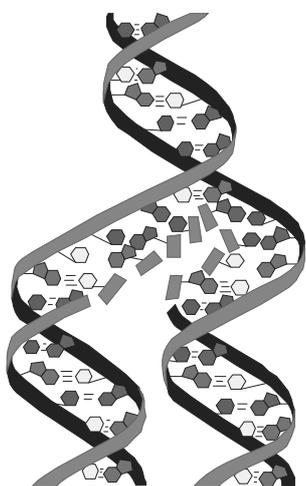


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



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

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

3(60) TOM 16
2014

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

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

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить щоквартально
Published 4 times per year

Заснований у грудні 1999 року
Founded in December 1999

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

Передплатний індекс: 22869
Subscription index: 22869

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

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

Рекомендовано до видання вченою радою ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" (протокол № 1 від 29 серпня 2014 р.).

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

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

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

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

© Науковий журнал "Медична хімія", 2014
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2014

Зміст

Contents

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОХІМІЯ І МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ І ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА	EXPERIMENTAL BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY DIAGNOSIS
<i>Заїчко Н. В.</i> (Вінниця) СТАН ТРОМБОЦИТІВ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ ПОРУШЕННЯМИ ОБМІНУ ГОМОЦИСТЕЇНУ, ЦИСТЕЇНУ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ	<i>Zaichko N. V.</i> (Vinnytsia) PLATELETS PARAMETERS IN RATS WITH HOMOCYSTEINE, CYSTEINE AND HYDROGEN SULFIDE EXPERIMENTAL METABOLIC DISORDERS
7	7
<i>Грич М. С., Кургузова Н. І., Божков А. І.</i> (Харків) ЗМІНИ ВМІСТУ БІЛІРУБІНУ ТА СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В СИРОВАТЦІ КРОВІ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІД ЧАС ЦИКЛІЧНОГО РЕЖИМУ ГОДУВАННЯ	<i>Hirych M. S., Kurhuzova N. I., Bozhkov A. I.</i> (Kharkiv) CHANGES IN THE CONTENT OF BILIRUBIN AND URIC ACID IN SERUM OF OLD AND YOUNG RATS UPON CYCLIC FEEDING REGIMEN
12	12
<i>Іскра Р. Я., Слівінська О. М.</i> (Львів) ВПЛИВ ЦИТРАТУ ХРОМУ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН У КРОВІ ЩУРІВ ЗА СТРЕПТОЗОЦИНІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ	<i>Iskra R. Ya., Slivinska O. M.</i> (Lviv) INFLUENCE OF CHROMIUM CITRATE ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM IN RATS WITH STREPTOZOCININDUCED DIABETES
16	16
<i>Шеремета Л. М.</i> (Івано-Франківськ) ПРО ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ТА ГІСТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ПОРІВНЯЛЬНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ВІТЧИЗНЯНИХ ЛІПОСОМАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ	<i>Sheremeta L. M.</i> (Ivano-Frankivsk) ABOUT SOME BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL PARAMETERS IN COMPARATIVE STUDY OF DOMESTIC LIPOSOMAL HEPATOPROTECTIVE PREPARATIONS IN EXPERIMENTAL DRUG-INDUCED HEPATITIS
20	20
<i>Міц І. Р.</i> (Тернопіль) ПОШКОДЖУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА МОЛОДИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ	<i>Mits I. R.</i> (Ternopil) DAMAGING EFFECT OF CHRONIC STRESS ON YOUNG RATS OF DIFFERENT SEX
25	25
<i>Грінкевич В. М., Юрченко Н. П., Глущенко Н. М.</i> (Київ) ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ У СЕРОЗНИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧНИКА ЗАЛЕЖНО ВІД СТАНУ МЕНСТРУАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ХВОРИХ	<i>Hrinkevych V. M., Yurchenko N. P., Hlushchenko N. M.</i> (Kyiv) EXPRESSION OF STEROID HORMONE RECEPTORS IN SEROUS OVARIAN CANCER WHICH DEPENDS ON MENSTRUAL FUNCTION OF PATIENTS
29	29
<i>Гордієнко В. В.</i> (Чернівці) ОСОБЛИВОСТІ ЦИРКАДІАННИХ БІОРИТМІВ ПОКАЗНИКІВ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ В СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ ДІЇ НИЗЬКИХ ДОЗ КАДМІЮ ХЛОРИДУ	<i>Hordiyenko V. V.</i> (Chernivtsi) PECULIARITIES OF CIRCADIANIAN BIORHYTHMS OF PRO/ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS INDECES IN PREADOLESCENT RATS BY THE INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE IN SMALL DOSAGES FOR A LONG TIME
33	33
<i>Криницька І. Я., Кліщ І. М., Куліцька М. І.</i> (Тернопіль) ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ МОДЕЛЯМИ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМУ	<i>Krynytska I. Ya., Klisich I. M., Kulitska M. I.</i> (Ternopil) COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF BIOCHEMICAL INDICES OF THE LIVER FUNCTIONAL STATE IN RATS WITH DIFFERENT MODELS OF HEPATOPULMONARY SYNDROME
38	38
<i>Тарасенко К. В.</i> (Полтава) МЕХАНІЗМИ ПРОГРЕСУВАННЯ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У ВАГІТНИХ ЖІНОК З ОЖИРІННЯМ	<i>Tarasenko K. V.</i> (Poltava) MECHANISMS OF INSULIN RESISTANCE PROGRESSION IN PREGNANT WOMEN WITH OBESITY
42	42
<i>Тарасенко Л. М., Омельченко О. Є., Цубер В. Ю., Білець М. В., Мартинова С. М.</i> (Полтава) ВПЛИВ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ЗМІШАНОЇ ДІЄТИ НА ВИРАЗКОВЕ УШКОДЖЕННЯ ШЛУНКА ТА ІНКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ	<i>Tarasenko L. M., Omelchenko O. Ye., Tsuber V. Yu., Bilets M. V., Martynova S. M.</i> (Poltava) EFFECT OF HIGH-CALORIC MIXED DIET ON GASTRIC ULCER LESIONS AND PANCREATIC INCRETION FUNCTION AT IMMOBILIZATION STRESS IN RATS
46	46
<i>Ястремська С. О., Палиця Л. М., Ястремська І. М., Коробчук В. М., Корда М. М.</i> (Тернопіль) РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В РЕАЛІЗАЦІЇ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ КАРБОНОВИХ НАНОЧАСТИНОК	<i>Yastremska S. O., Palytsia L. M., Yastremska I. M., Korobchuk V. M., Korda M. M.</i> (Ternopil) ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN THE IMPLEMENTATION OF TOXIC EFFECTS OF CARBON NANOPARTICLES
50	50

Куш О. Г., Васильчук Н. Г. (Запоріжжя) ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ МЕДІАСТИНАЛЬНОГО ЛІМФОВУЗЛА В ПІСЛЯНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД У НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНУ ЛЮДИНИ	Kushch O. H., Vasylychuk N. H. (Zaporizhzhya) PECULIARITIES OF FORMATION OF MEDIASTINAL LYMPH NODE IN POSTNATAL PERIOD IN NORM AND AFTER THE ANTENATAL INTRODUCTION OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN	55
Антонишин І. В., Марущак М. І., Денефіль О. В. (Тернопіль) СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДІЄТИНДУКОВАНОМУ АЛІМЕНТАРНОМУ ОЖИРІННІ	Antonyshyn I. V., Marushchak M. I., Denefil O. V. (Ternopil) LIPID PEROXIDATION STATUS IN EXPERIMENTAL DIET-INDUCED ALIMENTARY OBESITY	61
Дікал М. В., Ференчук Є. О. (Чернівці) ОСОБЛИВОСТІ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗНОЇ І Н ⁺ -АТР-АЗНОЇ АКТИВНОСТІ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ 2,4-ДИНІТРОФЕНОЛОМ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ МЕЛАТОНІНОМ	Dikal M. V., Ferenchuk Ye. O. (Chernivtsi) PECULIARITIES OF SUCCINATE DEHYDROGENASE AND H ⁺ -ATPASE, ACTIVITY IN THE KIDNEYS OF RATS WHEN INTOXICATED WITH 2,4-DINITROPHENOL AND THE CORRECTION OF MELATONIN	66
Безкоровайний А. О., Зинь А. Р., Гарасим Н. П., Санагурський Д. І. (Львів) ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ ЯЙЦЕКЛІТИНИ В'ЮНА MISGURNUS FOSSILIS L.	Bezkorovayny A. O., Zyn A. R., Harasym N. P., Sanahursky D. I. (Lviv) LIPID LEVEL OF LOACH MISGURNUS FOSSILIS L. EGG	70
Гонський Я. І., Дмухальська Є. Б., Ярошенко Т. Я. (Тернопіль) БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ПОСІДНАНОЇ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І РАУНДАПУ	Honsky Ya. I., Dmukhalska Ye. B., Yaroshenko T. Ya. (Ternopil) BIOCHEMICAL INDICES OF LIVER FUNCTIONAL STATE BY THE COMBINED EFFECT OF HEAVY METAL SALTS AND ROUNDUP	73
Гасюк Н. В. (Тернопіль) ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КЛІТИННИХ ІНФІЛЬТРАТІВ ВЛАСНОЇ ПЛАСТИНКИ ЯСЕН ПРИ ПАРОДОНТИТІ	Hasyuk N. V. (Ternopil) IMMUNOHISTOCHEMICAL DESCRIPTION CELL INFILTRATE OF THE LAMINA PROPRIA ASH UNDER CONDITIONS OF PARIODONTITIS	78
Бойків А. Б. (Тернопіль) ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРОДОНТИТОМ ЗА ЗМІНЕНОЇ РЕАКТИВНОСТІ	Boikiv A. B. (Ternopil) CHANGES IN BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AT REACTIVITY CHANGES	82
Турчин М. В. (Тернопіль) ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ ТА ВОДЯНИСТОЇ ВОЛОГИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ	Turchyn M. V. (Ternopil) CYTOKINE PROFILE OF BLOOD AND AQUEOUS HUMOR IN CASE OF EXPERIMENTAL CORNEAL MECHANICAL NONPENETRATIVE INJURY	85
Юрченко П. О., Мельник А. В., Заїчко Н. В., Йолтухівський М. М. (Вінниця) ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ГОМОЦИСТЕЇНУ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ЦЕНТРАЛЬНІЙ НЕРВОВІЙ СИСТЕМІ	Yurchenko P. O., Melnyk A. V., Zaichko N. V., Yoltukhivskyy M. M. (Vinnytsia) PECULIARITIES OF HOMOCYSTEINE AND HYDROGEN SULFIDE METABOLISM IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM	90
Олещук О. М., Мудра А. Є., Зозуляк Н. Б. (Тернопіль) ПЛР-ДІАГНОСТИКА: ПРИНЦИПИ, ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ	Oleshchuk O. M., Mudra A. Ye., Zozulyak N. B. (Ternopil) PCR DIAGNOSTICS: PRINCIPLES, ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS	97
Підручна С. Р. (Тернопіль) ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ЗА УМОВ ПОЛІТРАВМИ	Pidruchna S. R. (Ternopil) CYTOKINE PROFILE UNDER CONDITIONS OF POLYTRAUMA	104

БІОХІМІЯ РОСЛИН: МЕДИЧНІ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ

BIOCHEMISTRY OF PLANTS: MEDICAL AND PHARMACEUTICAL ASPECTS

Лупак М. І., Канюка О. П., Гачкова Г. Я., Чайка Я. П., Скибіцька М. І., Сибірна Н. О. (Львів) ВПЛИВ БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО НА СИСТЕМУ L-АРГІНІН/НО В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ	Lupak M. I., Kanyuka O. P., Hachkova H. Ya., Chaika Ya. P., Skybitska M. I., Sybirna N. O. (Lviv) INFLUENCE OF ALKALOID-FREE FRACTION OF GALEGA OFFICINALIS EXTRACT ON L-ARGININE/NO SYSTEM OF RATS LEUKOCYTES UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1	108
Сторчило О. В. (Одеса) РЕАЛІЗАЦІЯ РАДІОПРОТЕКТОРНОГО ЕФЕКТУ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ У НАЩАДКІВ ДВОХ ПОКОЛІНЬ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ	Storchylo O. V. (Odesa) REALIZATION OF THE RADIOPROTECTIVE EFFECT OF THE MILK THISTLE IN THE POSTERITY OF TWO GENERATIONS OF THE IRRADIATED RATS	111

**Тези матеріалів
Всеукраїнської науково-практичної конференції
“АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ
ТА ФАРМАКОЛОГІЇ”**

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОХІМІЯ І МОЛЕКУЛЯРНА
БІОЛОГІЯ. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ І ЛАБОРАТОРНА
ДІАГНОСТИКА**

- Андрейчин С. М., Скірак З. С.* (Тернопіль) ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ НА ТЛІ КОРЕКЦІЇ ГЛУТАРГІНОМ ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ 124
- Сорока І. О., Демків І. Я.* (Тернопіль) ІМУНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОТОКСИКОЗІ 125
- Юрченко П. О.* (Вінниця) РІВЕНЬ НЕЙРОНСПЕЦИФІЧНОЇ ЕНОЛАЗИ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦІСТЕІНЕМІЇ 126
- Андрейчин Ю. М.* (Тернопіль) РОЛЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОГО СИНУСИТУ 127
- Кошова О. Ю.* (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ВІКОВИХ ЗМІН N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ ЗА УМОВ ПАТОСПЕРМІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ДОКСОРУБЦИНОМ, У ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ГЛЮКОЗАМІНОМ ГІДРОХЛОРИДОМ 128
- Бекус І. Р., Кирилів М. В., Івануса І. Б.* (Тернопіль) ВИВЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПЕЧІНЦІ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, ТА ЗА КОРЕКЦІЇ КАРНІТИНОМ 129
- Нечипорук В. М., Корда М. М.* (Вінниця, Тернопіль) ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В ОРГАНАХ ПРИ ГІПЕР- І ГІПОТИРЕОЇДИЗМІ 120
- Привроцька І. Б., Федонюк Л. Я., Ружицька О. Ю., Кучмеровська Т. М.* (Тернопіль, Київ) ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ 120
- Алексевич К. О., Фіра Л. С., Грималюк О. І.* (Тернопіль) ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ПРИ УРАЖЕННІ ЩУРІВ АДРЕНАЛІНОМ І ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ 121
- Кузнецова О. В.* (Київ) ОСОБЛИВОСТІ СЕРОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ ТРУПІВ-ДОНОРІВ 122
- Лихацький П. Г., Фіра Л. С., Трохимчук Н. Б.* (Тернопіль) ВМІСТ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ЗА УМОВ НІТРИТНОГО ОТРУЄННЯ 123
- Бандас І. А., Корда М. М.* (Тернопіль) ВЗАЄМОДІЯ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ КРЕМНІЮ З ТРАДИЦІЙНИМИ КОНТАМІНАНТАМИ – ПОТЕНЦІЙНИЙ СИНЕРГІЗМ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ 123
- Гайдай Г. Л., Бондаренко Л. Б., Петрик С. М.* (Київ) АНАЛІЗ БІОХІМІЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛІЙ АМНІОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ СОЧЕТАННІ ВРОЖДЕНИХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У ПЛОДА И ВЫСОКОЙ ВЕРОЯТНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ГЕРПЕС- ИЛИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН 124
- Яворська С. І., Мудра А. Є., Яворський М. В.* (Тернопіль) РОЗВИТОК ІМУНОКОМПЛЕКСНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ТОКСИЧНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ 125
- Гайдай Г. Л.* (Київ) ТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ ЗМІН ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В АМНІОТИЧНІЙ РІДИНІ ВАГІТНИХ ЖІНОК ЗА НАЯВНОСТІ ТЯЖКИХ УРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ ПЛОДА 126
- Кріпка О. І.* (Тернопіль) БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ РЕМОДЕЛЮВАННЯ СЕРЦЯ У ХВОРИХ НА ПОДАГРУ 127
- Стахурська І. О., Пришляк А. М.* (Тернопіль) ІНТЕНСИВНІСТЬ МЕТГЕМОГЛОБІНУТВОРЕННЯ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ЗА УМОВИ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НАТРІЮ НІТРИТОМ 128
- Кузьмак І. П., Острівка О. І., Ярошенко Т. Я., Василишин Н. А.* (Тернопіль) СТАН ПРОТЕІНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ З АМАНІТАФАЛОЇДИНОВИМ ОТРУЄННЯМ 129
- Юзва Ю. М., Покотило О. С., Ярошенко Т. Я.* (Тернопіль) ВМІСТ ОМЕГА-3 ЖИРНИХ КИСЛОТ У МОЛОЦІ ТА МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ 130
- Демкович А. Є.* (Тернопіль) ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПОСТЕКСТРАКЦІЙНОМУ АЛЬВЕОЛІТІ 130
- Підручна С. Р., Кравчук Л. О.* (Тернопіль) РІВЕНЬ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ І ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ НА ТЛІ ТЯЖКОЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ 131
- БІОХІМІЯ РОСЛИН: МЕДИЧНІ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ**
- Марчишин С. М., Козачок С. С., Зарічанська О. В., Ющенко Т. І.* (Тернопіль, Вінниця) ДОСЛІДЖЕННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ КВІТОК, ЛИСТКІВ І КОРЕНЕБУЛЬБ ЛІЛІЙНИКА БУРО-ЖОВТОГО (HEMEROCALLIS FULVA L.) ТА ЛІЛІЙНИКА ГІБРИДНОГО (HEMEROCALLIS HYBRIDA VAR. 'STELLA DE ORO') 132
- Vorobets N., Nowak R., Olech M.* (Lviv, Ukraine, Lublin, Poland) DETERMINATION OF PHENOLIC ACIDS IN CALAMINTHA OFFICINALIS BY LC-MS/MS ANALYSIS 133

