. – 1996. – **126**. – P. 3063-3068.

81. Matthies H., Stark H., Hartrodt B. et al. Derivatives of beta-casomorphins with high analgesic potency // Peptides. – 1984. – **5**, № 3. – P. 463-470.

82. Meisel H. Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins // Biopolym. – 1997. – **43**. – P. 119-128.

83. Meisel H. Casokinins as bioactive peptides in the primary structure of casein. / Food Proteins – Structure Functionality / Eds: Schwenke K.D., Mothes R. – New York: VCH Weinheim. – 1993. – P. 67-75.

84. Meisel H., Bockelmann W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties // Antonie van Leeuwenhoek. – 1999. – **76**. – P. 207-215.

85. Meisel H., FitzGerald R.J. Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences // British J. Nutr. – 2000. – **84**. – Suppl. 1. – S. 27-31.

86. Meisel H., Frister H. Chemical characterization of a caseinophosphopeptide isolated from *in vivo* digests of a casein diet // Biol. Chem. Hoppe-Seyler. – 1988. – **369**. – P. 1275-1279.

87. Meisel H., Frister H., Schlimme E. Biologically

active peptides in milk proteins // Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft – 1989. – **28**, № 4. – P. 267-278.

88. Meisel H., Goepfert A. Gьnther S. Occurrence of ACE inhibitory peptides in milk products // Milchwissenschaft. – 1997. – **52**. – P. 307-311.

89. Meisel H., Schlimme E. Bioactive peptides derived from milk proteins ingredients for functional foods // Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. – 1996. – **48**. – P. 343-357.

90. Meisel H., Schlimme E. Inhibitors of Angiotensin-Converting-Enzyme derived from bovine Casein (Casokinins) / β-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments / Eds: Brantl V., Teschemacher H. – New York: VCH Weinheim, 1994. – P. 3-17.

91. Mierau I., Kunji E.R.S., Venema G. et al. Caseins and peptide degradation in lactic acid bacteria // Biotechnol. Gen. Engin. Rev. – 1997. – **14**. – P. 279-301.

92. Mierke D. F., Nößner G., Schiller P.W. et al. Morphiceptin analogs containing 2-aminocyclopentane carboxylic acid as a peptidomimetic for proline // Intern. J. Pept. Prot. Res. – 1990. – **35**, № 1. – P. 35-45.

93. Migliore-Samour D., Floc'h F., Jollčs P. Biologically active casein peptides implicated in immunomodulation // J. Dairy Res. – 1989. – **56**. – P. 357-362.

94. Migliore-Samour D., Jollиs P. Casein, a prohormone with an immunomodulating role for the newborn? // Experientia. – 1988. – **44**. – P. 188-193.

95. Nagaune S., Azuma N., Ishino Y. et al. DNA-synthesis stimulating peptide from bovine β-casein // Agricult. Biol. Chem. – 1989. – V. 53. – № 12. – P. 3275-3278.

96. Naito H., Kawakami A., Imamura T. *in vivo* Formation of phosphopeptide with calcium-binding property in the small intestinal tract of the rat fed on casein // Agricult. Biol. Chem. – 1972. – V. 36. – № 3. – P. 409-415.

97. Nakamura Y., Masuda O., Takano T. Decrease of tissue angiotensin I converting enzyme activity upon feeding sour milk in spontaneously hypertensive rats // Bioscie., Biotechnol., Biochem. – 1996. – **60**, № 3. – P. 488-489.

98. Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K. et al. Purification and Characterization of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitors from Sour Milk // J. Dairy Sci. – 1995. – **78**, №-4. – P. 777-783.

99. Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K et al. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I – converting enzyme // J. Dairy Sci. – 1995. – **78**, № 6. – P. 1253-1257.

100. Neeser J.R., Chambaz A., Vedovo S.D. et al. Specific and nonspecific inhibition of adhesion of oral actinomyces and streptococci to erythrocytes and polystrene by caseinoglycopeptide derivatives // Infec. Immun. – 1988. – **56**. – P. 3201-3208.

101. Okunishi H., Kawamoto T., Kurobe Y. et al. Pathogenetic role of vascular angiotensin-converting enzyme in the spontaneously hypertensive rat // Clin. Experim. Pharmacol. Physiol. – 1991. – **18**. – P. 649-659.

102. Panksepp J., Normansell L., Siviy S. et al. Casomorphins reduce separation distress in chicks // Peptides. – 1984. – **5**, № 4. – P. 829-831.