<i>Мілян І. І., Марчишин С. М.</i> (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ ВЕРОНІКИ ЛЕЖАЧОЇ МЕТОДОМ ВЕРХ	133	<i>Стойко Л. І., Ярошенко Т. Я.</i> (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У ТРАВІ ЗОЛОТОТІСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО	137
<i>Руденька Д. М., Шанайда М. І.</i> (Тернопіль) АНАЛІЗ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ З НАСІННЯ <i>NIGELLA ARVENSIS L.</i>	134	<i>Савич А. О., Куліцька М. І., Сопель О. В.</i> (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ЗБОРІ АНТИДІАБЕТИЧНОМУ	138
<i>Лебідь О. І., Марчишин С. М., Шманько В. В.</i> (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ЗБОРІ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ	134	<i>Грицяк Р. Ю., Марчишин С. М.</i> (Чернівці, Тернопіль) КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ КОТЯЧИХ ЛАПОК ДВОДОМНИХ (<i>ANTENNARIA DIOICA (L.)</i>)	138
<i>Луцюк М. Б., Блаженко В. В.</i> (Вінниця) ВИДІЛЕННЯ І ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАКЦІЇ БІЛКІВ- ФІТОГЕМАГЛЮТИНІНІВ СОЇ ЗВИЧАЙНОЇ ТА ГЕННО-МОДИФІКОВАНОЇ	135	<i>Потішний І. М.</i> (Тернопіль) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У КОРЕНЕВИЩАХ І КОРЕНЯХ ДЯГЕЛЯ ЛІКАРСЬКОГО І ДУДНИКА ЛІСОВОГО	139
<i>Марчишин С. М., Міщенко Л. Т., Гусак Л. В.</i> (Тернопіль, Київ) ВИЗНАЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ У ТРАВІ ЧИСТЕЦЮ ЗІБОЛЬДА (<i>STACHYS SIEBOLDII MIQ.</i>)	136	<i>Козачок С. С., Марчишин С. М.</i> (Тернопіль) ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ ОСТУДНИКА ГОЛОГО (<i>HERNIARIA GLABRA L.</i>)	139
<i>Демидяк О. Л., Луканюк М. І.</i> (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ТАНІДІВ У КВІТКАХ ТА ЛИСТКАХ ХРИЗАНТЕМИ САДОВОЇ БАГАТОРІЧНОЇ СОРТУ АРРО	136	<i>Шевчук О. О., Вольська А. С., Чехун В. Ф., Ніколаєв В. Г.</i> (Тернопіль, Київ) ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ ДВОХ ПРЕПАРАТІВ КОЛОНІЄСТИМУЛЮВАЛЬНОГО ФАКТОРА НА МОДЕЛІ ЦИТОСТАТИЧНОЇ МІЕЛОДЕПРЕСІЇ У ЩУРІВ	140
<i>Шостак Л. Г., Марчишин С. М.</i> (Тернопіль) ВМІСТ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН У НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНАХ ПЕРВОЦВІТУ ВЕСНЯНОГО (<i>PRIMULA VERIS L.</i>)	137		

НЕКРОЛОГ

СВІТЛІЙ ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА ЮРІЯ ВОЛОДИМИРОВИЧА ХМЕЛЕВСЬКОГО	141
---	-----

СТАН ТРОМБОЦИТІВ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ ПОРУШЕННЯМИ ОБМІНУ ГОМОЦИСТЕЇНУ, ЦИСТЕЇНУ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ

Вивчено стан тромбоцитів при порушеннях метаболізму гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфїду (H_2S) у 110 щурів. Гіпергомоцистеїнемія та гіперцистеїнемія викликають збільшення спонтанної та ADP-індукованої агрегації тромбоцитів, MPV, активності PGH-синтази і зменшення активності екто-NTPDази (апірази) тромбоцитів. Введення пропаргілгліцину (інгібітора синтезу H_2S) спричиняє активацію тромбоцитів з підвищенням активності PGH-синтази та зниженням активності апірази, а введення Na_2S (донора H_2S) має слабкий антиагрегантний ефект.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гомоцистеїн, цистеїн, гідроген сульфід, пропаргілгліцин, тромбоцити.

ВСТУП. Серцево-судинна патологія асоціюється зі змінами морфологічних параметрів тромбоцитів, зокрема зі збільшенням їх середнього об'єму (MPV) [7]. У тромбоцитів великих розмірів зростає гранулярність, збільшується експресія адгезивних глікопротеїнів GP IIIa та посилюються агрегаційні властивості [8]. Підвищення MPV пов'язують з гіперхолестеролемією, інсулінорезистентністю, атеросклерозом [7]. Можливо, й інші метаболічні чинники можуть індукувати зміни MPV, адже майже у 40 % пацієнтів з ішемічною хворобою серця виявляють порушення обміну сірковмісних амінокислот – гомоцистеїну (ГЦ) та цистеїну [4]. В процесі метаболізму сірковмісних амінокислот утворюється біологічно активний метаболіт гідроген сульфід (H_2S) – вазодилататор, цитопротектор, антиоксидант, але питання щодо його впливу на стан тромбоцитів залишається відкритим. Раніше було показано, що двотижневе введення високих доз тіолатону ГЦ (200 мг/кг маси) викликало підвищення MPV, посилення агрегації тромбоцитів та зниження рівня H_2S у плазмі крові щурів [2]. Метою цієї роботи було вивчити особливості агрегації та морфологічні показники і стан тромбоцитів у щурів з комбінованими й ізольованими порушеннями обміну ГЦ, цистеїну та H_2S .

© Н. В. Заїчко, 2014.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 110 білих нелінійних щурах-самцях масою 200–270 г відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі України з біоетики (Київ, 2001), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі. Тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день/ніч, воду та їжу отримували *ad libitum*. Під час дослідів щурів годували напівсинтетичною крохмально-казеїновою дієтою з контрольованим вмістом усіх нутрієнтів, яку модифікували залежно від мети експерименту [1]. Відтворено моделі ГГЦ, гіперцистеїнемії, дефіциту та надлишку H_2S .

Модель гострої метіонінової ГГЦ дозволяє швидко збільшити вміст ГЦ у плазмі крові тварин в 4–5 разів до 6 год. Щурам вводили L-метіонін ("Sigma", США) у дозі 500 мг/кг маси тіла в шлунок (в/шл), і через 2 год, на пікові рівні ГЦ у крові, тварин піддавали евтаназії шляхом дислокації шийних хребців. Модель гіповітамінотно-метіонінової ГГЦ викликає підвищення вмісту ГЦ у плазмі крові в 10–13 разів за 14 діб і супроводжується гіперцистеїнемією та гіперхолестеролемією. Цю модель відтворювали шляхом годування тварин дієтою, що містила

L-метіонін (1 % до сухої маси) і була позбавлена вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} . Модель тіолактон ГЦ-індукованої ГГЦ, що забезпечує підвищення вмісту ГЦ у плазмі крові щурів у 2–3 рази, відтворювали шляхом введення тіолактону D,L-ГЦ (“Sigma”, США) в/шл у дозі 100 мг/кг маси 28 діб. Цю модель ГГЦ також комбінували з введенням інгібітора NO-синтази L-NAME (“Sigma”, США) в дозі 30 мг/кг маси в/шл. Модель гіперцистеїнемії в щурів створювали шляхом введення L-цистеїну (“Sigma”, США) в дозі 250 мг/кг маси в/шл 28 діб. Дефіцит та надлишок H_2S у плазмі крові щурів викликали введенням інгібітора цистатіонін- γ -ліази D,L-пропаргілгліцину (“Sigma”, США) в дозі 50 мг/кг та донора H_2S – $Na_2S \cdot 9H_2O$ (“Sigma”, США) в дозі 3,36 мг/кг маси внутрішньочеревно 1 раз на добу протягом 7 діб. Контрольні групи отримували збалансований раціон і, залежно від умов досліду, “плацебо” – 1 % крохмальний гель при в/шл введенні речовин та 0,9 % розчин NaCl при внутрішньочеревному введенні речовин.

Кров у щурів отримували із серця у пробірці Vacuette (“Greiner Bio-One”, Австрія) з 3,8 % розчином цитрату натрію (9:1). Плазму, збагачену тромбоцитами, одержували шляхом центрифугування крові при 300 г 5 хв при 18–22 °C. Тромбоцити виділяли, центрифугуючи плазму при 1500 г 20 хв при 18–22 °C, осад тричі відмивали 0,05 М Трис-буфером (pH 7,4) з 0,13 М NaCl, ресуспендували в 1,0 мл цього ж буфера. Агрегацію тромбоцитів досліджували на агрегометрі AP2110 (“Солар”, Білорусь), як індуктор застосовували ADP (“Технологія-Стандарт”, Росія). Середній об’єм тромбоцитів (MPV, фл) та інші параметри визначали на гемоаналізаторі Erma PCE-210 (Японія).

Загальний рівень ГЦ визначали імуноферментним методом за набором “Homocysteine EIA” (“Axis-Shield”, Англія); активність апірази – екто-NTPDази (КФ 3.6.1.5) – за кількістю неорганічного фосфату, який утворився при гідролізі ADP; активність PGH-синтази (КФ 1.14.99.1) – в мікросомній фракції тромбоцитів за накопиченням окисненої форми адреналіну; вміст H_2S у плазмі крові – за реакцією з парафенілендіаміном, цистеїну – за реакцією з нінгідринном у кислому середовищі, як описано раніше [3]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних програм “MS Excel”. Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента, проводили парний кореляційний аналіз за Пірсоном.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За умов гострої метіонінової ГГЦ посилювалась спон-

танна агрегація тромбоцитів (на 56,0 %), зростали ступінь та початкова швидкість ADP-індукованої агрегації (на 62,8 та 31,8 %), але через 24 год всі показники агрегації тромбоцитів нормалізувались (табл. 1). За умов тяжкої гіповітамінозно-метіонінової ГГЦ та при поєднанні помірної тіолактон ГЦ-індукованої ГГЦ з інгібуванням синтезу NO відзначали найбільш значне зростання здатності тромбоцитів до спонтанної агрегації (в 3,2–3,5 рази), посилювались усі параметри ADP-індукованої агрегації, достовірно знижувався поріг чутливості тромбоцитів до ADP. Так, концентрація ADP, яка викликала повну агрегацію тромбоцитів (з первинною та вторинною хвилями), в контролі становила $(9,40 \pm 0,92)$ мкМ, у щурів з тіолактон ГЦ-індукованою ГГЦ – $(5,45 \pm 0,59)$ мкМ, а за її поєднання з введенням L-NAME – $(2,65 \pm 0,43)$ мкМ ($p < 0,001$). Помірна тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ та гіперцистеїнемія спричиняли зіставне посилення спонтанної та індукованої агрегації тромбоцитів. Максимальні відмінності в параметрах агрегації тромбоцитів у нормі та при ГГЦ чи гіперцистеїнемії виявляли за низьких концентрацій ADP (0,625–2,5 мкМ). Введення Na_2S (донора H_2S) упродовж 7 діб викликало достовірне зниження здатності тромбоцитів до спонтанної агрегації, але суттєво не порушувало ADP-індукованої агрегації. Під впливом пропаргілгліцину спостерігали підвищення ступеня спонтанної та індукованої агрегації, зростала початкова швидкість ADP-індукованої агрегації тромбоцитів.

Морфологічні параметри тромбоцитів за умов гострої ГГЦ не змінювались. Тяжка гіповітамінозно-метіонінова ГГЦ та помірна тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ, комбінована з інгібуванням синтезу NO, викликали значні зміни морфологічних параметрів тромбоцитів: збільшувався MPV (з 6,7 до 8,1 фл), з’являлись ознаки анізоцитозу (підвищувався PDW) (табл. 2). Помірна ізольована тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ спричиняла менш виражене зростання MPV та PDW, ніж моделі комбінованої ГГЦ. Тривала ізольована гіперцистеїнемія також індукувала помірне підвищення MPV та PDW, подібно до ізольованої ГГЦ. Введення Na_2S не спричиняло суттєвих змін морфологічних параметрів тромбоцитів, тоді як введення пропаргілгліцину викликало стійку тенденцію до збільшення MPV.

Далі ми оцінили активність PGH-синтази та апірази – ензимів, які регулюють процеси активації та агрегації тромбоцитів (табл. 3). Гостра та тривала ГГЦ спричиняла зростання активності PGH-синтази (проагрегант) та

зменшення активності апірази (антиагрегант), при цьому найбільш вираженими зміни були за умов комбінованих моделей. Аналогічні, хоча і менш виражені, зміни активності тромбодарних ензимів відзначали і при гіперцистеїнемії. Вплив модуляторів обміну H_2S на активність

ензимів виявився протилежним: введення Na_2S спричиняло зниження активності PGH-синтази та підвищення активності апірази, а введення пропаргілгліцину, навпаки, – зростання активності PGH-синтази та зменшення активності апірази.

Таблиця 1 – Показники агрегації тромбоцитів у щурів з порушеннями обміну сірковмісних амінокислот та H_2S (n=10–15, M±m)

Назва моделі	Група тварин	Спонтанна агрегація, %	Агрегація, індукована ADP (5 мкМ)		
			ступінь, %	швидкість, % за 1 хв	час, с
Метіонінова ГГЦ (гостра)	Контроль	3,87±0,35	32,5±1,55	28,6±1,00	381±10,7
	Модель	6,04±0,58	52,9±1,79*	37,7±1,32*	383±10,6
Гіповітамінозно-метіонінова ГГЦ	Контроль	3,16±0,41	27,1±1,14	25,6±1,41	365±18,6
	Гіповітаміноз	4,38±0,44*	30,2±1,24	24,4±1,30	386±28,4
	Модель	10,5±0,58*#	62,6±2,91*#	44,7±2,67*#	411±21,0
Тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ	Контроль	2,32±0,17	21,8±1,37	23,2±1,49	359±22,9
	Модель	3,83±0,31*	42,4±3,12*	37,5±2,76*	386±28,4
	+ L-NAME	7,35±0,57*#	57,7±3,76*#	41,6±2,71*	450±29,3*
Гіперцистеїнемія	Контроль	2,56±0,29	23,7±1,50	24,4±1,55	342±20,2
	Модель	5,12±0,42*	31,8±1,34*	30,3±1,20*	391±17,0
Модуляція обміну H_2S	Контроль	2,79±0,17	31,3±2,31	26,5±1,36	203±18,8
	Na_2S	2,10±0,26*	26,0±1,14	22,5±1,70	207±10,7
	DL-ПГ	4,58±0,24*	40,7±1,15*	32,4±1,82*	248±4,24*

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

- * – p<0,05 відносно контролю.
- # – p<0,05 відносно попередньої групи.
- DL-ПГ – пропаргілгліцин.

Таблиця 2 – Морфологічні параметри тромбоцитів у щурів з порушеннями обміну сірковмісних амінокислот та H_2S (n=10–15, M±m)

Назва моделі	Група тварин	Тромбоцити, тис./мм ³	MPV, фл	PCT, %	PDW, %
Гіповітамінозно-метіонінова ГГЦ	Контроль	486±18,3	6,73±0,17	0,33±0,01	10,1±0,16
	Гіповітаміноз	465±10,1	6,94±0,12	0,32±0,07	10,4±0,19
	Модель	438±15,6	8,01±0,21*#	0,35±0,02	12,6±0,30*#
Тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ	Контроль	464±21,1	6,54±0,14	0,30±0,01	9,66±0,17
	Модель	466±13,7	7,57±0,13*	0,35±0,01	9,77±0,31
	+ L-NAME	463±22,2	8,09±0,23*#	0,37±0,01	10,2±0,27
Гіперцистеїнемія	Контроль	455±7,04	6,79±0,07	0,31±0,01	9,28±0,05
	Модель	448±5,37	7,25±0,07*	0,33±0,01	10,2±0,17*
Модуляція обміну H_2S	Контроль	455±22,4	6,81±0,18	0,34±0,02	10,9±0,28
	Na_2S	462±17,9	6,72±0,21	0,36±0,07	10,8±0,14
	DL-ПГ	431±25,2	7,24±0,12	0,35±0,17	11,1±0,36

Таблиця 3 – Активність ензимів тромбоцитів та відношення ГЦ/ H_2S у щурів з порушеннями обміну сірковмісних амінокислот та H_2S (n=10–15, M±m)

Назва моделі	Група тварин	Апіраза, нмоль/хв·мг протеїну	PGH-синтаза, нмоль/хв·мг протеїну	ГЦ/ H_2S
Метіонінова ГГЦ (гостра)	Контроль	5,43±0,23	10,5±0,96	0,08±0,005
	Модель	3,23±0,40*	14,8±0,62*	0,71±0,08*
Гіповітамінозно-метіонінова ГГЦ	Контроль	5,14±0,37	10,1±0,54	0,09±0,02
	Гіповітаміноз	4,88±0,29	9,68±0,56	0,12±0,01
	Модель	2,92±0,23*#	16,6±1,04*#	3,55±0,87*#
Тіолактон ГЦ-індукована ГГЦ	Контроль	5,08±0,22	9,53±0,66	0,09±0,01
	Модель	3,64±0,21*	14,7±0,76*	0,34±0,06*
	+ L-NAME	3,14±0,19*	15,1±1,05*	0,45±0,08*
Гіперцистеїнемія	Контроль	5,25±0,24	9,89±0,36	0,09±0,005
	Модель	4,10±0,29*	12,7±0,83*	0,08±0,005
Модуляція обміну H_2S	Контроль	5,12±0,18	9,76±0,45	0,09±0,005
	Na_2S	6,05±0,21*	8,25±0,36*	0,07±0,006*
	DL-ПГ	4,48±0,27*	11,7±0,31*#	0,19±0,01*#

Тромбоцитарні ензими, рецептори до ADP та фібриногену (GPIIb/IIIa) належать до редокс-чутливих протейнів [5]. Очевидно, ГЦ, цистеїн та H_2S можуть змінювати їх функціональний стан, як і багатьох інших протейнів, шляхом S-гомоцистеїнування, цистеїнування та S-сульфгідрування [6, 9].

Для всіх моделей ГЦ характерним було підвищення відношення ГЦ/ H_2S із найбільш суттєвими змінами за умов комбінованих моделей – гіповітамінозно-метіонінової (в 40 разів) та тіолактон ГЦ-індукованої у поєднанні з інгібуванням синтезу NO (в 5 разів). При гіперцистеїнемії відношення ГЦ/ H_2S майже не змінювалось, але у 2 рази зростало відношення цистеїн/ H_2S . Введення пропаргілгліцину викликало слабке підвищення (у 2 рази), а введення Na_2S , навпаки, зниження (в 1,3 раза) відношення ГЦ/ H_2S . Кореляційний аналіз засвідчив достовірний обернений зв'язок між активністю апірази тромбоцитів та відношенням ГЦ/ H_2S ($r=-0,77$, $p<0,05$).

Отже, порушення обміну ГЦ та цистеїну спричиняють формування гіперреактивності тромбоцитів, і найбільш виражені зміни вини-

кають за умов комбінування ГЦ з іншими метаболічними чинниками. Інгібування ендогенної продукції H_2S індукує активацію тромбоцитів, а підвищення вмісту H_2S у плазмі крові супроводжується слабким антиагрегантним ефектом. Вивчення молекулярних механізмів впливу H_2S на стан тромбоцитів є перспективним напрямком подальших досліджень і дозволить окреслити нові підходи до корекції патологічних станів, асоційованих з порушеннями обміну сірковмісних амінокислот.

ВИСНОВКИ. 1. При порушеннях обміну ГЦ і цистеїну посилюється здатність до спонтанної та ADP-індукованої агрегації, збільшується MPV, знижується активність апірази та підвищується активність PGH-синтази тромбоцитів. Найбільш виражені ознаки гіперреактивності тромбоцитів виникають за умов ГЦ, комбінованої з іншими метаболічними чинниками.

2. Введення пропаргілгліцину (інгібітора синтезу H_2S) викликає активацію тромбоцитів зі збільшенням активності PGH-синтази та зниженням активності апірази, а введення Na_2S (донора H_2S) має слабкий антиагрегантний ефект.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Постовітенко [та ін.] // *Досягнення біології та медицини.* – 2004. – № 1 (3). – С. 35–38.
2. Заїчко Н. В. Асоціація середнього об'єму тромбоцитів з рівнем гомоцистеїну та гідроген сульфід у крові щурів з гіпергомоцистеїнемією / Н. В. Заїчко // *Мед. хімія.* – 2008. – **10**, № 2. – С. 54–58.
3. Заїчко Н. В. Порушення в системі гемостазу щурів, індуковані навантаженням метіоніном, та профілактична дія вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} / Н. В. Заїчко // *Одес. мед. журн.* – 2010. – № 1. – С. 24–28.
4. Коваленко В. М. Асоціація гіпергомоцистеїнемії з метаболічними факторами ризику у хворих на ішемічну хворобу серця / В. М. Коваленко, І. І. Андрушко, Т. В. Талаєва // *Укр. кардіол. журн.* – 2011. – № 6. – С. 66–70.
5. Essex D. W. Redox modification of platelet glycoproteins / D. W. Essex, M. Li // *Curr. Drug. Targets.* – 2006. – **7**, № 10. – P. 1233–1241.
6. Jakubowski H. The pathophysiological hypothesis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease / H. Jakubowski // *J. Phys. Pharm.* – 2008. – **59**, Suppl. 9. – P. 155–167.
7. Mean platelet volume in patients with metabolic syndrome and its relationship with coronary artery disease / Y. Tavil, N. Sena, H. U. Yazicia [et al.] // *Thrombosis Research.* – 2007. – **120**, № 2. – P. 245–250.
8. Pathansali R. Prothrombotic megakaryocyte and platelet changes in hypertension are reversed following treatment: a pilot study / R. Pathansali, N. Smith, P. Bath // *Platelets.* – 2001. – **12**, № 3. – P. 144–149.
9. Stein A. Redox biology of hydrogen sulfide: Implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology / A. Stein, Sh. M. Bailey // *Redox. Biology* – 2013. – **1**. – P. 32–39.

СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ОБМЕНА ГОМОЦИСТЕИНА, ЦИСТЕИНА И ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА

Резюме

Изучено состояние тромбоцитов при нарушениях метаболизма гомоцистеина, цистеина и гидроген сульфида (H_2S) у 110 крыс. Гипергомоцистеинемия и гиперцистеинемия вызывают увеличение спонтанной и ADP-индуцированной агрегации тромбоцитов, MPV, активности PGH-синтазы и уменьшение активности экто-NTPДазы (апиразы) тромбоцитов. Введение пропаргилглицина (ингибитора синтеза H_2S) вызывает активацию тромбоцитов с повышением активности PGH-синтазы и снижением активности апиразы, а введение Na_2S (донора H_2S) имеет слабый антиагрегантный эффект.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гомоцистеин, цистеин, гидроген сульфид, пропаргилглицин, тромбоциты.

N. V. Zaichko
M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

PLATELETS PARAMETERS IN RATS WITH HOMOCYSTEINE, CYSTEINE AND HYDROGEN SULFIDE EXPERIMENTAL METABOLIC DISORDERS

Summary

It was studied the platelets parameters in 110 rats with homocysteine, cysteine and hydrogen sulfide (H_2S) metabolic disorder. Hyperhomocysteinemia or hypercysteinemia induced an increase of spontaneous or ADP-induced platelet aggregation, MPV, PGH-synthase activity and decrease of ecto-NTPDase activity of platelets. Administration of propargylglycine (inhibitor H_2S synthesis) induced platelet activation with increase of PGH-synthase activity and decrease of ecto-NTPDase activity. But administration of Na_2S (H_2S donor) had mild antiplatelet effect.

KEY WORDS: homocysteine, cysteine, hydrogen sulfide, propargyl glycine platelets.

Отримано 01.07.14

Адреса для листування: Н. В. Заічко, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ЗМІНИ ВМІСТУ БІЛІРУБІНУ ТА СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В СИРОВАТЦІ КРОВІ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІД ЧАС ЦИКЛІЧНОГО РЕЖИМУ ГОДУВАННЯ

Досліджено вплив циклічного режиму годування на вміст білірубину та сечової кислоти в сироватці крові молодих (3-місячних) і старих (19-місячних) щурів. Виявлено суттєві вікозалежні зміни цих параметрів при даному типі дієтичного обмеження. Отримані результати важливі для з'ясування механізмів сприятливих ефектів циклічного режиму годування і розробки терапевтичних стратегій для низки патологій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: білірубін, сечова кислота, циклічний режим годування.

ВСТУП. Нещодавно було показано, що так званий циклічний режим годування (ЦРГ), при якому тварини підлягають кільком циклам періодичного голодування (годування кожен другий день) та відгодовування *ad libitum*, викликає ефекти, подібні до калорійнообмежувальних дієт (КОД), що, як відомо, є потужними засобами збільшення тривалості життя, профілактики і терапії великої кількості залежних від віку та хронічних захворювань [1, 17]. Припускається, що в основі сприятливих ефектів ЦРГ лежать метаболічні зміни та індукція неспецифічних захисних реакцій організму. Серед факторів, що визначають ефекти ЦРГ, особливе місце займають білірубін та сечова кислота через їх здатність легко реагувати на дієтичні обмеження, відобразити статус антиоксидантного потенціалу сироватки крові, де ці речовини відіграють роль основних неглютаціонових антиоксидантів, і функціонування печінки як основного органа метаболізму та детоксикації [13, 19]. Більше того, є багато робіт відносно ефекту голодування та класичних КОД на метаболізм білірубину і сечової кислоти, де зазначається, що такі дієтичні обмеження впливають на пов'язані з цими речовинами метаболічні та сигнальні шляхи, проте нічого невідомо про ефекти ЦРГ [3, 15]. Таким чином, метою даного дослідження було вивчення впливу ЦРГ на вміст білірубину та сечової кислоти в сироватці крові молодих (3-місячних) і старих (19-місячних) щурів, а також стійкості такого впливу та можливих адаптаційних змін у відповідь на

повторне використання цього дієтичного обмеження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Усі експериментальні процедури відповідали постановам комітету з біоетики при Президії НАН України. Щурів-самців лінії Вістар (3- та 19-місячних) було отримано у віварії НДІ біології (Харків, Україна). Тварин обох вікових груп розсаджували в окремі клітки і випадково розподіляли у 5 груп (по 3 щури): контроль – тварини, які перебували на стандартному раціоні віварію; 1ПГ – дієта з годуванням кожен другий день протягом 14 днів (4 г/100 г і 2 г/100 г комбікорму на масу тіла для молодих та старих щурів відповідно); 1В – відгодовування *ad libitum* протягом 14 днів після 1ПГ, за яким слідувало 30 днів стандартного раціону; 2ПГ – те ж саме, що і в разі 1ПГ, але після 1ПГ та 1В; 2В – відгодовування *ad libitum* протягом 14 днів після 2ПГ. Після 12-годинного періоду голодування щурів кожної групи усипляли ефірним наркозом та умертвляли шляхом декапітації між 7:00 та 9:00 годинами ранку. Кров негайно збирали в поліпропіленові пробірки та залишали для згортання на 20 хв при 15 °С, після чого проводили центрифугування при 3000 g протягом 10 хв. Сироватку крові зберігали в рідкому азоті до використання. Вміст загального білірубину і сечової кислоти визначали за методами Tolman et al. [20] та Varham et al. [5], відповідно, з використанням фірмових наборів колориметричних, фотометричних тестів для кількісного визначення цих речовин у сироватці крові на

автоматичному біохімічному аналізаторі-фото-метрі AU 480 Beckman-Coulter (Beckman Coulter Inc., USA). Для даних кожної експериментальної групи робили попарне множинне порівняння середніх за методом Шеффе у середовищі OriginPro. Різницю між групами вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з рисунка 1, у вмісті білірубину сироватки крові контрольних тварин спостерігались виражені вікозалежні відмінності: в молодих щурів рівень цього параметра був на ~45 % вищим, ніж у старих.

Перше періодичне голодування (1ПГ) призводило до статистично значущого зниження рівня білірубину тільки в молодих тварин (на ~50 %), хоча медіана цього параметра у старих щурів також мала тенденцію до зменшення. Після періоду відгодовування та реабілітації (1В) відзначали повернення рівня загального білірубину до значення, близького до контрольного, проте різниці між віковими групами вже не спостерігали. Повторне застосування періодичного голодування у тварин обох вікових груп призводило до набагато більш різкого зниження вмісту білірубину (на 72 та 59 % для

молодих і старих тварин відповідно), ніж у випадку 1ПГ, тоді як після повторного відгодовування (2В) відновлення цього параметра до контрольного значення відзначали тільки у групі старих щурів. Менший вміст білірубину в старих тварин, як вважають, є наслідком підвищення з віком активності УДФ-глюкуронілтрансферази, ключового ферменту екскреції цієї сполуки [8, 11]. Поряд із тим, значне збільшення активності даного ферменту спостерігали в щурів, які перебували на КОД [7, 10]. Подібним чином зниження рівня білірубину після етапів періодичного голодування може бути наслідком зміни активності УДФ-глюкуронілтрансферази. Також відомо, що низький вміст білірубину в крові є індикатором послаблення прооксидантних процесів і зменшення ризику розвитку інсулінорезистентності [12, 17]. З огляду на це, зниження даного параметра в процесі ЦРГ можна розглядати як один із сприятливих ефектів цього дієтичного обмеження. Більше того, подальше дослідження механізму стабільного зменшення вмісту білірубину в крові після ЦРГ, виявленого в молодих тварин, становить великий інтерес для розробки терапій патологій, які супроводжуються гіпербілірубінемічними токсикозами [6, 9].

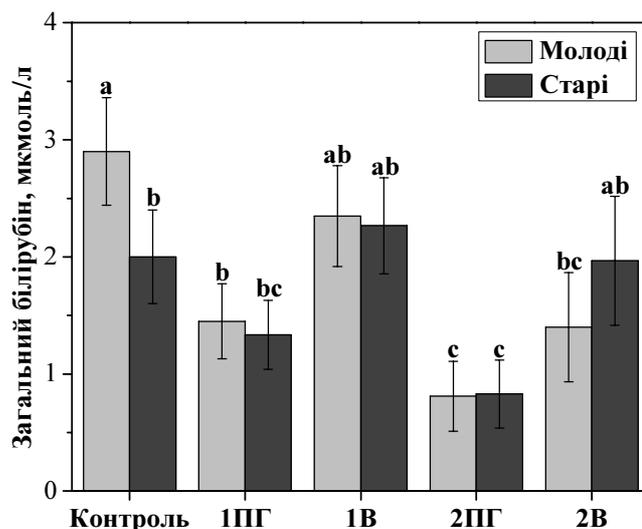


Рис. 1. Вміст загального білірубину в сироватці крові щурів 3- та 19-місячного віку (молодих і старих відповідно) при циклічному режимі годування. Стовпці, позначені різними латинськими літерами (a, b, c, ...), мають статистично значущі відмінності ($p < 0,05$).

Після обох етапів періодичного голодування і в молодих, і у старих тварин спостерігали статистично значуще збільшення вмісту сечової кислоти в сироватці крові (рис. 2), причому максимально цей параметр зростав у випадку 2ПГ у молодих щурів (на ~62 % порівняно з контролем). Відхилення від рівня контролю після завершення етапів відновлення

маси тіла відзначали лише в молодих тварин після першого відгодовування та реабілітації (зниження на ~21 %). Сечова кислота є одним з головних антиоксидантів крові, де вона поглинає до 60 % вільних радикалів [2, 4], а також важливим внутрішньоклітинним антиоксидантним агентом у відповідях на різноманітні метаболічні стреси [16, 21].

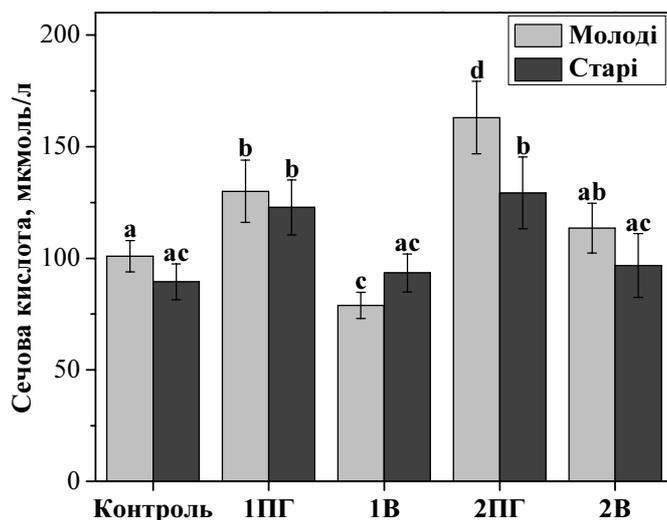


Рис. 2. Вміст сечової кислоти в сироватці крові щурів 3- та 19-місячного віку (молодих і старих відповідно) при циклічному режимі годування.

Антиоксидантні властивості сечової кислоти важливі для захисту від старіння, окисляючого стресу та окиснювального пошкодження клітин, особливо кардіоміоцитів, ендотеліоцитів та нейронів [18, 22]. З огляду на це, збільшення вмісту сечової кислоти у крові протягом ЦРГ, з одного боку, може бути одним із шляхів реалізації сприятливих ефектів періодичного голодування, а з іншого – може бути використане як спосіб посилення антиоксидантного захисту організму.

ВИСНОВКИ. 1. Протягом обох циклів періодичного голодування/відгодовування спостерігають значні вікозалежні відмінності в динаміці зміни вмісту білірубину сироватки крові, причому після завершення ЦРГ молоді тварини характеризуються стійким зниженням цього параметра.