103. Parker F., Migliore-Samour D., Floc'h F. et al. Immunostimulating hexapeptide from human casein: amino acid sequence, synthesis and biological properties // Eur. J. Biochem. – 1984. – **145**. – P. 677-682.

104. Paroli E. Opioid peptides from food (the exophrins) // World Review of Nutrition and Dietetics. – 1988. – **55**. – P. 58-97.

105. Pfeuffer M., Barth C.A. Influence of casomorfin on plasma lipid levels and lipid secretion rates // Milchwissenschaft. – 1988. – **43**, № 10. – P. 643-645.

106. Pihlanto-Leppälä A., Rokka T., Korhonen H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from bovine milk proteins // Intern. Dairy J. – 1998. – **8**. – P. 325-331.

107. Poch M., Bezkorovainy A. Bovine milk κ-casein trypsin digest is a growth enhancer for the genus Bifidobacterium // J. Agricult. Food Chem. – 1991. – **39**. – P. 73-77.

108. Poch M., Bezkorovainy A. Growth-enhancing supplements for various species of the genus Bifidobacterium // J. Dairy Sci. – 1988. – **71**. – P. 3214-4221.

109. Ramabadran K., Bansinath M. Pharmacology of β-casomorphins, opioid peptides derived from milk protein // Asia-Pacific J. Pharmacol. – 1989. – **4**. – P. 45.

110. Reynolds E. Phosphopeptides PCT, 1987/ Int Patent Application, WO 87/07615A1

111. Rutherfurd K.J., Gill H.S. Peptides affecting coagulation // British J. Nutr. – 2000. – **84**. – Suppl. 1. – S. 99-102.

112. Saito Y., Wanezaki K., Kawato A. et al. Antihypertensive effects of peptide in sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats // Biosci., Biotechnol., Biochem. – 1994. – **58**, № 5. – P. 812-816.

113. Saito Y., Wanezaki K., Kawato A. et al. Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sake and sake lees // Biosci., Biotechnol., Biochem. – 1994. – **58**, № 10. – P. 1767-1771.

114. Sans S., Kesteloot H., Kromhout G. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe // Eur. Heart J. – 1997. – **18**. – P. 1231-1248.

115. Sato R., Naguchi T. Naito H. Casein phosphopeptide (CPP) enhance calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 1986. – **32**. – P. 67-76.

116. Schlimme E., Meisel H. Bioactive peptides derived from milk proteins. Structural, physiological and analytical aspects // Die Nahrung. – 1995. – **39**, № 1. – P. 1-20.

117. Schusdziarra V., Schick R., De La Fuente A., Holland A., Brantl V., Pfeiffer E. Effect of β-Casomorphins and analogs on insuline release in dogs // Endocrinol. – 1983. – **112**. – P. 1948-1951.

118. Shimizu M. Modulation of intestinal functions by food substances // Die Nahrung/Food. – 1999. – **143**. – P. 154-158.

119. Stromqvist M., Falk P., Bergstrom S. et al. Human milk kappa-casein and inhibition of Helicobacter pylori adhesion to human gastric mucosa // J. Pediatric Gastroenterol. Nutr. – 1995. – **21**, № 3. – P. 288-296.

120. Teschemacher H., Umbach M., Hamel U. et al. No evidence for the presence of beta-casomorphins in human plasma after ingestion of cows' milk or milk

products. // J. Dairy Res. – 1986. – **53**. – P. 135-138.

121. Tome D., Dumontier A.M., Hautefeuille M., Desjeux J.F. Opiate activity and transepithelial passage of intact beta-casomorphins in rabbit ileum // Amer. J. Physiol. – 1987. – **253** (6 Pt 1). – G. 737-744.

122. Yamamoto N. Antihypertensive peptides derived from food proteins // Biopolymers. – 1997. – **43**. – P. 129-134.

123. Yamamoto N., Akino A., Takano T. Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 // J. Dairy Sci. – 1994. – **77**. – P. 917-922.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДЫ КАЗЕИНОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В.Г. Юкало, Б.Л. Луговый

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.ПУЛЮЯ

Резюме

Казеиновые белки молока являются предшественниками биоактивных пептидов, которые способны влиять на работу различных физиологических систем организма. В частности, казоморфины потенциируют морфиноподобную активность, казоксины выступают антагонистами опиатных рецепторов, казокинины тормозят активность ангиотензинпревращающего фермента и снижают артериальное давление при гипертензии, казоплателины предупреждают образование тромбов, влияя на процес гемокоагуляции, имуноказопептиды модулируют деятельность иммунной системы организма, казоцидины угнетают развитие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, фосфоказопептиды влияют на минеральный обмен, а гликомакропептид к-казеина ингибирует желудочную секрецию и моторику. Кроме этого, казопептиды могут предупреждать злокачественные преобразования в толстой и прямой кишках, а также связывать свободные радикалы. Для многих казопептидов есть характерным феномен полифункциональной активности. В роботе рассматриваются история открытия и физиологические эффекты, продемонстрированные казеиновыми пептидами, описуются пути их получения, обсуждается вопрос о возможном их использовании в будущем в продуктах специального назначения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **молоко, казеины, пептиды, протеолиз, пищеварительные ферменты, молокосвертывающие препараты, молочнокислые бактерии.**

PHYSIOLOGICALLY ACTIVE CASEIN-DERIVED PEPTIDES

V.G. Yukalo, B.L. Luhovyy

TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY BY IVAN PULUI

Summary

Milk casein proteins are precursors of bioactive peptides, which can act as endogenous regulators of the different physiologic systems. Among the casein-derived peptides are opioid agonistic and antagonistic peptides, substances with immunomodulative and antibacterial properties, antihypertensive, antitrombotic peptides and mineral-binding peptides. A lot of casopeptides have shown polyfunctional activity. The history of casopeptides invention and their physiologic activities and possible using are proposed in this review.

KEY WORDS: **milk, caseins, peptides, proteolysis, digestive enzymes, milk-clotting enzymes, milk-acid bacteria.**

Отримано 27.05.2002 р.

Адреса для листування: *В.Г. Юкало, кафедра харчової біотехнології і хімії, Тернопільський державний технічний університет ім. Івана Пулюя, вул. Руська, 56,Тернопіль, 46001, Україна.*

УДК 547.674.06

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ЗАМІЩЕНИХ 3,5-ДИНІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

С.Г. Ісаєв, О.І. Павлій, О.М. Свєчнікова
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Розроблено методику кількісного визначення заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот шляхом двофазного титрування. Вона характеризується високою точністю, простотою, експресністю. Відносна помилка визначень даною методикою не перевищує 0,5 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **N-фенілантранілова кислота, кількісне визначення.**

ВСТУП. Широкий спектр біологічної активності, низька токсичність і відносно прості умови синтезу примушують дослідників постійно здійснювати пошук біологічно активних речовин серед похідних N-фенілантранілових кислот [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Важливим аспектом у проведенні біофармацевтичних досліджень N-фенілантранілових кислот є розробка методів їх кількісного визначення. Сполуки цього класу похідних, за даними літератури [7, 8], визначають методом потенціометричного титрування в неводних і змішаних розчинниках, який вимагає значних витрат часу. Метою цієї роботи була розробка експресної методики кількісного визначення 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот, важкорозчинних у воді.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження були заміщені 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот, які синтезовані за модифікованою нами реакцією Ульмана [9].

Апаратура та реактиви для кількісного визначення 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот методом двофазного титрування: мікробюретка (місткість – 5 мл); колба з притертою пробкою (місткість – 100 мл); н-октанол; тимолфталеїн (0,1 % спиртовий розчин); натрію гідроксид (0,1 М розчин).

Потенціометричне титрування проводили у змішаному розчиннику "діоксан-вода" (60 об'ємних відсотків діоксану) на іономірі ЕВ-74 з використанням індикаторного скляного (ЕСП 45-07) та хлоросрібного (ЕВЛ-ЛМ1) електродів.

За літературними джерелами, N-фенілантранілові кислоти визначають методом потенціометричного титрування у неводних та змішаних розчинниках [7, 8], оскільки у воді ці сполуки практично не розчинні. Вказаний метод точний, але тривалий у виконанні. Для досліджуваних нами 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот експресні методики кількісного визначення не розроблено.

За основу було взято метод двофазного (екстракційного) титрування в присутності індикатора, який не екстрагується. Суть методу полягає у прямому титруванні 0,1 М розчином NaOH двофазної системи, що складається з органічної фази, в якій знаходиться аналізована речовина, розчинна в н-октанолі, й водної фази, де міститься індикатор (1 % спиртовий розчин тимолфталеїну). При цьому порушується екстракційна рівновага і натрієва сіль N-фенілантранілової кислоти переходить у водну фазу. Експериментальними дослідженнями визначено оптимальні умови для двофазного титрування. За органічну фазу було обрано октанол, в якому спостерігається висока розчинність аналізованих сполук. Оптимальний об'єм органічної фази – 20 мл, водної – 40 мл, індикатор – тимолфталеїн.