2. Два етапи періодичного голодування призводять до значного збільшення вмісту сечової кислоти в сироватці крові, досягаючи максимальної величини після повторного використання цього дієтичного обмеження у молодих тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Божков А. И. Циклический режим кормления – новая модель экспериментальной геронтологии / А. И. Божков, Н. И. Кургузова, Т. В. Криворучко // Усп. геронтол. – 2014. – № 2. – С. 328–335.
2. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress / Y. Y. Sautin, T. Nakagawa, S. Zhari-kov, R. J. Johnson // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2007. – № 2. – P. 584–596.
3. A hypocaloric diet enriched in legumes specifically mitigates lipid peroxidation in obese subjects / A. B. Crujeiras, D. Parra, I. Abete, J. A. Martinez // *Free Radic. Res.* – 2007. – № 41. – P. 498–506.
4. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus / S. R. Maxwell, H. Thomason, D. Sandler [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1997. – № 6. – P. 484–490.
5. Barham D. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system / D. Barham, P. Trinder // *Analyst.* – 1972. – № 97. – P. 142–145.
6. Chowdhury N. R. Disorders of Bilirubin Metabolism / N. R. Chowdhury, J. R. Chowdhury // *The Liver: Biology and Pathobiology*: John Wiley & Sons, 2009. – 1216 p.
7. Duvaldestin P. Effect of fasting on substrate specificity of rat liver UDP-glucuronosyltransferase / P. Duvaldestin, J. Mahu, P. Berthelot // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1975. – № 28. – P. 81–86.
8. Effects of caloric restriction on rodent drug and carcinogen metabolizing enzymes: implications for mutagenesis and cancer / M. Manjgaladze, S. Chen, L. T. Frame [et al.] // *Mutat. Res.* – 1993. – № 295. – P. 201–222.
9. Fevery J. What can we learn from analysis of serum bilirubin? / J. Fevery, N. Blanckaert // *J. Hepatol.* – 1986. – № 2. – P. 113–121.
10. Hart. Effects of aging and caloric restriction on hepatic drug metabolizing enzymes in the Fischer 344 rat / J. E. Leakey, H. C. Cunney, J. Bazare [et al.] // *Mech. Ageing Dev.* – 1989. – № 48. – P. 145–155.
11. Kayali R. Effect of gender on main clinical chemistry parameters in aged rats / R. Kayali, S. Aydin, U. Cakatay // *Curr. Aging Sci.* – 2009. – № 2. – P. 67–71.
12. Kim S. Y. Physiological antioxidative network of the bilirubin system in aging and age-related

diseases / S. Y. Kim, S. C. Park // Front. Pharmacol. – 2012. – № 14. – P. 3–45.

13. Lin J. P. Serum bilirubin and genes controlling bilirubin concentrations as biomarkers for cardiovascular disease / J. P. Lin, L. Vitek, H. A. Schwertner // Clin. Chem. – 2010. – № 10. – P. 1535–1543.

14. Masoro E. J. Overview of caloric restriction and ageing / E. J. Masoro // Mech. Ageing Dev. – 2005. – № 9. – P. 913–922.

15. Molecular basis of bilirubin UDP-glucuronosyl-transferase induction in spontaneously diabetic rats, acetone-treated rats and starved rats / L. Braun, M. J. Coffey, F. Puskas [et al.] // Biochem. J. – 1998. – № 15. – P. 587–592.

16. Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise / Y. Hellsten, P. C. Tullson, E. A. Richter, J. Bangsbo // Free Radic. Biol. Med. – 1997. – № 22. – P. 169–174.

17. Serum bilirubin is inversely associated with insulin resistance and metabolic syndrome among children and adolescents / L.Y. Lin, H. K. Kuo,

J. J. Hwang [et al.] // Atherosclerosis. – 2009. – № 203. – P. 563–568.

18. Stocker R. Role of oxidative modifications in atherosclerosis / R. Stocker, J. F. Keaney // Physiol. Rev. – 2004. – № 4. – P. 1381–1478.

19. The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease / G. Lippi, M. Montagnana, M. Franchini [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2008. – № 1. – P. 1–7.

20. Tolman K. G. Liver Function / K. G. Tolman, R. Rej // Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia: Saunders Company, 1999. – P. 1136–1137.

21. Tourniquet-induced exsanguination in patients requiring lower limb surgery. An ischemia-reperfusion model of oxidant and antioxidant metabolism / M. Mathru, D. J. Dries, L. Barnes [et al.] // Anesthesiology. – 1996. – № 1. – P. 14–22.

22. Uric acid and oxidative stress / G. K. Glantzounis, E. C. Tsimoyiannis, A. M. Kappas, D. A. Galaris // Curr. Pharm. Des. – 2005. – № 11. – P. 4145–4151.

М. С. Гирич, Н. И. Кургузова, А. И. Божков
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. Н. КАРАЗИНА

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БИЛИРУБИНА И МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПРИ ЦИКЛИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ КОРМЛЕНИЯ

Резюме

Исследовано влияние циклического режима кормления на содержание билирубина и мочевой кислоты в сыворотке крови молодых (3-месячных) и старых (19-месячных) крыс. Выявлены существенные возрастзависимые изменения этих параметров при данном типе диетического ограничения. Полученные результаты важны для установления механизмов благоприятных эффектов циклического режима кормления и разработки терапевтических стратегий для ряда патологий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: билирубин, мочевая кислота, циклический режим кормления.

M. S. Hirych, N. I. Kurhuzova, A. I. Bozhkov
V. N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY

CHANGES IN THE CONTENT OF BILIRUBIN AND URIC ACID IN SERUM OF OLD AND YOUNG RATS UPON CYCLIC FEEDING REGIMEN

Summary

The effects of cyclic feeding regimen on the content of bilirubin and uric acid in serum of young (3-month) and old (19-month) rats. Considerable changes of these parameters were found upon the examined type of dietary restriction. The results obtained are of importance for clarifying the mechanisms of beneficiary effects of cyclic feeding regimen and development of therapeutic strategies for a range of pathologies.

KEY WORDS: bilirubin, uric acid, cyclic feeding regimen.

Отримано 10.07.14

Адреса для листування: М. С. Гирич, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, площа Свободи, 4, Харків, 61022, Україна.

**ВПЛИВ ЦИТРАТУ ХРОМУ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН У КРОВІ ЩУРІВ
ЗА СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ**

Досліджували вплив цитрату хрому на показники вуглеводного обміну в крові щурів за експериментального цукрового діабету (ЕЦД). Встановлено, що за ЕЦД у крові тварин збільшуються рівні глюкози, глікозильованого гемоглобіну, а в еритроцитах – лактату й активність лактатдегідрогенази, тоді як рівень пірувату та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази зменшуються. За умов додавання в раціон щурів з ЕЦД цитрату хрому в кількості 10 і 25 мкг Cr(III)/кг маси тіла в їх крові знижуються рівні глюкози, глікозильованого гемоглобіну, в еритроцитах – лактату та активність лактатдегідрогенази, проте зростають рівень пірувату та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: щури, хром, глюкоза, глікозильований гемоглобін, лактатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа.

ВСТУП. Тривалентний хром необхідний для нормального функціонування вуглеводного обміну в організмі людини і тварин [4, 7]. Він підвищує зв'язування інсуліну з рецептором плазматичної мембрани та посилює дію самого гормону [3]. За недостатнього надходження хрому в організмі виникають метаболічні порушення, симптоми яких подібні до тих, що спостерігаються при діабеті. Додаткове введення в дієту хворих на діабет Cr(III) приводить до нормалізації рівня глюкози та інсуліну в крові [3, 5]. Тому метою досліджень було з'ясувати дію хрому(III) на показники вуглеводного обміну в крові щурів за експериментально індукованого цукрового діабету.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 28 білих лабораторних щурах, які перебували в умовах віварію Інституту біології тварин НААН, масою тіла від 150 до 170 г. Їх поділили на чотири групи: 1-ша – контрольна; 2-га, 3-тя і 4-та – дослідні. У тварин дослідних груп на тлі 24-годинного голодування було викликано експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) шляхом внутрішньочеревного введення стрептозотоцину ("Sigma", США) з розрахунку 35 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли шляхом визначення глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра ("Gamma-M"). В основний раціон тварин 3-ї та 4-ї груп на основі викликаної гіперглікемії додавали розчин цитрату

хрому в кількості 10 і 25 мкг Cr/кг маси тіла. Після закінчення досліджень визначали рівень глюкози, загального та глікозильованого гемоглобіну в крові, а також лактату, пірувату, активність ензимів лактатдегідрогенази (ЛДГ) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах (Г-6-ФДГ) [1]. Роботу виконано з дотриманням усіх правил і міжнародних рекомендацій Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень було встановлено, що концентрація як глюкози, так і глікозильованого гемоглобіну, що відображає середній вміст глюкози в крові за тривалий період часу, зростала в крові щурів 2-ї групи з ЕЦД, відповідно, на 87 і 59 % порівняно з їх рівнем у тварин 1-ї групи – контрольної (рис. 1, 2). У тварин 3-ї групи, в раціон яких додавали цитрат хрому в кількості 10 мкг Cr/кг маси тіла на тлі ЕЦД, рівень глюкози також вірогідно підвищувався на 70 % порівняно з 1-ю групою. Однак у крові щурів 3-ї та 4-ї груп концентрація як глюкози, так і глікозильованого гемоглобіну дещо знижувалася стосовно тварин 2-ї групи.

Рівень загального гемоглобіну в крові тварин 2-ї групи при ЕЦД вірогідно не відрізнявся від його рівня в щурів 1-ї групи, лише спостерігали незначну тенденцію до зростання (рис. 3). Це може свідчити про здатність клітин

еритроїдного ряду синтезувати достатню кількість гемоглобіну навіть за умови дефіциту інсуліну. Однак у тварин 4-ї групи рівень загального гемоглобіну знижувався на 15 % стосовно 2-ї групи. Це вказує на інгібування

його синтезу через недостатню кількість феруму, який транспортується трансферином, що за певних умов може супроводжуватися зниженням забезпечення транспорту кисню до тканин.

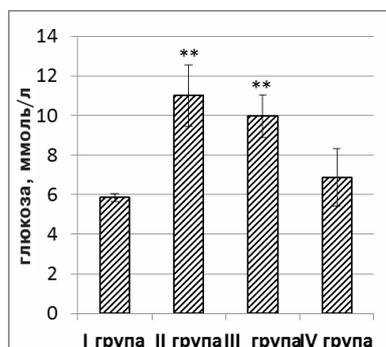


Рис. 1. Вміст глюкози в плазмі крові щурів (** – $p < 0,01$ вірогідність показників 2–4 груп порівняно з 1-ю групою).

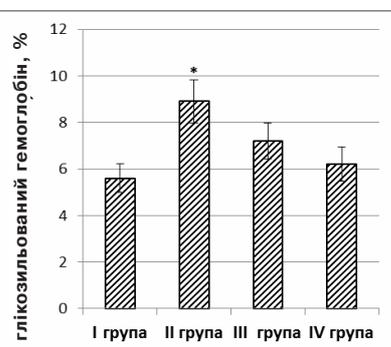


Рис. 2. Вміст глікозильованого гемоглобіну в крові щурів (* – $p < 0,05$ вірогідність показників 2–4 груп порівняно з 1-ю групою).

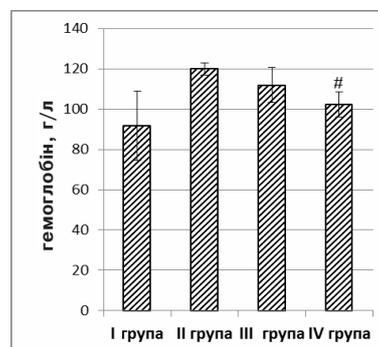


Рис. 3. Вміст загального гемоглобіну (# – $p < 0,05$ вірогідність показників 3-ї і 4-ї груп порівняно з 2-ю групою).

В еритроцитах ефективність перенесення глюкози через їх зовнішні мембрани не залежить від інсуліну. Тому за певних умов глюкоза, незалежно від інсуліну, може частково надходити в ці клітини і там метаболізуватися як по шляху гліколізу, так і по пентозофосфатному. Водночас у щурів 2-ї групи за ЕЦД відбувалось незначне підвищення активності лактатдегідрогенази в еритроцитах стосовно активності цього ензиму в тварин 1-ї групи (рис. 4). Активація лактатдегідрогенази в еритроцитах (яким властивий анаеробний тип метаболізму), можливо, зумовлена збільшенням частки мономерів М-типу ізоензимного складу, що забезпечувало зростання рівня лактату щодо пірувату в крові тварин 2-ї групи порівняно з 1-ю (рис. 5). Активація лактатдегідрогенази в еритроцитах свідчить про мобілізацію енергетичних ресурсів для максимального утворення молекул АТФ,

необхідних для внутрішньоклітинних процесів, транспорту катіонів через мембрану та збереження її цілісності [2]. А зростання співвідношення лактату до пірувату за ЕЦД є показником ступеня порушення клітинного метаболізму. Оскільки піруват є попередником ацетил-КоА, первинного субстрату ЦТК, зниження його концентрації в крові тварин за ЕЦД викличе і зменшення загального субстратного потоку в цьому циклі. Водночас за введення в раціон щурів цитрату хрому в крові тварин 3-ї і 4-ї груп стосовно 2-ї рівень лактату й активність лактатдегідрогенази дещо знижувалися, тоді як рівень пірувату – зростав (рис. 4, 5), що свідчить про нормалізацію метаболічних процесів в еритроцитах за дії Cr(III).

Встановлено, що активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази знижувалася в еритроцитах тварин 2-ї групи стосовно 1-ї (рис. 6), це свідчить про пригнічення метаболізму глюкози

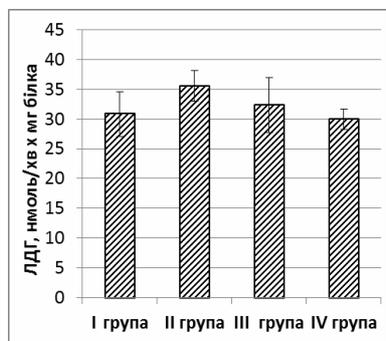


Рис. 4. Активність лактатдегідрогенази в еритроцитах.

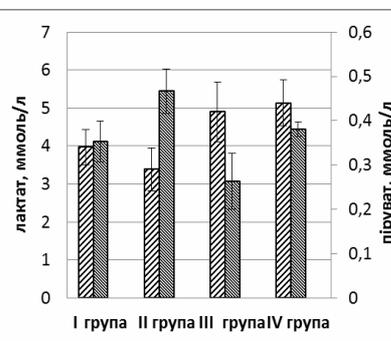


Рис. 5. Вміст лактату і пірувату в еритроцитах.

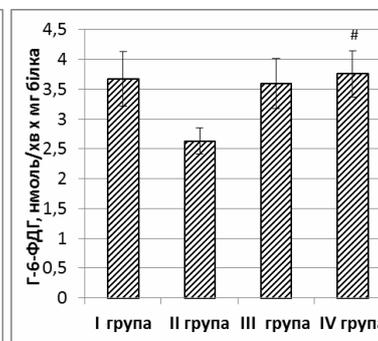


Рис. 6. Активність глюкозо-6-дегідрогенази (# – $p < 0,05$ вірогідність показників 3-ї і 4-ї груп порівняно з 2-ю групою).

по пентозофосфатному шляху за ЕЦД. Водночас зростання на 43 % НАДФН-генеруючої глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності еритроцитів у тварин 4-ї групи за дії цитрату хрому в кількості 25 мкг Cr/кг маси тіла стосовно 2-ї групи призводить до інтенсифікації утворення НАДФН+H⁺ в еритроїдних клітинах крові, який використовується надалі для біосинтезу різних органічних речовин, а також для підтримки нормальної концентрації відновленого глутатіону. Останній захищає гемоглобін і еритроцити від денатурації та розпаду за дії різних агентів, що володіють окиснювальними властивостями [6].

ВИСНОВКИ. За умов додавання в раціон щурів з експериментальним цукровим діабетом цитрату хрому в кількості 10 і 25 мкг Cr/кг маси тіла в їх крові знижувалися рівні глюкози, глікозильованого гемоглобіну, в еритроцитах – лактату та активність лактатдегідрогенази, проте зростали рівень пірувату та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Введення розчину цитрату хрому в раціон тварин з діабетом сприятливо впливало на вуглеводний обмін в їх крові, що може лягти в основу розробки методів профілактики та лікування цукрового діабету в гуманній медицині.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [Влізло В. В., Федорук Р. С., Макар І. А. та ін.]. – Львів : ВМС, 2012. – 764 с.
2. Agre P. Red blood cell membranes: structure, function, clinical implications / P. Agre, J. C. Parker // Hematology. — New York: CRC Press, — 1989. — 73 p.
3. Anderson R. A. Nutritional factors influencing the glucose/insulin system: Chromium / R. A. Anderson // Journal of American College Nutrition. — 1997. — **16**. — P. 404—410.
4. Cefalu W. T. Role of Chromium in Human Health and in Diabetes / W. T. Cefalu, F. B. Hu // Diabetes Care. — 2004. — **27**, № 11. — P. 2741—2751.
5. Glucose metabolism in glucose-intolerant older people during chromium supplementation / J. F. Potter, P. Levin, R. A. Anderson [et al.] // Metabolism. — 1985. — **34**. — P. 199—204.
6. Nakayama Y. Dynamic simulation of red blood cell metabolism and its application to the analysis of a pathological condition / Y. Nakayama, A. Kinoshita, M. Tomita // Theoretical Biology and Medical Modelling. — 2005. — P. 2—18.
7. Pechova A. Chromium as an essential nutrient a review / A. Pechova, L. Pavlata // Veterinarni Medicina. — 2007. — **52**, N 1. — P. 1—18.

Р. Я. Искра, О. М. Сливинская
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ НААН, ЛЬВОВ

ВЛИЯНИЕ ЦИТРАТА ХРОМА НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН В КРОВИ КРЫС ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ

Резюме

Исследовали влияние цитрата хрому на показатели углеводного обмена в крови крыс при экспериментальном сахарном диабете (ЭСД). Установлено, что при ЭСД в крови животных увеличиваются уровни глюкозы, гликозилированного гемоглобина, а в эритроцитах – лактата и активность лактатдегидрогеназы, в то время как уровень пирувата и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы уменьшаются. При добавлении в рацион крыс с ЭСД цитрата хрому в количестве 10 и 25 мкг Cr/кг массы тела в их крови снижаются уровни глюкозы, гликозилированного гемоглобина, в эритроцитах – лактата и активность лактатдегидрогеназы, однако возрастают уровень пирувата и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крысы, хром, глюкоза, гликозилированный гемоглобин, лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.