Методика кількісного визначення 3,5-динітро-N-(2'-метилфеніл)антранілової кислоти (I) шляхом двофазного титрування

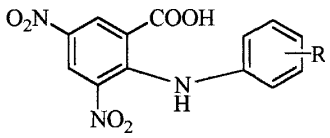
Точну наважку 3,5-динітро-N-(2'-метилфеніл)антранілової кислоти (0,10-0,15 г) вміщують у колбу з притертою пробкою місткістю 100 мл, додають 20 мл октанолу і розчиняють наважку. Додають 40 мл дистильованої води і 8-10 крапель 0,1 % спиртового розчину тимолфталеїну. Титрують 0,1 М розчином NaOH при інтенсивному перемішуванні до появи слабкого синього забарвлення водного шару.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати кількісного визначення 3,5-динітро-N-

© С.Г. Ісаєв – к.фарм.н., О.І. Павлій – д.м.н., проф., О.М. Свєчнікова, 2002.

фенілантранілових кислот (I-X) за розробленою методикою і методом потенціометричного титрування у змішаному розчиннику "діоксан-вода" наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – **Результати кількісного визначення заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот методами двофазного та потенціометричного титрування**



Сполука	Метод двофазного титрування			Метод потенціометричного титрування		
R	Наважка, г	Знайдено, %	Метрологічні характеристики	Наважка, г	Знайдено, %	Метрологічні характеристики
1	2	3	4	5	6	7
I	0,1032	99,78	x=99,93 %	0,1038	99,89	x=99,68 %
	0,0950	99,46	S=0,355	0,1169	99,40	S=0,404
2'-CHз	0,1239	99,84	Sx=0,159	0,1420	100,30	Sx=0,181
	0,1155	100,31	Δx=0,44	0,0966	99,51	Δx=0,09
	0,1306	100,26	ε=0,44 %	0,1263	99,29	ε=0,09 %
II	0,1244	99,29	x=99,93 %	0,1454	100,40	x=100,08 %
	0,1306	99,86	S=0,458	0,1063	100,08	S=0,245
3'-CH_3	0,1171	100,28	Sx=0,205	0,1059	100,20	Sx=0,109
	0,1131	100,25	Δx=0,488	0,1207	99,96	Δx=0,30
	0,1208	99,42	ε=0,49 %	0,1409	99,75	ε =0,30 %
III	0,1506	99,93	x=99,74 %	0,1224	99,80	x=99,59 %
	0,1039	100,08	S=0,281	0,1129	99,85	S=0,216
4'-CHз	0,1166	99,78	Sx=0,125	0,1433	99,49	Sx=0,096
	0,1034	99,45	Δx=0,35	0,1255	99,42	Δx=0,27
	0,1302	99,46	ε=0,35 %	0,1410	99,40	ε=0,27 %
IV	0,1277	99,00	x=99,23 %	0,1152	99,70	x=99,91 %
	0,1139	99,47	S= 0,199	0,1098	99,95	S=0,1710
3',4'-$(CH_3)_2$	0,1098	99,28	Sx=0,089	0,0983	100,15	Sx=0,076
	0,1052	99,05	Δx=0,25	0,1201	99,80	Δx=0,18
	0,1043	99,35	ε=0,25 %	0,1160	99,95	ε=0,18 %
V	0,0986	99,03	x=99,31 %	0,1259	100,00	x=100,01 %
	0,1034	99,32	S=0,364	0,1036	100,68	S=0,106
2'-OCHз	0,1202	99,72	Sx=0,163	0,1152	100,00	Sx=0,047
	0,1306	99,61	Δx=0,45	0,1350	100,11	Δx=0,13
	0,1204	99,87	ε=0,46 %	0,1302	99,86	ε=0,13 %
VI	0,1422	99,93	x=99,53 %	0,1074	100,08	x=99,81 %
	0,1207	99,52	S=0,464	0,1020	99,53	S=0,187
4'-OCHз	0,1390	100,11	Sx=0,207	0,1203	99,67	Sx=0,083
	0,1195	99,27	Δx=0,53	0,1168	99,99	Δx=0,02
	0,1088	99,84	ε=0,53 %	0,1109	99,80	ε=0,02 %
VII	0,1152	99,19	x=99,50 %	0,1010	100,20	x=99,93 %
	0,1099	99,79	S=0,397	0,1201	99,64	S=0,2835
2'-Br	0,1086	99,45	Sx=0,177	0,1309	99,80	Sx=0,127
	0,1022	99,09	Δx=0,49	0,1412	99,83	Δx=0,35
	0,1036	99,96	ε=0,49 %	0,1322	100,18	ε=0,35 %
VIII	0,1201	99,40	x=99,93 %	0,1045	100,16	x=100,06 %
	0,1133	100,00	S=0,426	0,1069	99,95	S = 0,148
3'-Br	0,1077	100,20	Sx=0,191	0,1077	100,20	Sx= 0,066
	0,1094	100,48	Δx=0,53	0,1082	99,89	Δx=0,18
	0,1090	99,67	ε=0,53 %	0,1150	100,12	ε=0,18 %
IX	0,1302	99,45	x=99,41 %	0,1206	99,92	x=99,91 %
	0,1477	99,81	S=0,391	0,1352	100,03	S=0,171
4'-Br	0,1008	98,96	Sx=0,175	0,1162	99,90	Sx=0,076
	0,1337	99,10	Δx=0,49	0,1299	100,00	Δx=0,18
	0,1302	99,73	ε=0,49 %	0,1434	99,70	ε=0,18 %
X	0,1058	100,02	x=99,72 %	0,1014	99,30	x=99,73 %
	0,1033	99,68	S=0,381	0,1075	100,00	S=0,332
2'-C1	0,1098	99,20	Sx=0,171	0,1133	99,54	Sx=0,149
	0,1063	99,97	Δx=0,47	0,1170	100,12	Δx=0,41
	0,1154	99,73	ε=0,48 %	0,1207	99,70	ε=0,41 %

Розроблена методика швидка у виконанні, надійна, експресна, чим вигідно відрізняється від методу потенціометричного титрування. Природа замісника та його положення в бензольному кільці неантранілового фрагмента N-фенілантранілових кислот не впливає на результати кількісного визначення.

ВИСНОВОК. Розроблено методику кількісного визначення 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот шляхом двофазного титрування в системі "октанол-вода", яка характеризується простотою, експресністю, надійністю та досить високою точністю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бризицький О.А., Свєчнікова О.М., Ісаєв С.Г., Дрововоз С.М. Дослідження біологічної дії металокомплексів нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот // Мед. хім. – 2001. – **3**, № 4. – С. 44-47.

2. Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.О., Брунь Л.В. Синтез нітро-N-фенілантранілових кислот у твердій фазі та їх біологічна активність // Вісн. фарм. – 2001. – № 3 (27). – С. 44-45.

3. Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І. Синтез, будова та біологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот // Фарм. журн. – 2001. – № 2. – С. 53-57.

4. Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І., Яременко В.Д. Синтез, будова та протизапальна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот // Фарм. журн. – 2001. – № 2. – С. 53-57.

5. Исаев С.Г. Получение, строение и биологическая активность замещенных 3,5-динитро-N-фенилантраниловой кислоты и 5,7-динитроакридонов-9 // Лекарства – человеку. – 2000. – **12**, № 1. – С. 54-58.

6. Исаев С.Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства 3,5-дихлор-N-арилантраниловых кислот // Фізіол. акт. речов. -1999. – № 1 (27). – С. 38-40.

7. Коренман И.М. Методы количественного анализа. – М.: Химия, 1989. – 124 с.

8. Максютина Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А. и др. Методы анализа лекарств. – К.: Здоров'я, 1984. – 224 с.

9. Пат. 433114 А Україна, МІЖ С 07 С 205/06, С 07 С 229 58. Спосіб одержання заміщених 3-, 4-, 5-, 6-нітро-2-N-фенілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.І. Павлій, І.А. Зупанець та ін. – Заявл. 1.12.98; Опубл. 15.02.2001. – Бюл. № 1.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ 3,5-ДИНИТРО-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

С.Г. Исаев, О.И. Павлий, О.М. Свечникова

НАЦИОНАЛЬНАЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Разработано методику количественного определения замещенных 3,5 динитро-N-фенилантраниловых кислот путем двофазного титрования. Она характеризируется высокой точностью, простотой, экспрессностью. Относительная ошибка определений данной методикой не превышает 0,5 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **N-фенилантраниловая кислота, количественное определение.**

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF 3,5-DINITRO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

S.G. Isayev, O.I. Pavliy, O.M. Sviechnikova

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

The authors worked out the method of quantitative determination of 3,5-dinitro-N-phenylanthranilic acids by means of two-phase titration. The method is simple, reliable, rapid. Relative error of determinations by above-mentioned method doesn't exceed 0,5 %.