INFLUENCE OF CHROMIUM CITRATE ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM IN RATS WITH STREPTOZOCIN-INDUCED DIABETES

Summary

The influence of chromium citrate on the carbohydrate metabolism in rats with Streptozocin-induced diabetes, was researched. It was discovered that in a situation of an experimental diabetes the blood levels of a glucose and glycated hemoglobin increase, the level of a lactate and a lactate dehydrogenase activity increase in erythrocytes, while the level of a pyruvate and a glucose-6-phosphate dehydrogenase activity decrease. The blood level of the glucose, glycated hemoglobin, the level of the lactate and a lactate dehydrogenase activity in erythrocytes decreased but the level of the pyruvate and the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity increased when the chromium citrate was added to rats' with the experimental diabetes ration in 10 and 25 mcg Cr/kg amount.

KEY WORDS: rats, chromium, glucose, glycated hemoglobin, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase.

Отримано 02.07.14

Адреса для листування: Р. Я. Іскра, Інститут біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.

**ПРО ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ТА ГІСТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ
У ПОРІВНЯЛЬНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ
ВІТЧИЗНЯНИХ ЛІПОСОМАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА УМОВ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ**

Токсичний вплив лікарських засобів на печінку є проблемою, над вирішенням якої працюють фармакологи, фармацевти і лікарі багатьох спеціальностей. Дослідження активності гепатопротекторів різного походження та препаратів інших груп, що зменшують пошкодження печінки, проводять у різних напрямках як на доклінічному етапі, так і при порівняльних багатоцентрових дослідженнях зареєстрованих ліків. Ефективність ліпосомальних препаратів вітчизняного виробництва "Ліпін" та "Ліпофлавін" ми досліджували в експерименті на тваринах (білих щурах) за умов гострого гепатиту, модельованого шляхом введення парацетамолу, тетрацикліну та ізоніазиду, порівняно з еталонним гепатопротектором "Силібор". Як тестові параметри використали такі показники функціонального стану печінки: активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази в плазмі крові й гістоструктуру тканини печінки. За результатами біохімічних та гістоморфологічних досліджень, встановлено, що вітчизняні препарати з різним механізмом дії володіють вираженим порівнянним гепатопротекторним ефектом за умов експериментальних лікопов'язаних гепатитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гепатотоксичність, гепатопротектори, експериментальне дослідження.

ВСТУП. На даний час відомо понад 1000 ліків, у яких доведена гепатотоксична дія, хоча більшість лікарських засобів (ЛЗ) викликає пошкодження печінки доволі рідко. Токсичні ураження печінки найчастіше спостерігають при застосуванні лікарських засобів таких фармакологічних груп, як антибіотики (тетрацикліни, макроліди, пеніциліни та ін.), протитуберкульозні препарати (рифампіцин, ізоніазид, піразинамід, фторхінолони тощо), діуретики (гіпотіазид, фуросемід), гормональні препарати, НПЗЗ (диклофенак, аспірин), протиепілептичні та протидіабетичні ліки, сульфаніламід, цитостатики, протиаритмічні засоби (аміодарон).

Гістологічні зміни при біопсії печінки теж різноманітні й характерні для кожного препарату або фармакологічної групи, хоча і не є специфічними [2, 7]. Серед механізмів патогенезу медикаментозного ураження печінки відзначають пероксидне окиснення ліпідів, денатурацію білків, виснаження запасів АТФ, порушення функцій мітохондрій, утворення вільних радикалів, гаптенів та ін. [7, 8] У класифікаціях гепатотоксичності ЛЗ виділяють препарати, що мають безпосередню токсичність, яка визначається перевищенням разових і курсових доз, а

© Л. М. Шеремета, 2014.

також реакціями ідіосинкразії, котрі викликають пошкодження печінки в пацієнтів з індивідуальною непереносимістю даного препарату. Більшість небажаних реакцій зумовлена ідіосинкразією, яка може виникнути на будь-який ЛЗ незалежно від застосованої дози [5–9].

Ліпосомальні препарати містять фосфоліпід і займають особливе місце в лікуванні захворювань печінки. Гепатопротекторна дія фосфоліпідів ґрунтується на пригніченні процесів пероксидного окиснення ліпідів, що є однією з провідних ланок патогенетичних механізмів ураження печінки. Їм притаманна здатність захищати і стабілізувати мембрани гепатоцитів, таким чином, зменшувати їх підвищену проникність. Відомо, що їх вплив є інтегральним та включає мембраностабілізуючу, антиоксидантну, протизапальну, анаболічну, жовчогінну, імуномодуючу й інші дії [3, 4]. Безперечний позитивний ефект у терапії захворювань печінки мають гепатопротектори біофлавоноїдної природи, зокрема препарати розторопші плямистої [3].

Арсенал сучасних гепатопротекторів, рекомендованих для використання в клінічній практиці, невеликий. За останні роки в Україні було створено такі оригінальні препарати, як "Антраль", "Тіотриазолін", "Ліпофен", "Ліпін",

“Ліпофлавіон”, які не чинять негативної дії на організм [3, 4].

Метою роботи було дослідити порівняльну гепатопротекторну ефективність застосування вітчизняних препаратів з різним механізмом дії при експериментальних медикаментозних гепатитах, викликаних токсичними дозами парацетамолу, тетрацикліну та ізоніазиду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 180 щурах лінії Вістар, в яких моделювали медикаментозний гепатит шляхом введення ізоніазиду, тетрацикліну та парацетамолу за [1]. Тварин було поділено на такі групи: інтактні, контрольні (3 групи з модельованими медикаментозними гепатитами без лікування), дослід-

ні групи, в яких модельовані гепатити лікували ліпіном, силібором та ліпофлавіоном. На час завершення експерименту тварин піддавали етаназії під тіопенталовим наркозом і здійснювали забір крові й печінки для біохімічних та гістологічних досліджень [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Моделювання токсичних гепатитів у тварин проводили за загальноприйнятими методиками в дозуванні, значно вищому, ніж використовують у клінічній практиці [1] (табл. 1). Зрозуміло, що значне передозування в експериментальних моделях явно гепатотоксичних речовин викликає істотне збільшення частоти та глибини ураження печінки.

Таблиця 1 – **Дози ізоніазиду, парацетамолу і тетрацикліну для відтворення експериментального медикаментозного гепатиту та максимальні добові, які застосовують у клінічній практиці**

Лікарський засіб	Експериментальна доза (моделювання гепатиту)	Терапевтична доза (максимальна добова)
Ізоніазид	100 мг/кг	15 мг/кг
Парацетамол	1250 мг/кг	4 г
Тетрациклін	500 мг/кг	4 г

Оскільки найбільш доказовими і вірогідними параметрами, що вказують на пошкодження, є рівні активності маркерів цитолізу – аланін та аспартатамінотрансферази (АсАТ і АлАТ), а також маркера холестазу – лужної фосфатази (ЛФ), то саме ці показники ми взяли за основу визначення ефективності досліджуваних гепа-

топротекторів (табл. 2). Розвиток гепатиту під впливом тетрацикліну супроводжувався зростанням активності всіх названих показників. Так, рівень АлАТ збільшився на 91 % ($p < 0,05$), АсАТ – на 32 % ($p < 0,05$), а ЛФ – на 44 % , що свідчило про активний цитоліз гепатоцитів та виражений холестаза.

Таблиця 2 – **Вплив ліпофлавіону, ліпіну та силібору на функціональні показники стану печінки щурів за медикаментозних гепатитів**

Група тварин	АлАТ, ммоль/(л·год)	АсАТ, ммоль/(л·год)	ЛФ, ммоль/(л·с)
Модель “парацетамолового” гепатиту (n=7–10)			
Інтактні	0,74±0,04	1,44±0,005	3347±145
Контроль	1,3±0,19 ¹	2,99±0,19 ¹	4794±374 ¹
Ліпофлавіон, 2 мг/кг	0,79±0,07 ^{1,2}	1,98±0,08 ^{1,2}	3867±238 ^{1,2}
Ліпін, 2 мг/кг	0,88±0,11 ^{1,2,3}	2,01±0,09 ^{1,2}	3806±291 ^{1,2}
Силібор, 25 мг/кг	0,89±0,08 ^{1,2,3}	2,05±0,01 ^{1,2,3}	3860±274 ^{1,2}
Модель “тетрациклінового” гепатиту (n=7–10)			
Інтактні	0,67±0,05	1,58±0,09	3446±55
Контроль	1,28±0,19 ¹	2,08±0,2 ¹	4967±62 ¹
Ліпофлавіон, 2 мг/кг	0,75±0,09 ^{1,2}	1,74±0,1 ^{1,2}	3700±55 ^{1,2}
Ліпін, 2 мг/кг	0,71±0,08 ²	1,71±0,06 ^{1,2}	3671±110 ^{1,2}
Силібор	0,82±0,14 ^{1,2}	1,78±0,08 ^{1,2}	3775±88 ^{1,2}
Модель “ізоніазидового” гепатиту (n=8–10)			
Інтактні	0,67±0,01	1,6±0,04	3435±45
Контроль	0,98±0,01 ¹	3,69±0,06 ¹	5118±36,5 ¹
ЛК, 2 мг/кг	0,71±0,01 ^{1,2}	1,8±0,03 ^{1,2}	3504±20 ²
Ліпін, 2 мг/кг	0,74±0,01 ^{1,2,3}	1,9±0,06 ^{1,2}	3709±31,5 ^{1,2,3}
Силібор	0,76±0,01 ^{1,2,3}	2,46±0,09 ^{1,2,3}	4052±29,6 ^{1,2,3}

Примітки:

- ¹ – $p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами.
- ² – $p < 0,05$ порівняно з контролем.
- ³ – $p < 0,05$ порівняно з тваринами, лікованими ліпофлавіоном.

Порівняння антицитолітичного й антихолестатичного ефектів ліпофлавоу, ліпіну і силібору на моделі “тетрациклінового” гепатиту показало, що вплив їх на активність АлАТ, АсАТ та ЛФ практично рівноцінний і статистично достовірно не відрізняється (табл. 2). Водночас лікування “парацетамолового” гепатиту всіма досліджуваними препаратами також спричинило позитивний вплив, який проявився зменшенням вираження ступеня токсичного цитолізу та холестазу. Порівняння ефективності використаних гепатопротекторів за умов “ізоніазидового” гепатиту продемонструвало, що за впливом на активність АлАТ, АсАТ і ЛФ дія силібору та ліпіну є менш вираженою, ніж дія ліпофлавоу.

Слід зазначити, що, незважаючи на достовірну різницю між показниками тварин інтактної

групи та всіх груп, які отримували лікування досліджуваними ЛЗ, найбільш наближеними до норми були показники в щурів, лікованих ліпофлавоном.

У наших експериментах ефективність гепатопротекторів була підтверджена в дослідних групах тварин не тільки показниками біохімічних тестів, але і гістологічно [4]. При відтворенні гострого некрозу печінки парацетамолом летальність становила 30 %, а в мікропрепаратах усіх груп тварин спостерігали зміни гісто­структури різної глибини: в контрольних відзначали ділянки некрозу гепатоцитів у вигляді зруйнованих клітин без ядер, навколо яких – групи печінкових клітин з вираженою гідропічною дистрофією (рис. 1), у лікованих ліпофлавоном відмічали появу двоядерних регенеруючих гепатоцитів (рис. 2).

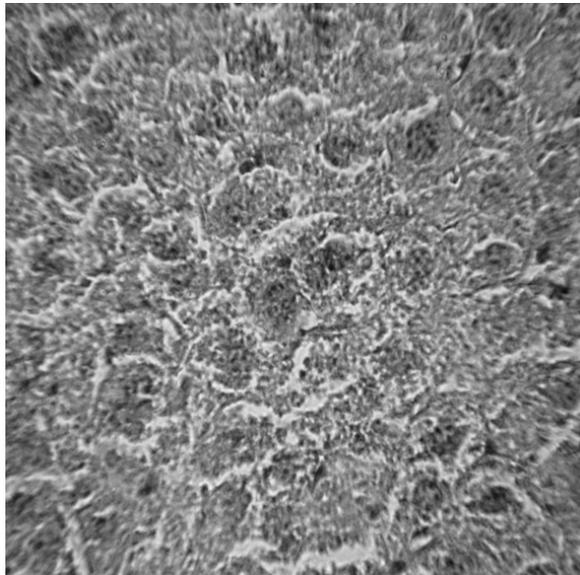


Рис. 1. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x900.

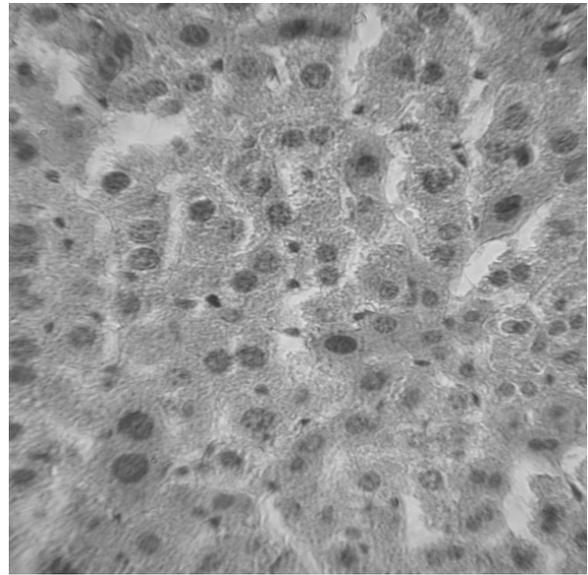


Рис. 2. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x400.

За моделювання гострого гепатиту тетрацикліном летальність нелікованих тварин була такою ж, як у моделі з парацетамолом, і гісто­структурні зміни спостерігали в мікропрепаратах усіх експериментальних груп – переважали дистрофічні й некротичні прояви, здебільшого гепатоцитів ядра з каріопікнозом, каріорексисом. За умов модельованого ізоніазидом суб­хронічного гепатиту летальність щурів теж була досить високою (20 %), а гістоморфологічні дослідження виявили різні за тяжкістю зміни у тканинах печінки – від некрозу гепатоцитів до проявів зернистої дистрофії гепатоцитів та вираженої різною мірою вогнищевої інфільтрації строми портальних трактів практично у всіх групах тварин. Водночас слід відзначити суттєві регенеративні процеси, які спостерігали в

мікропрепаратах тканин печінки лікованих щурів усіх дослідних груп.

ВИСНОВКИ. 1. Введення дослідним тваринам високих доз таких гепатотоксичних ЛЗ, як парацетамол, тетрациклін та ізоніазид, викликає розвиток медикаментозних токсичних гепатитів у 90–100 % тварин, про що свідчать біохімічні та гістологічні дослідження, а також високий відсоток летальності. Гепатозахисна дія ліпіну, ліпофлавоу та силібору проявляється нормалізацією показників цитолізу і холестазу, а також відновленням архітектоніки печінки.

2. За гепатопротекторною ефективністю досліджувані препарати можна розташувати таким чином: ліпофлавоу ≥ ліпін ≥ силібор.

Перспективи подальших досліджень. Ми плануємо продовжити вивчення можливостей застосування гепатопротекторів та препаратів

інших груп з метою створення рекомендацій щодо їх використання у клініці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 321–333.
2. Морфологическая диагностика заболевания печени / под ред. В. В. Серова, К. М. Лапиша. – М. : Медицина, 1989. – 335 с.
3. Севастьянова Т. В. Характеристика современных гепатопротекторных средств (обзор литературы) / Т. В. Севастьянова // Вісн. Харків. нац. ун-ту. Серія "Медицина". – 2004. – № 639. – Вип. 9. – С. 83–88.
4. Шеремета Л. М. Дослідження гепатопротекторної дії ліпосомального кверцетину при медикаментозних гепатитах в експерименті / Л. М. Шеремета, О. В. Стефанов // Одес. мед. журн. – 2007. – № 5 (103). – С. 23–26.
5. Acetaminophen-induced hepatotoxicity / Laura P. James, Philip R. Mayeux, Jack A. Hinson // <http://dmd.aspetjournals.org/content/31/12/1499>.
6. Kurtovic J. Paracetamol-induced hepatotoxicity at recommended dosage/ J. Kurtovic, S. M. Riordan // Journal of Internal Medicine. – 2003. – **253**, Issue 2. – P. 240–243.
7. Lee William M. Drug-Induced Hepatotoxicity/ William M. Lee // N. Engl. J. Med. – 2003. – **349**. – P. 474–485.
8. Navarro Victor J. Drug-Related Hepatotoxicity/ Victor J. Navarro, John R. Senior// N. Engl. J. Med. – 2006. – **354**. – P. 731–739.
9. Tasduq Sheikh A. Biochemical manifestations of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity and the effect of silymarin / Sheikh A. Tasduq <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386634605000082>, Kaiser Peerzada, Supriya Koul // Hepatology Research. – 2005. – **31**. – P. 132–135.

Л. Н. Шеремета

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

О НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЯХ В СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ГЕПАТИТЕ

Резюме

Токсическое воздействие лекарственных средств на печень является проблемой, над решением которой работают фармакологи, фармацевты и врачи многих специальностей. Исследование активности гепатопротекторов различного происхождения и препаратов других групп, уменьшающих повреждение печени, проводят в разных направлениях как на доклиническом этапе, так и при сравнительных многоцентровых исследованиях зарегистрированных лекарств. Эффективность липосомальных препаратов отечественного производства "Липин" и "Липофлавор" мы исследовали в эксперименте на животных (белых крысах) в условиях острого гепатита, моделируемого введением парацетамола, тетрациклина и изониазида по сравнению с эталонным гепатопротектором "Силибор". В качестве тестовых параметров использовали следующие показатели функционального состояния печени: активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в плазме крови и гистоструктуры ткани печени. По результатам биохимических и гистоморфологических исследований, установлено, что отечественные препараты разного механизма действия обладают выраженным сопоставимым гепатопротекторным эффектом в условиях экспериментальных лекарственных гепатитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гепатотоксичность, гепатопротекторы, экспериментальное исследование.