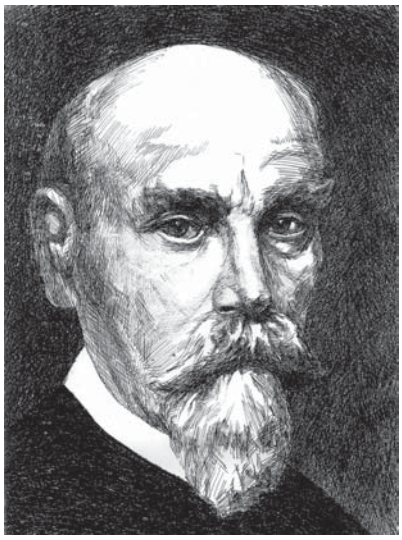
KEY WORDS: **N-phenylanthranilic acid, quantitative determination.**

Отримано 28.05.2002 р.

Адреса для листування: *С.Г. Ісаєв, Вул. Гарібальді, 11А, кв. 21, Харків, 61142, Україна.*

АКАДЕМІК ІВАН ГОРБАЧЕВСЬКИЙ: 60 РОКІВ З ЧАСУ СМЕРТІ ТА 120 РОКІВ ВІД ЧАСУ СИНТЕЗУ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ

ACADEMICIAN IVAN HORBACHEVSKY: 60 YEARS FROM THE DATE OF DEATH AND 120 YEARS FROM THE TIME OF URINE ACID SYNTHESIS



У листопаді цього року минуло 120 років з того часу, коли вперше у світі молодий 28-літній українець, випускник Віденського університету Іван Горбачевський штучно синтезував сечову кислоту. Його наукова праця "Синтез сечової кислоти" з'являється на сторінках австрійських, німецьких та польських наукових часописів. Вона викликала наукову сенсацію, здивування та захоплення в науковому світі. Якщо б у ті часи існувала Нобелівська премія, то, безумовно, Горбачевський був би нею нагороджений. Чому ж таке захоплення викликала праця із синтезу сечової кислоти? Ця кислота була відома ще в XVII ст. як така, що входить до складу сечових камінців і сечі. Спроби одержати її штучно не вдавались нікому, хоча над цим питанням працювали всесвітньо відомі вчені Є. Фішер, В. Краубе, О. Розен та ін. У 1838 р. Ю. Лібіх і Ф. Веллєр писали: "... в органічній хімії немає речовини, яка приковувала б увагу фізіологів і хіміків більшою мірою, ніж сечова кислота". Горбачевському була знайома праця німецького вченого Д. Штеккера, який встановив, що при нагріванні сечової кислоти з йодидом водню вона розпадається на вуглекислоту, аміак та амінокислоту гліцин.

Логічно міркуючи, він припустив, що аміак та вуглекислий газ, який отримав Штеккер при нагріванні сечової кислоти, є кінцевими продуктами розпаду сечовини, яка попередньо утворилася із сечової кислоти. Ось чому для синтезу сечової кислоти молодий науковець, асистент Інституту лікарської хімії Іван Горбачевський використав продукти її розщеплення – гліцин та сечовину. Взявши суміш цих двох речовин у співвідношенні 1:10, він підігрів її до температури 230 °С, сплав охолодив, а потім розчинив у розведеному калійному лузі. У подальшому за допомогою магнезіальної суміші та розчину $[Ag(NH_3)_2]OH$ було осаджено сечокислий аргентум. Із лужного розчину при підкисленні хлоридною кислотою одержали осад сечової кислоти. Так уперше в історії науки було синтезовано сечову (уреатну) кислоту. Це відкриття принесло велику славу і честь австрійській науці, зокрема Віденському університету.

Велика увага, що була спрямована на синтез сечової кислоти Горбачевським пояснюється не тільки тим, що вперше її синтезував молодий, маловідомий у науковому світі працівник Віденського університету, і не лише тим, що над цим питанням працювало багато знаменитих учених світу, але і тим, що в цей період у біології і медицині домінував так званий віталістичний напрямок, згідно з яким речовини, властиві живому організмові, не можуть бути одержані штучно поза організмом.