**ABOUT SOME BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL PARAMETERS IN
COMPARATIVE STUDY OF DOMESTIC LIPOSOMAL HEPATOPROTECTIVE
PREPARATIONS IN EXPERIMENTAL DRUG-INDUCED HEPATITIS**

Summary

Drug-induced toxic effects on the liver is a problem which pharmacologists, pharmacists and physicians of many specialties tried to solve. Efficiency hepatoprotectors domestic production, such as Silibor, Lipin and Lipoflavon we investigated in experiments on animals (rats) under conditions of acute hepatitis, simulated administration of high doses of acetaminophen, tetracycline and isoniazid. Introduction experimental animals high doses of those hepatotoxic drugs causes the development of drug-induced toxic hepatitis in 90–100 % of the animals, as evidenced by biochemical and histological studies, as well as a high percentage of mortality. Hepatoprotective effect of Lipin, Lipoflavon and Silibor shown normalization of cytolysis and cholestasis indexes and liver recovery architecture. For hepatoprotective efficiency studied medication can be placed as follows: Lipoflavon ≥ Lipin ≥ Silibor.

KEY WORDS: hepatotoxicity, hepatoprotectors, experimental research.

Отримано 23.07.14

Адреса для листування: Л. М. Шеремета, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.

ПОШКОДЖУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА МОЛОДИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

У роботі досліджено вплив хронічного пренатального, постнатального стресу та їх комбінації на зміни перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в щурів різної статі. Виявлено їх зростання. Найменший антиоксидантний захист при найбільшому зростанні перекисного окиснення ліпідів був у самців при пренатальному стресі, самиць – при постнатальному та пренатальному стресі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес, щури, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

ВСТУП. Вагітні часто перебувають у стресовому стані, що негативно впливає на їх потомство, в якого виникає пренатальний стрес [11]. Більше при цьому страждають особи чоловічої статі [10]. Постнатальний стрес, особливо гострий на фоні хронічного, впливає більше на осіб жіночої статі [12]. При обох видах стресу страждає серцево-судинна система [9]. Визначення патогенетичних ланок, які б змогли розкрити механізми пошкоджувального впливу пренатального, постнатального стресу та їх комбінації на осіб чоловічої і жіночої статі, допоможе в пошуку лікарських засобів, що мають протекторний вплив. Тому метою цієї роботи було визначити зміни перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в щурів різної статі, які зазнали впливу пренатального, постнатального стресу та їх комбінації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 44 безпорідних статевозрілих щурах-самцях і 48 самиць віком 3 місяці. Пренатальний стрес викликали у вагітних самиць за стандартною методикою [1]. Постнатальний стрес у тварин викликали, починаючи з 1,5-місячного віку. Їх розміщували у клітках з обмеженням життєвого простору до 3 місяців. У день експерименту щурів фіксували 1 год спинкою донизу. Комбінований стрес включав поєднання пре- і постнатального стресу.

Досліди виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з © І. Р. Міц, 2014.

біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження забирали кров і шматочки серця. У гомогенаті серця визначали концентрацію дієнових кон'югат (ДК), ТБК-активних продуктів, трієнових кон'югат (ТК) [3], активність супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази [6], вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГП) [5, 8], у сироватці крові – пероксидазну активність крові (ПАК) [4], вміст церулоплазміну (ЦП) [4].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента [4], в інших випадках – за допомогою непараметричних методів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У контрольних самиць виявлено нижчу активність процесів ПОЛ порівняно з самцями, про що свідчили менші показники ДК, ТБК-активних продуктів, ТК, відповідно, на 7,02 % (p<0,001), 7,10 % (p<0,002), 5,50 % (p<0,001) (табл. 1). При стресі відмічено значне збільшення продуктів ПОЛ.

Найбільше зростання продуктів ПОЛ у самців було при комбінованому та пренатальному стресі. Так, вміст ДК, ТБК-активних продуктів і

Таблиця 1 – Зміни показників перекисного окиснення ліпідів, викликані стресом (M±m)

Група	Показник		
	дієнові кон'югати, ум. од.·г ⁻¹	ТБК-активні продукти, мкмоль/кг	трієнові кон'югати, ум. од.·г ⁻¹
Самці			
Контроль (n=10)	0,317±0,001	0,474±0,006	0,318±0,001
Пренатальний стрес (n=12)	0,485±0,004 [*]	1,062±0,038 [*]	0,498±0,004 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	0,458±0,007 ^{***}	0,881±0,028 ^{***}	0,462±0,007 ^{***}
Комбінований стрес (n=10)	0,495±0,010 ^{*.##}	1,120±0,032 ^{*.##}	0,500±0,011 ^{*.##}
Самиці			
Контроль (n=10)	0,296±0,002 [#]	0,442±0,006 [#]	0,302±0,002 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	0,491±0,005 [*]	1,144±0,045 [*]	0,493±0,005 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	0,493±0,007 [#]	1,314±0,045 [#]	0,497±0,006 [#]
Комбінований стрес (n=14)	0,441±0,006 ^{*.#}	1,027±0,038 [*]	0,446±0,006 ^{*.#}

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

1. * – показники достовірні порівняно з контролем.
2. ** – показники достовірні порівняно з пренатальним стресом.
3. ## – показники достовірні порівняно з постнатальним стресом.
4. # – показники достовірні порівняно із самицями.

ТК збільшився, відповідно, в 1,56 (p<0,001), 2,36 (p<0,001) і 1,57 (p<0,001) раза при першому і в 1,53 (p<0,001), 2,24 (p<0,001) і 1,57 (p<0,001) раза при другому. У самиць найбільше зростання продуктів ПОЛ відмічено при пост- та пренатальному стресі. Вміст ДК, ТБК-активних продуктів і ТК збільшився, відповідно, в 1,66 (p<0,001), 2,97 (p<0,001) і 1,65 (p<0,001) раза та в 1,66 (p<0,001), 2,59 (p<0,001) і 1,63 (p<0,001) раза.

Відзначено і статеву різницю: досліджувані показники були достовірно більшими при постнатальному стресі серед самиць, при комбінованому – самців.

При вивченні ферментативної ланки антиоксидантного захисту (табл. 2) виявлено, що в контролі у самців, порівняно із самицями, вищі показники ПАК – у 1,98 раза (p<0,05), каталази – на 5,04 % (p<0,05) і ЦП – на 12,59 % (p<0,001).

Таблиця 2 – Зміни показників ферментативної ланки антиоксидантного захисту, викликані стресом (M±m)

Група	Показник			
	пероксидазна активність крові, (мкмоль/хв)·л	супероксид-дисмутаза, ум. од.·мг ⁻¹	каталаза, мкат/кг	церулоплазмін, мг/л
Самці				
Контроль (n=10)	91,43±19,09	0,1224±0,0033	3,66±0,06	5,320±0,108
Пренатальний стрес (n=12)	468,62±9,77 [*]	1,8237±0,0547 [*]	3,72±0,04 [*]	11,171±0,139 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	545,48±2,90 ^{***}	2,2035±0,0536 ^{***}	4,92±0,15 ^{***}	8,225±0,090 ^{***}
Комбінований стрес (n=10)	279,83±11,15 ^{*.##}	2,1809±0,0376 [*]	3,36±0,07 ^{*.##}	11,532±0,216 ^{*.##}
Самиці				
Контроль (n=10)	46,23±1,96 [#]	0,1138±0,0026	3,49±0,04 [#]	4,725±0,101 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	448,38±6,80 [*]	1,6306±0,0552 ^{*.#}	3,54±0,07 [#]	10,113±0,213 ^{*.#}
Постнатальний стрес (n=12)	532,43±4,40 ^{*.#}	1,5405±0,0585 ^{*.#}	3,79±0,07 ^{***.#}	9,063±0,134 ^{***.#}
Комбінований стрес (n=14)	340,77±7,32 ^{*.#}	2,0342±0,0394 ^{***.##}	3,06±0,04 ^{***.##}	11,887±0,151 ^{***.##}

Під впливом стресу у тварин відмічено зростання активності ферментативної ланки антиоксидантної системи як у серці, так і в крові, що вказує на наявність стадії тривоги або

розвиток резистентності до стресу [2]. У самців найбільше зростання ПАК, СОД і каталази виявлено при постнатальному стресі, ЦП – комбінованому. В самиць найбільше зростання ПАК і каталази було при постнатальному стресі, СОД і ЦП – комбінованому.

При вивченні показників системи глутатіону (табл. 3) виявлено вище значення активності ферментів у самиць порівняно із самцями (ГП – на 28,19 %, $p < 0,001$, ГР – на 18,76 %, $p < 0,001$) і, відповідно, менше значення відновленого глутатіону в перших (на 12,21 %, $p < 0,001$).

Таблиця 3 – Зміни показників системи глутатіону, викликані стресом ($M \pm m$)

Група	Показник		
	відновлений глутатіон, мкмоль/г	глутатіонпероксидаза, (мкмоль/хв)·кг	глутатіонредуктаза, (мкмоль/хв)·кг
Самці			
Контроль (n=10)	838,60±16,81	0,1763±0,0033	0,0826±0,0007
Пренатальний стрес (n=12)	1241,23±23,14 [*]	0,2995±0,0053 [*]	0,1027±0,0033 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	1000,00±12,87 ^{*,**}	0,2646±0,0035 ^{*,**}	0,1313±0,0032 ^{*,**}
Комбінований стрес (n=10)	998,25±24,98 [*]	0,3035±0,0050 ^{*,##}	0,1306±0,0052 [*]
Самиці			
Контроль (n=10)	747,37±9,68 [#]	0,2260±0,0044 [#]	0,0981±0,0014 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	1118,42±20,07 ^{*,#}	0,3011±0,0051 [*]	0,1704±0,0051 ^{*,#}
Постнатальний стрес (n=12)	1162,28±9,92 ^{*,#}	0,2563±0,0049 ^{*,**}	0,1472±0,0065 ^{*,**}
Комбінований стрес (n=14)	1254,39±16,38 ^{*,**,##}	0,2826±0,0045 ^{*,**,##}	0,0989±0,0042 ^{*,**,##}

Під дією стресу у тварин відмічено зростання активності ферментів системи глутатіону. В самців найбільше зростання ГП спостерігали при комбінованому стресі, ГР – постнатальному, відновленого глутатіону – пренатальному. В самиць найбільше зростання ГП і ГР відзначено при пренатальному стресі, відновленого глутатіону – комбінованому.

Отримані результати вказують на те, що в контролі у молодих щурів-самців процеси ПОЛ перебігали на вищому рівні порівняно із самицями. Під впливом стресу статистично достовірно зросли показники як перекисного окиснення ліпідів, так і антиоксидантної системи у тварин двох статей. Відмічено статеву різницю у механізмах адаптації до стресу. В самців найменше зростали показники анти-

оксидантної системи при пренатальному стресі. У самиць спостерігали найбільше зростання ГП при пренатальному стресі, ПАК і каталази – постнатальному, СОД і ЦП – комбінованому, тобто при комбінованому стресі відзначено максимальний протекторний ефект.

ВИСНОВКИ. 1. В інтактних тримісячних щурів-самців, порівняно із самицями такого ж віку, спостерігають вищу активність процесів ПОЛ.

2. Стрес призводить до активації процесів ПОЛ і антиоксидантного захисту у тварин незалежно від статі.

3. Найбільшу інтенсифікацію процесів ПОЛ при меншому антиоксидантному захисті в самців відмічено при пренатальному стресі, у самиць – при пост- та пренатальному.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамов А. В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, М. А. Тихоновская // Запорож. мед. журн. – 2004. – № 6. – С. 38–41.
2. Барабой В. А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу / В. А. Барабой, О. Г. Резніков. – К. : Інтерсервіс, 2013. – 314 с.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

4. Клінічна та лабораторна діагностика. Нормативні директивні правові документи. – К. : МВЦ "Медінформ", 2003. – 856 с.

5. Круглікова Г. О. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів

після введення селеніту натрію / Г. О. Круглікова, І. М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – № 2. – С. 227–233.

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

7. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

8. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – 60, № 10. – P. 1261–1266.

9. Prenatal maternal bereavement and congenital heart defects in offspring: a registry-based study /

J. L. Zhu, J. Olsen, H. T. Sorensen [et al.] // Pediatrics. – 2013. – 131 (4). – P. 1225–1230.

10. Sex-specific effects of prenatal stress on glucose homeostasis and peripheral metabolism in rats / P. J. Brunton, K. M. Sullivan, D. Kerrigan [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – 217 (2). – P. 161–173.

11. The association between perceived emotional support, maternal mood, salivary cortisol, salivary cortisone, and the ratio between the two compounds in response to acute stress in second trimester pregnant women / La Marca- P. Ghaemmaghami, R. La Marca, S. M. Dainese [et al.] // J. Psychosom. Res. – 2013. – 75 (4). – P. 314–320.

12. The relationship of chronic and momentary work stress to cardiac reactivity in female managers: feasibility of a smart phone-assisted assessment system / M. A. Lumley, W. Shi, C. Wiholm [et al.] // Psychosom. Med. – 2014. – 76 (7). – P. 512–518.

И. Р. Миц

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА МОЛОДЫХ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ПОЛА

Резюме

В работе исследовано влияние хронического пренатального, постнатального стресса и их комбинации на изменения перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у крыс разного пола. Выявлен их рост. Наименьшая антиоксидантная защита при наибольшем росте перекисного окисления липидов была у самцов при пренатальном стрессе, самок – постнатальном и пренатальном стрессе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стресс, крысы, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

I. R. Mits

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DAMAGING EFFECT OF CHRONIC STRESS ON YOUNG RATS OF DIFFERENT SEX

Summary

We was investigated the effect of chronic prenatal, postnatal stress and their combination on changes in lipid peroxidation and antioxidant protection in rats of different sexes. Revealed their growth. The lowest antioxidant protection at the greatest increase in lipid peroxidation was in males with prenatal stress, females –postnatal and prenatal stress.

KEY WORDS: stress, rats, lipid peroxidation, antioxidant system.

Отримано 24.07.14

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

В. М. Грінкевич¹, Н. П. Юрченко², Н. М. Глущенко²
 НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ¹, КИЇВ
 ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
 ІМЕНІ Р. Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ², КИЇВ

ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ У СЕРОЗНИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧНИКА ЗАЛЕЖНО ВІД СТАНУ МЕНСТРУАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ХВОРИХ

Проведено дослідження рецепторів естрогенів і прогестерону в межах одного гістологічного типу пухлини серозного раку яєчника. Визначено зв'язок експресії досліджених маркерів з клініко-морфологічними особливостями пухлинного процесу, зокрема зі станом менструальної функції хворих на серозний рак яєчника. Встановлено, що рецепторний статус у хворих на рак яєчника зі збереженою менструальною функцією може визначати термін виживаності хворих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серозний рак яєчника, молекулярно-біологічні маркери, рецептори естрогенів і прогестерону.

ВСТУП. На сьогодні значення ендокринно-обмінних порушень у патогенезі епітеліальних новоутворень яєчника обґрунтоване великою кількістю експериментальних, епідеміологічних та клінічних досліджень [1, 2]. При цьому важливе місце у патогенезі раку яєчника (РЯ) належить гормональному дисбалансу, який визначається збільшенням гонадотропної функції гіпофіза, що призводить до гіперстимуляції овуляції та хронічної гіперестрогенії або зниження секреції прогестерону. Крім того, показано, що яєчник не тільки продукує статеві стероїдні гормони, але і є тканиною-мішенню для останніх [7]. Гормони впливають на тканини мішені, головним чином, при зв'язуванні з відповідними рецепторами.

Згідно з даними літератури і результатами наших попередніх досліджень, показано, що вміст рецепторів стероїдних гормонів у серозних пухлинах яєчника залежить від гістологічного типу пухлини, ступеня її диференціювання і пов'язаний з перебігом захворювання [3, 7].

Проте до цього часу немає однозначної думки щодо ролі рецепторів стероїдних гормонів у перебігу захворювання пацієнтів з РЯ різного віку та стану менструальної функції, хоча при порівнянні рецепторного фенотипу у хворих на рак молочної залози і тіла матки було встановлено, що у хворих на рак молочної залози рецепторнегативні пухлини частіше спостерігають серед молодих жінок, а в паці-

єнток з пухлинами ендометрія – серед жінок похилого віку [4–6].

Зважаючи на сказане, мета роботи полягала у ретроспективному дослідженні рецепторів естрогенів і прогестерону в пухлинах серозного РЯ та визначенні їх прогностичного значення залежно від віку і стану менструальної функції хворих.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на зразках видалених пухлин яєчника 79 хворих на серозний РЯ віком від 21 до 79 років. Із загальної кількості пацієток 33 (41,8 %) перебували в репродуктивному періоді, 46 (58,2 %) – у менопаузі. У 12 хворих (15,2 %) було діагностовано I–II стадії, а в 67 (84,8 %) – III–IV стадії пухлинного процесу.

До проведення хірургічного лікування хворим не призначали неoad'ювантної поліхіміотерапії. У післяопераційний період пацієнтам проводили ад'ювантну внутрішньовенну поліхіміотерапію (від 1 до 9 курсів), що залежало від розповсюдженості пухлинного процесу.

Верифікацію клінічного діагнозу здійснювали на гістологічних зрізах, забарвлених гематоксиліном та еозином.