Праця І. Горбачевського із синтезу сечової кислоти вплинула на всю його наступну долю. Уже через рік його запрошують до Празького університету на посаду професора медичного факультету, а в 1884 році обирають професором лікарської хімії з одночасним викладанням фармакології. Ім'я Горбачевського стає відомим у всьому науковому світі. У наступні роки він запропонував інші способи синтезу сечової кислоти, синтезував креатин; довів, що амінокислоти є будівельним матеріалом для білків, відкрив фермент ксантиноксидазу, що бере участь в утворенні сечової кислоти в організмі людини. Заслуга І. Горбачевського і в тому, що він уперше (1889) встановив джерела сечової кислоти в організмі. Це азотовмісні основи гіпоксантин та ксантин, які утворюються з білків-нуклеопротеїнів внаслідок протеолізу. Все вищеназване дало підставу французькому журналу "Semaine des Hopitaux" у 1953 році стверджувати, що "всі праці Горбачевського з утворення сечової кислоти досі неперевершені". Значення праць Горбачевського з перетворення нуклеїнових кислот до кінцевих продуктів можна належно оцінити з точки зору регуляції синтезу і розщеплення нуклеїнових кислот, що інтенсивно опрацьовується в наш час і поглиблює наше уявлення про суть життя на молекулярному рівні. Усі наступні праці (наукові, педагогічні, видавничі, громадсько-політичні) Івана Яковича були пов'язані з чеським Карловим університетом у Празі, з якими його поєднувало близько 40 років. У Празі Горбачевський провів

ряд наукових досліджень з комунальної і харчової гігієни, загальної хімії, епідеміології, судової медицини, токсикології. Він навчав та виростив велику когорту лікарів та науковців, які ще і тепер продовжують і розвивають наукові напрямки, започатковані вчителем.

Роль Івана Яковича в науковому житті Чехії настільки велика, що в деяких чеських енциклопедіях визначається, що професор І. Горбачевський був великим чеським ученим українського походження. У Празі його обрали деканом медичного факультету на декілька каденцій та ректором Карлового університету в 1902-1903 роках.

Багатостороння діяльність І. Горбачевського в Чехії була достойно оцінена науковою громадськістю та урядом. У 1918 році його призначили на посаду міністра здоров'я Австро-Угорщини. Це був перший міністр здоров'я на всю Європу. Всі свої творчі й наукові досягнення Іван Горбачевський присвячував своєму народові, який тривалий час переживав ненайкращі часи під владою чужих імперій.

Народився Іван Горбачевський 15 травня 1854 році в родині парахіального священика Якова та його дружини Гонорати в с. Зарубинці Збаразького району, що на Тернопільщині. Отець Яків проводив велику виховну національно-просвітну роботу серед своїх парафіян. Вдома читав своїм вірним "Кобзар" Тараса Шевченка про історію українського народу, його тяжку і несправедливу долю, через це викликав підозру в місцевої влади. За україно фільство до нього не раз навідувались представники австрійської поліції. Своїм рідним і дітям своєї парафії отець Яків прищепив любов до Бога й України, повагу до праці й тягу до знань. Заповіти батька Іван проніс через усе життя і передав як естафету своїм учням та послідовникам. Закінчивши в м. Збаражі народну школу (т. зв. гауптнормальшулє) з німецькою мовою навчання, він продовжує вчитися в класичній гімназії з польською мовою навчання в м. Тернополі. Тут він стає членом таємного гуртка української молоді "Громада", де здобуває першооснови української національної свідомості. Метою громадівців було пробудити в народу національну свідомість, що мала неабияке значення, враховуючи польсько-німецьке оточення викладацького складу та засилля москвофільства серед тогочасної нечисленної інтелігенції Галичини. Після закінчення гімназії Іван обирає професію лікаря, тому подальша його життєва стежка потяглася до Віденського університету на медичний факультет (у Галичині вищих навчальних студій не було). Ще будучи студентом, він виявив схильність та великі здібності до наукової праці й цим зацікавив своїх професорів.

На II курсі університету І. Горбачевський виконав і надрукував першу свою працю "Про вестибулярний нерв", за що був відзначений адміністрацією університету і зарахований до наукового німецького товариства. Як допитливий юнак він швидко збагнув, що медицина мусить спиратися на глибокі знання з хімії. Ось чому його наступні студії, дослідження і публікації були переважно пов'язані з органічною, біологічною та лікарською хімією. Більшу частину життя Іван Якович присвятив вивченню хімічного складу та хімічних процесів у організмі здорової та хворої людини, з'ясуванню причин та опрацюванню способів лікування багатьох недуг.