Імуногістохімічні дослідження експресії білків проводили на паралельних зрізах з використанням моноклональних антитіл: рецептори естрогенів (PE) – клон 1D5, прогестерону (PP) – клон PgR636. Для візуалізації білків застосовували систему En Vision ("Dako Cytomation", Данія).

У кожному препараті аналізували по 1000 пухлинних клітин, кількість клітин з позитивною імуногістохімічною реакцією визначали як індекс мітки (ІМ) і характеризували у відсотках. Наявність експресії рецепторів естрогенів та прогестерону визначали за умов специфічного ядерного забарвлення. Пухлину вважали негативною за експресією рецепторів стероїдних гормонів при $ІМ < 10\%$ згідно з рекомендаціями [4, 6]. Розраховували також медіани (Ме) показників експресії: при значеннях ІМ, менших або більших за Ме, експресію маркера вважали, відповідно, низькою чи високою.

Статистичний аналіз проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики із застосуванням пакета програм STATISTICA 6.0 (StatSoft). Вживаність хворих аналізували за методом Каплана-Майєра, порівняння виживаності у групах здійснювали за F-критерієм Кокса.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Морфологічне дослідження видалених новоутворень показало, що всі пухлини мали будову серозних аденокарцином яєчника з різною часткою папілярного компонента та різним ступенем диференціювання. Серед 79 пухлин 9 виявилися високодиференційованими аденокарциномами, 34 – помірnodиференційованими, а 36 – низькодиференційованими.

Аналіз загальних даних щодо експресії стероїдних гормонів у клітинах РЯ показав, що в

більшості новоутворень вона була позитивною: експресію РЕ виявляли у 56 (70,9%), РП – у 55 (69,6%) пухлинах. При цьому було встановлено прямий кореляційний зв'язок між ІМ РЕ і РП ($r=+0,6$, $p<0,04$). Експресія РЕ в пухлинах яєчника у середньому склала ($29,4\pm 0,8\%$) (при Ме=30%), а РП – ($33,4\pm 0,8\%$) (при Ме=37%). Треба зазначити, що пухлини з низькою експресією РЕ та РП ($<Me$) становили, відповідно, лише 20,3 і 19,0%, тоді як високу експресію обох рецепторів відзначали у більшій кількості пухлин (50,6%).

При зіставленні експресії рецепторів стероїдних гормонів у пухлинних клітинах хворих на серозний РЯ залежно від стадії пухлинного процесу було встановлено, що експресія РЕ в пухлинах хворих на РЯ I–II стадій становила ($30,1\pm 0,5\%$), а РП – ($35,2\pm 0,5\%$). У пухлинах пацієнтів з РЯ III–IV стадій експресія РЕ склала ($29,3\pm 0,4\%$), а РП – ($33,1\pm 0,4\%$).

Отже, ІМ рецепторів естрогенів і прогестерону в пухлинних клітинах яєчника не залежав від стадії пухлинного процесу.

При розподілі хворих за віком і залежно від стану менструальної функції було встановлено зв'язок між цими показниками і кількістю рецепторів стероїдних гормонів у клітинах серозного РЯ. Найвища експресія РЕ визначалась у пухлинних клітинах яєчника хворих віком 21–30 років ($ІМ=(37,5\pm 1,4\%)$). Водночас у хворих на РЯ похилого віку (71–79 років) експресія РЕ в пухлинах зменшувалась ($ІМ=(19,3\pm 0,6\%)$, $p<0,05$, рис. 1).

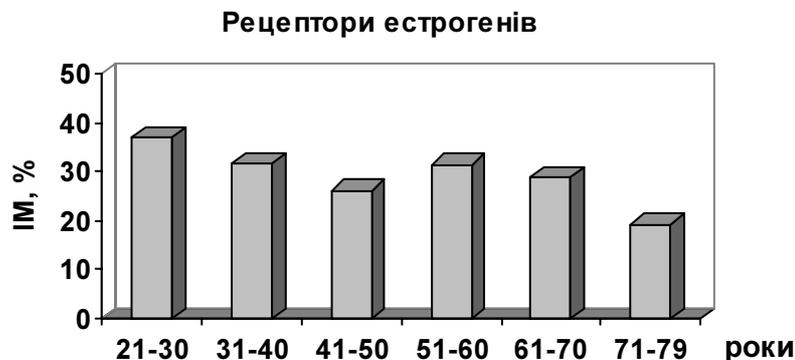


Рис. 1. Експресія РЕ в пухлинах хворих на серозний РЯ залежно від їх віку (n=79).

Розподіл експресії РП у злоякісних пухлинах яєчника хворих різного віку був таким. Найбільша експресія РП ($ІМ=(45,3\pm 1,9\%)$) відмічалась у пухлинах хворих віком від 21 до 30 років, змінюючись у наступні 10-річчя і досягаючи найменших значень у пацієнтів віком 71–79 років ($ІМ=(20,8\pm 0,6\%)$, $p<0,05$, рис. 2).

Отже, кількість рецепторів гормонів (естрогенів і прогестерону) в пухлинах яєчника жінок похилого віку (71–79 років), порівняно з моло-

дими жінками (21–30 років), зменшується більш ніж у 2 рази.

Треба зазначити, що більш ніж половина пухлин (56,5%) хворих менопаузального періоду була низького ступеня диференціювання, тоді як у пацієнтів зі збереженою менструальною функцією низькодиференційовані пухлини спостерігали у 30,3% випадків.

Для оцінки прогностичного значення експресії рецепторів стероїдних гормонів у серозному РЯ хворих зі збереженою менструальною

функцією та менопаузального віку було проведено аналіз 5-річної виживаності хворих

залежно від експресії РР та РЕ в пухлинах за методом Каплана-Майєра.

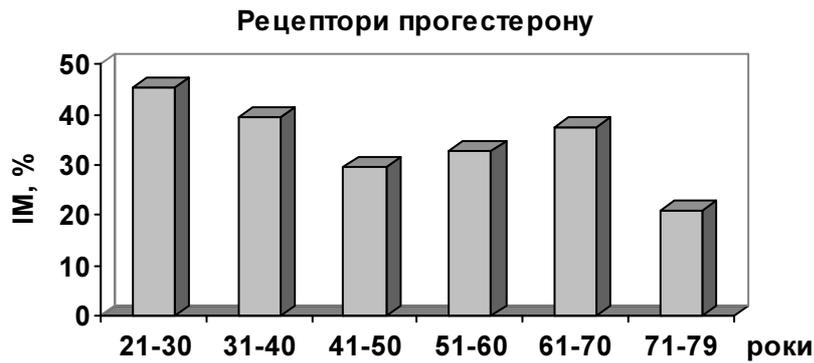


Рис. 2. Експресія РР у пухлинах хворих на серозний РЯ залежно від їх віку (n=79).

Проведене дослідження показало, що у хворих зі збереженою менструальною функцією виживаність може визначитися рівнем експресії рецепторів стероїдних гормонів. Так, у пухлинах з ІМ РЕ та РР більше

Ме загальна 5-річна виживаність складала 61 і 48 % та була вірогідно вищою ($p < 0,05$) порівняно з такою (19 і 15 %) у пацієнток з ІМ РЕ та РР менше Ме (рис. 3).

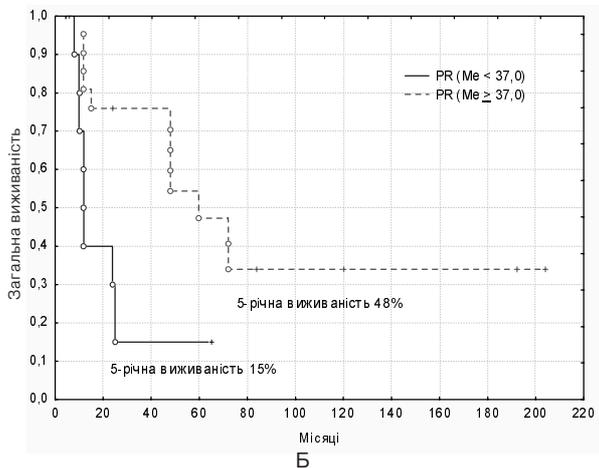
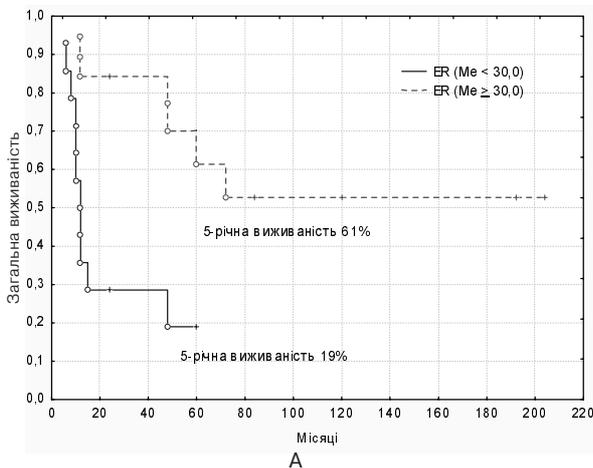


Рис. 3. Криві 5-річної виживаності хворих на РЯ зі збереженою менструальною функцією (метод Каплана-Майєра) залежно від експресії РЕ (А) та РР (Б) у пухлині. Достовірність Cox's F-Test ($p < 0,05$).

У хворих менопаузального періоду вплив експресії стероїдних гормонів на виживаність незначний. Загальна 5-річна виживаність хворих з ІМ РЕ та РР нижче медіани складала 40 і 46 %, а з ІМ РЕ та РР вище медіани – 59 і 60 % відповідно ($p > 0,05$).

експресії рецепторів стероїдних гормонів у пухлинах яєчника від віку, зокрема стану менструальної функції хворих на серозний РЯ, що значною мірою впливає на характер перебігу патологічного процесу. Встановлено, що рецепторний статус у хворих на РЯ зі збереженою менструальною функцією може визначати термін виживаності пацієнтів.

ВИСНОВОК. Проведене дослідження дозволило визначити залежність рівня

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Берштейн Л. М. Современная эндокринология гормонозависимых опухолей / Л. М. Берштейн // *Вопр. онкологии.* – 2002. – **48**, № 4. – С. 496–504.
2. Воробьева Л. И. Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии при лечении больных раком яичника (обзор литературы) / Л. И. Воробьева, В. С. Свинцицкий,

Ю. Г. Ткаля // *Клин. онкология.* – 2013. – № 1. – С. 56–64.

3. Новичков Е. В. Зависимость прогноза рака яичников от экспрессии рецепторов к половым гормонам и пролиферативной активности опухолевых клеток / Е. В. Новичков, А. А. Вотинцев // *Арх. патологии.* – 2006. – № 2. – С. 10–13.

4. Пушкарев В. А. Гормональные факторы в генезе атипической гиперплазии и рака эндометрия в постменопаузе / В. А. Пушкарев, Ш. Х. Ганцев, В. Н. Ручкин // Росс. онколог. журн. – 2005. – № 6. – С. 39–43.

5. Сравнительные особенности гормонально-метаболического статуса у больных с рецепторнегативными новообразованиями молочной железы и эндометрия / Л. М. Берштейн, Е. В. Цырлина, И. Г. Коваленко [и др.] // Вопр. онкологии. – 2003. – 49, № 6. – С. 716–724.

6. Чернышова А. Л. Особенности гормонального фона и рецепции половых гормонов у больных с гиперпластическими процессами и раком эндометрия / А. Л. Чернышова, Л. А. Коломиец, С. Л. Стуканов // Бюлл. сибир. медицины. – 2012. – № 6. – С. 172–177.

7. Expression of the estrogen and progesterone receptors as prognostic factor in serous ovarian cancer / L. G. Buchynska, N. P. Iurchenko, V. M. Grinkevych [et al.] // Experimental Oncology. – 2009. – 31, N1. – P. 48–52.

В. Н. Гринкевич¹, Н. П. Юрченко², Н. Н. Глущенко²
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И РАДИОБИОЛОГИИ
ИМЕНИ Р. Е. КАВЕЦКОГО НАН УКРАИНЫ², КИЕВ

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В СЕРОЗНЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ БОЛЬНЫХ

Резюме

Проведено исследование рецепторов эстрогенов и прогестерона в пределах одного гистологического типа опухоли серозного рака яичника. Определена связь экспрессии исследованных маркеров с клинико-морфологическими особенностями опухолевого процесса, в частности состоянием менструальной функции больных серозным раком яичника. Установлено, что рецепторный статус у больных раком яичника с сохраненной менструальной функцией может определять термин выживаемости больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: серозный рак яичника, молекулярно-биологические маркеры, рецепторы эстрогенов и прогестерона.

V. M. Hrinkevych¹, N. P. Yurchenko², N. M. Hlushchenko²
O. O. BOHOMOLET'S NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY¹, KYIV
R. YE. KAVETSKY INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PATHOLOGY, ONCOLOGY AND RADIOBIOLOGY
OF NAS OF UKRAINE², KYIV

EXPRESSION OF STEROID HORMONE RECEPTORS IN SEROUS OVARIAN CANCER WHICH DEPENDS ON MENSTRUAL FUNCTION OF PATIENTS

Summary

It was conducted the study of estrogen and progesterone receptors in the scope of one histological type of serous ovarian cancer tumor. It was determined the interconnection between expression of markers studied and clinical-morphological particularities of cancer process, in particular with the state of menstrual function of patients with serous ovarian cancer. It was found that receptor status of patients with serous ovarian cancer with preserved menstrual function can determine survival terms of such patients.

KEY WORDS: serous ovarian cancer, molecular-biological markers, estrogens and progesterone receptors.

Отримано 02.07.14

Адреса для листування: В. М. Грінкевич, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, бульвар Тараса Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ ЦИРКАДАННИХ БІОРИТМІВ ПОКАЗНИКІВ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ В СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ ДІЇ НИЗЬКИХ ДОЗ КАДМІЮ ХЛОРИДУ

Проведено дослідження стану про/антиоксидантної системи у статевонезрілих (5–6 тижнів) щурів-самців на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (0,03 мг/кг per os, 30 діб) з аналізом хроноритмологічної організації функції системи. Виявлено підвищення мезору церулоплазміну в плазмі крові та активності глутатіон-S-трансферази в печінці, зменшення мезору активності каталази, зростання амплітуди біоритму показників при відносній сталості мезору окиснювальномодифікованих білків у плазмі крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кадмію хлорид, окиснювальномодифіковані білки, каталаза, церулоплазмін, глутатіон-S-трансфераза, хроноритми, статевонезрілі щури.

ВСТУП. Глобальним забруднювачем навколишнього середовища і виробничої сфери є кадмій та його сполуки [3]. Активація вільнорадикального пероксидного окиснення та окиснювальний стрес, що має місце за дії солей кадмію [4, 6, 14], призводять до зміни активності ферментів, порушень властивостей біомембран і розвитку патологічного процесу. На противагу пошкоджувальній дії вільних радикалів та пероксидних сполук діє антиоксидантна система захисту, яка модифікує вільні радикали, запобігає утворенню пероксидів.

Пріоритетним напрямком сучасної токсикології є віковий аспект проблеми, встановлення критеріїв напруження адаптивно-захисних механізмів у відповідь на дію ксенобіотиків та розробка найбільш чутливих тестів, які сигналізують про зміни в організмі [12]. Вікові особливості перебігу біохімічних процесів досліджено здебільшого за дії високих та смертельних доз токсикантів [1, 10, 13], а не на рівні низьких, підпорогових та порогових, які близькі до реальних умов перебування населення. Чутливим індикатором неблагополуччя, коли ще відсутні морфофункціональні зміни в тканинах, є порушення хронобіологічної організації процесів життєдіяльності [2, 5, 8]. На жаль, біоритмологічним аспектам організації функцій органів і систем, зокрема при проведенні токсикологічних досліджень, приділяють мало уваги. Недостатньо з'ясовано адаптивні метаболічні зміни, що виникають у молодому, ще не цілком сформованому організмі у відповідь на

© В. В. Гордієнко, 2014.

тривале надходження ксенобіотиків у дозах малої інтенсивності. Тому метою даної роботи було з'ясування особливостей циркаданих біоритмів деяких показників про/антиоксидантного гомеостазу в статевонезрілих щурів як відображення механізмів адаптації у відповідь на тривале надходження в організм низьких доз кадмію хлориду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на нелінійних білих статевонезрілих (5–6 тижнів) щурах-самцях з початковою масою 60,0–70,0 г. Тварин утримували в умовах віварію при сталому температурному і світловому режимі (12.00 С:12.00 Т). Інтоксикацію моделювали шляхом щоденного внутрішньошлункового введення кадмію хлориду в дозі 0,03 мг/кг ($3 \cdot 10^{-3} DL_{50}$) упродовж 30 діб. Контрольним тваринам за аналогічних умов вводили розчинник. В обох серіях було по 36–42 тварини, розміщені в окремих клітках по 6–8 у кожній. На 30-ту добу експерименту після знеживлення щурів шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією через кожні 4 год (10.00, 14.00, 18.00, 22.00, 02.00, 06.00) у плазмі крові визначали ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) [11], вміст церулоплазміну (ЦП) [7] та активність каталази (КАТ) [9]. У пост'ядерному супернатанті 5 % гомогенату печінки досліджували активність ферментів антиоксидантного захисту – глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [15] та каталази [9]. При роботі зі щурами дотримувались вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних

та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Результати досліджень обробляли методом косинор-аналізу [5] та методами статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження засвідчили, що щоденне надходження в організм статевонезрілих (СНЗ)

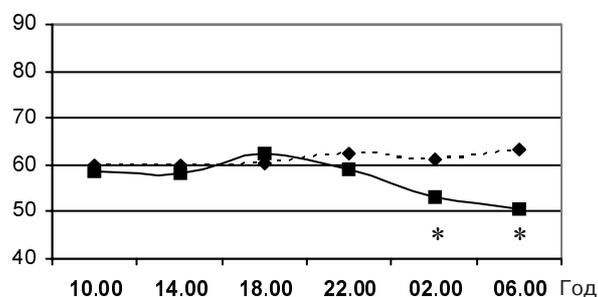
щурів низьких доз кадмію хлориду впродовж 30 діб суттєво не вплинуло на стан прооксидантних процесів в організмі. Середньодобовий рівень (мезор) вмісту ОМБ у плазмі крові не змінився, однак амплітуда коливань біоритму зросла вдвічі (табл.), а також порушилася його архітектоніка: батифаза змістилася з денного часу на нічний (рис. 1).