Перебуваючи майже все своє свідоме життя за межами України, І. Горбачевський ніколи не поривав зв'язків з нею, жив її болем і радощами. Своїми діями він формував суспільну свідомість українських студентів і лікарів, наближав день визволення України від чужоземців. З розпадом Австро-Угорщини І. Горбачевський став активним учасником створення ЗУНР, розробив програму охорони здоров'я для УНР. У 1923-1924 роках та 1931-1935 обіймав посаду ректора Українського вільного університету в Празі. 6 квітня 1925 року І. Горбачевського обрали академіком ВУАН за спеціальністю "Біохімія".

Наукова і педагогічна творчість та громадсько-патріотична робота Івана Яковича ще довго служитимуть молодим українцям зразком чесності, наполегливості, працьовитості та відданості своїй батьківщині. Разом із тим, він був надзвичайно доступним і щирим у спілкуванні, вимогливим до себе і своїх близьких, справедливим і безкомпромісним в оцінці вчинків людей та наукових істин, хоча володів багатьма титулами: доктор медицини, професор, декан медичного факультету Карлового університету в Празі, згодом – його ректор, член Санітарної Ради Чеського королівства, член Найвищої Ради здоров'я Австро-Угорщини у Відні, член Ради з технічних досліджень у Відні, довічний член Палати Панів Австрійського Парламенту з правом на "ексцеленцію", дійсний таємний радник, перший міністр здоров'я Австро-Угорщини, завідувач кафедри лікарської хімії, ректор Українського Вільного університету в Празі, професор хімії Падебрадської господарської Академії, дійсний член ВУАН, дійсний і почесний член НТШ.

Д.м.н., проф. Я.І. Гонський – професор кафедри медичної хімії Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського;
Чл.-кор. АМН України, д.м.н., проф. Ю.І. Губський – завідувач кафедри біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця

VIII УКРАЇНСЬКИЙ БІОХІМІЧНИЙ З'ЇЗД

THE VIII-TH UKRAINIAN BIOCHEMICAL CONGRESS

1-3 жовтня 2002 р. на базі Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича та Буковинської державної медичної академії проходив VIII Український біохімічний з'їзд, в роботі якого взяли участь 462 делегати з усіх регіонів України. Робота з'їзду складалась із шести секцій. Найбільшою з них була секція "Молекулярні механізми патологічних процесів" (куратори: чл.-кор. НАН і АМН України Н.М. Гула, чл.-кор. АМН України Ю.І. Губський, акад. АНВШ України В.П. Пішак, проф. О.С. Мікоша, проф. М.П. Дмитренко, проф. І.Ф. Мещишен), робота якої проходила на базі академії. З привітанням до делегатів і гостей з'їзду виступив ректор академії В.П. Пішак. На двох симпозіальних засіданнях секції було заслухано 8 доповідей провідних біохіміків України (Н.М. Гулої, Ю.І. Губського, О.К. Кульчицького, О.С. Мікоші та ін.). У дискусіях взяли участь 26 фахівців. Щоденно здійснювалась презентація стендових доповідей з одночасним проведенням конкурсу на кращу наукову роботу серед молодих учених. Куратори секції визнали найкращою стендову доповідь асистента кафедри госпітальної терапії та клінічної фармакології Буковинської медакадемії Кендзерської Тетяни Бернардівни (науковий керівник – проф. Т.М. Христич) на тему "Біохімічні маркери активності патологічних процесів у крові хворих похилого віку на хронічний панкреатит". Т.Б. Кендзерська нагороджена грошовою премією Українського біохімічного товариства.

Під час роботи з'їзду на базі академії було проведено розширене засідання Проблемної комісії МОЗ та АМН України "Біологічна та медична хімія" під головуванням члена-кореспондента АМН України Ю.І. Губського. Комісія затвердила теми кандидатських дисертацій і розглянула питання викладання біологічної хімії у вищих навчальних медичних закладах республіки. У роботі комісії взяли участь завідувачі кафедр медичної (біологічної) хімії медвузів України.

З'їзд закінчився. Його учасники повезли додому нові ідеї, досвід колег, радість від спілкування, теплі враження про наше місто, Буковинську державну медичну академію, які гостинно прийняли такий важливий представницький форум. Три дні Чернівці були столицею українських біохіміків.

Завідувач кафедри медичної хімії
Буковинської державної
медичної академії,
професор І.Ф. Мещишен