Таблиця – Вплив кадмію хлориду (0,03 мг/кг, 30 діб) на циркадіанні біоритми показників про/антиоксидантного гомеостазу плазми крові й гомогенату печінки у статевонезрілих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

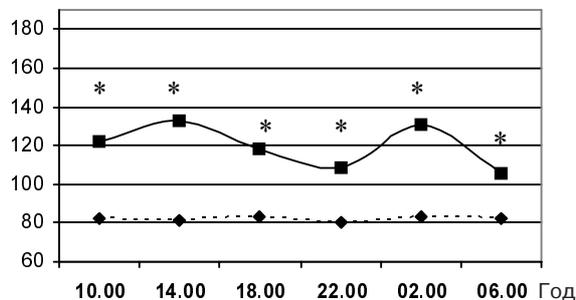
Показник	Мезор	Амплітуда, %	Акрофаза	Мезор	Амплітуда, %	Акрофаза
	контроль (n=42)			кадмію хлорид (n=36)		
Плазма крові						
Вміст окиснювально-модифікованих білків, Σ /г білка	61,20 \pm 1,76	4,80 \pm 1,28	3:42 \pm 2:42	57,1 \pm 2,37	10,8 \pm 1,97 p<0,05	14:51 \pm 0:51
Вміст церулоплазміну, Σ /г білка	82,0 \pm 3,02	6,8 \pm 2,30	4:29 \pm 3:04	119,6 \pm 7,03 p<0,001	7,9 \pm 1,25	10:46 \pm 1:10
Активність каталази, мкмоль/год·мл	1,4 \pm 0,04	5,7 \pm 1,20	9:16 \pm 3:41	1,0 \pm 0,07 p<0,001	18,8 \pm 1,09 p<0,001	2:17 \pm 0:25
Гомогенат печінки						
Активність каталази, ммоль/год·г тканини	192,1 \pm 5,18	4,7 \pm 1,06	5:26 \pm 4:14	178,9 \pm 7,13 p<0,05	7,8 \pm 1,89	23:28 \pm 2:05
Активність глутатіон-S-трансферази, мкмоль/хв·г тканини	28,4 \pm 1,49	5,9 \pm 1,74	5:21 \pm 2:02	32,8 \pm 1,23 p<0,05	27,8 \pm 2,66 p<0,001	23:06 \pm 0:42

Примітка. p – ступінь вірогідності порівняно з контролем.

Вміст ОМБ (Σ /г білка)



Вміст ЦП (Σ /г білка)



Активність КАТ (мкмоль/год·мл)

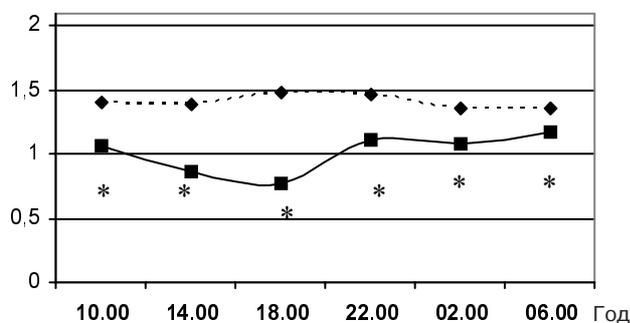


Рис. 1. Добова динаміка хроноритмів показників про/антиоксидантної системи у плазмі крові статевонезрілих щурів на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (—); * – вірогідність різниці порівняно з контролем (-----).

Мезор вмісту одного з основних антиоксидантів крові – церулоплазміну при цьому зріс на 45,9 % (табл.). Хроноритм набув синусоїдної структури з акрофазою біоритму о 14.00 дня і 02.00 ночі (рис. 1). За дії значно вищих доз кадмію хлориду і менш тривалої експозиції дослідники спостерігали, навпаки, зниження рівня ЦП у плазмі крові [13]. Збільшення вмісту ЦП у плазмі крові за умов інтоксикації малими дозами кадмію хлориду може бути результатом активації транскрипції гена, проявом адаптивних процесів для зменшення патологічних змін і підвищення резистентності організму.

Активність КАТ у плазмі крові щурів знизилася. Мезор біоритму склав 71,4 % порівняно з контрольними тваринами, проте амплітуда біоритму зросла в 3,3 раза (табл.). Найменші значення каталазної активності плазми крові спостерігали в денний час з 14.00 до 18.00 (рис. 1). У печінці активність ферменту також знизилася на 6,9 % при зміщенні акрофазы і зростанні амплітуди біоритму (табл.).

Відомо, що структура біоритму характеризує функціональний стан системи [5]. Зміни величин мезору й амплітуди біоритму показників, які ми спостерігали, свідчать про зміни стану про/антиоксидантної системи. Якщо величина мезору є кількісною характеристикою активності ферменту, то амплітуда біоритму – це показник якісний, що характеризує стійкість системи [8]. Чим більший розмах амплітуди відносно мезору, тим активніша реакція організму до адаптації за дії зовнішнього чинника. Зниження мезору активності каталази в організмі тварин і значне зростання амплітуди біоритму, на наш погляд, можуть свідчити про виснаження активності ферменту для нейтралізації продуктів пероксидації у СНЗ тварин за дії кадмію хлориду.

Мезор активності Г-S-T у печінці тварин зріс на 15,5 % (табл.), переважно за рахунок збільшення активності ферменту в нічний час. У період з 22.00 до 06.00 його активність перевищувала рівень контрольних тварин в 1,3 раза з акрофазою біоритму о 02.00 год ночі (рис. 2), амплітуда біоритму зросла в 4,7 раза (табл.).

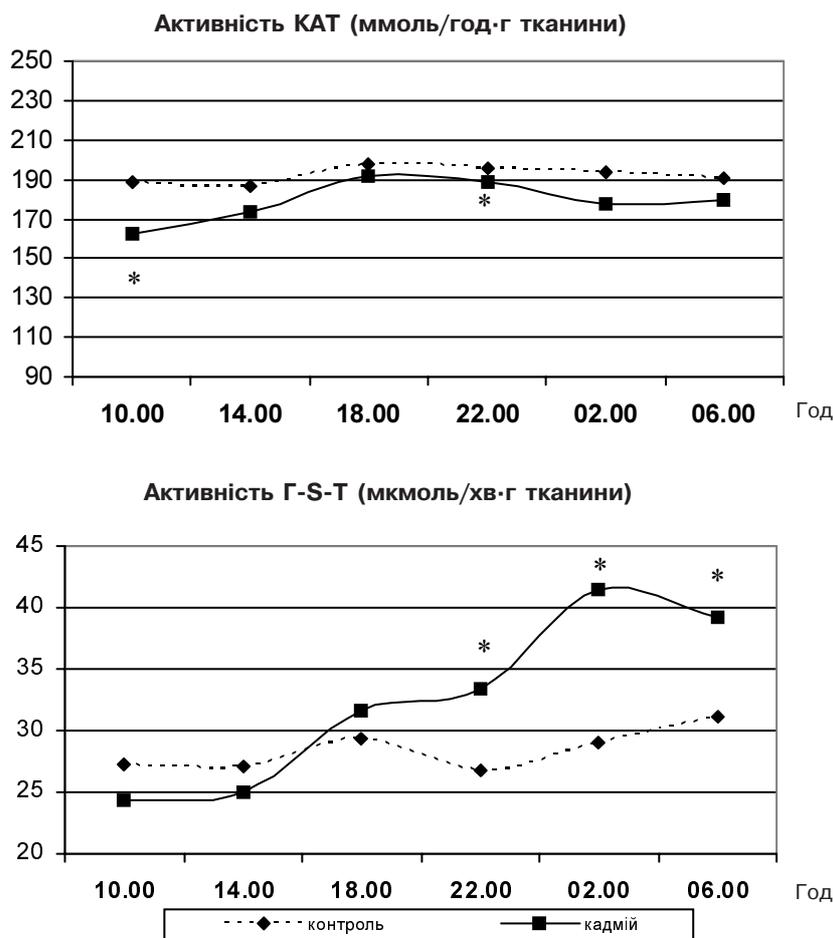


Рис. 2. Хронограма добової активності КАТ і Г-S-T у гомогенатах печінки статевонезрілих щурів на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (* – вірогідність різниці показників порівняно з контролем).

Таким чином, тривале надходження в організм СНЗ щурів низьких доз кадмію хлориду суттєво не впливає на рівень ОМБ у плазмі крові, проте активує захисні реакції в печінці, при цьому підвищується рівень ЦП у плазмі крові, який синтезується в печінці, та Г-S-T. Поряд із цим, тривале введення низьких доз токсиканту зменшує (виснажує) активність недостатньої зрілості ферменту каталази для знешкодження пероксиду водню як у плазмі крові, так і в печінці.

Порівнюючи отримані нами дані з результатами інших дослідників [1, 4, 6, 10, 13], які вивчали показники про/антиоксидантної рівноваги в динаміці, вводячи кадмію хлорид тваринам одноразово або менш тривалий час, у подальшому, враховуючи здатність токсиканту до кумуляції [3] і недостатню зрілість фермент-

них систем СНЗ тварин, доцільно провести аналогічні дослідження через певні проміжки часу після закінчення затравки тварин кадмію хлоридом у дозах малої інтенсивності.

ВИСНОВКИ. 1. При тривалому (30 діб) надходженні в організм статевонезрілих тварин низьких доз кадмію хлориду (0,03 мг/кг) активується система антиоксидантного захисту, що забезпечує зменшення прооксидантних чинників в організмі.

2. Збільшення амплітуди, зміни фазової структури циркадіанного біоритму, зростання мезору ферментів антиоксидантного захисту (церулоплазмін, глутатіон-S-трансфераза) свідчать про адаптаційно-компенсаторну реакцію організму на тривале надходження низьких доз токсиканту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гонський Я. І. Особливості окиснювальної модифікації білків у тварин різних вікових груп при кадмієвій інтоксикації / Я. І. Гонський, С. О. Ястремська // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 63–64.
2. Гордієнко В. В. Вікові особливості хроноритмів екскреторної функції нирок у щурів за тривалої дії малих доз кадмію хлориду / В. В. Гордієнко // Буковин. мед. вісник. – 2006. – **10**, № 4. – С. 28–32.
3. Екотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин / Г. Л. Антоняк, А. Є. Панас, Ю. В. Жилищич, П. П. Білецька // Мед. хімія. – 2007. – **9**, № 3. – С. 112–119.
4. Ерстенюк Г. М. Окислювальні модифікації білків і ліпідів за умов кадміозу та корекція їх унітіолом / Г. М. Ерстенюк // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 4. – С. 70–72.
5. Емельянов И. П. Структура биологических ритмов в процессе адаптации / И. П. Емельянов. – Новосибирск : Наука, 1986. – 182 с.
6. Кирилів М. В. Оксидативний стрес у білих щурів за умов токсичного впливу іонів кадмію / М. В. Кирилів // Мед. хімія. – 2013. – **15**, № 4 (57). – С. 74–77.
7. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 290 с.
8. Комаров Ф. И. Хронобиология и хрономедицина / Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт. – М. : Триад Х, 2000. – 488 с.
9. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Матолінець О. М. Вікові особливості антиоксидантної системи у тварин з кадмієвим токсикозом / О. М. Матолінець // Мед. хімія. – 2000. – **2**, № 1. – С. 44–48.
11. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.
12. Нариси вікової токсикології / за ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – 256 с.
13. Развитие адаптационных механизмов у самок белых крыс в ответ на воздействие ионов кадмия / Е. В. Степанова, О. В. Слюзова, А. Б. Бучарская [и др.] // Токсикол. вестник. – 2008. – № 3. – С. 23–27.
14. Baker I. R. Relationships between nonoccupational cadmium exposure and expression of nine cytochrome P450 forms in human liver and kidney cortex samples / I. R. Baker, S. Satarug, P. E. Reilly // Biochem. Pharmacol. – 2001. – **6**. – P. 713–721.
15. Habig H. W. Glutathione-S-Transferases / H. W. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jacoby // J. Biol. Chem. – 1974. – **249**, N 22. – P. 7130–7139.

ОСОБЕННОСТИ ЦИРКАДИАНЫХ БИОРИТМОВ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ КАДМИЯ ХЛОРИДА

Резюме

Проведено исследование состояния про/антиоксидантной системы у неполовозрелых (5–6 недель) крыс-самцов на фоне длительного воздействия малых доз кадмия хлорида (0,03 мг/кг per os, 30 суток) с анализом хроноритмологической организации функции системы. Выявлено повышение мезора церулоплазмينا в плазме крови и активности глутатион-S-трансферазы в печени, увеличение амплитуды биоритма и уменьшение мезора активности каталазы в плазме крови и печени при неизменном уровне мезора окислительномодифицированных белков в плазме крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмия хлорид, окислительномодифицированные белки, каталаза, церулоплазмин, глутатион-S-трансфераза, хроноритмы, половозрелые крысы.

V. V. Hordiyenko
BUKOVYNA STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

PECULIARITIES OF CIRCADIANIAN BIORHYTHMS OF PRO/ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS INDECES IN PREADOLESCENT RATS BY THE INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE IN SMALL DOSAGES FOR A LONG TIME

Summary

The condition of pro/antioxidant system in preadolescent (5–6 weeks) male rats has been investigated against the back-ground of cadmium chloride influence (0.03 mg/kg per os, 30 days) for a long period of time with the analysis of chronorhythmologic organization of the system function. The rise of the mezor of ceruloplasmin in the blood plasma and glutathione-S-transferase activity in the liver, reduction of the mezor of catalase in the blood plasma and liver, the increase of the amplitude in biorhythms indeces against the background of relative stability of the mezor of oxidemodified proteins in the blood plasma have been established.

KEY WORDS: cadmium chloride, oxidemodified proteins, catalase, ceruloplasmin, glutathione-S-transferase, chronorhythms, preadolescent rats.

Отримано 29.07.14

Адреса для листування: В. В. Гордієнко, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ МОДЕЛЯМИ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМУ

В експерименті на щурах з різними моделями гепатопульмонального синдрому досліджено зміни біохімічних показників функціонального стану печінки в плазмі крові. Результати проведеного дослідження вказують на виражене порушення функціонального стану печінки, що проявилось зменшенням вмісту альбуміну та сечовини у плазмі крові, підвищенням активності трансаміназ, порушенням коефіцієнта Рітиса та зростанням активності лужної фосфатази. Встановлено, що інтенсивність патологічних змін є більш вираженою при моделюванні гепатопульмонального синдрому шляхом введення тетрахлорметану.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гепатопульмональний синдром, печінка, функціональний стан.

ВСТУП. Серед проблем сучасної медицини важливе місце посідає хронічна гепатобіліарна патологія [2]. Високий рівень захворюваності, стійка втрата працездатності та інвалідизація серед осіб працездатного віку, погіршення якості життя хворих, зростання смертності від ускладнень зумовлюють соціально значущу медичну проблему [5].

Розвиток клінічно значущих форм хронічної гепатобіліарної патології часто пов'язаний із нераціональним способом життя, шкідливими звичками, особливо зі зловживанням алкоголем. Не простежується тенденція і щодо стабілізації темпів поширення хронічних вірусних гепатитів. Лише за останні кілька років захворюваність на вірусні гепатити В та С зросла у кілька разів і, за прогнозами вчених, збільшуватиметься [3]. За даними ВООЗ, число носіїв вірусного гепатиту В досягає 350–500 млн, а людей, в яких виявлено маркери гепатиту С, – понад 1 млрд. Гострий гепатит В переходить у хронічну форму в 5–10 % випадків, гепатит С – у 75–85 % [1].

В Україні питома вага хронічних гепатитів і цирозу печінки в загальній структурі хвороб органів травлення у 2010 р. становила 5,7 % та й на сьогодні неухильно зростає. У 2012 р. спостерігали зниження показників поширеності хронічних гепатитів, порівняно з 2010 р., на 17,3 % та захворюваності на хронічні гепатити

на 27,2 %, цироз печінки – на 3,9 %, що пов'язано не з покращенням стану здоров'я населення, а зі зменшенням кількості звернень за медичною допомогою. Особливе занепокоєння викликає зростання смертності від цих патологій [5].

Одним із небезпечних ускладнень цирозу печінки є гепатопульмональний синдром (ГПС). Для нього характерна клінічна триада: захворювання печінки; розширення внутрішньолегевих судин; порушення газообміну в артеріальній крові. Поширеність ГПС, за даними різних авторів [8, 11], складає 4–47 % у хворих на цироз печінки. Прогноз для пацієнтів із ГПС не сприятливий: смертність складає 50 % протягом 2–3 років [9]. Тому ми вважали доцільним проаналізувати особливості функціонального стану печінки при ГПС, що сприятиме поглибленню розуміння суті даного патологічного процесу та дасть можливість патогенетично обґрунтувати нові напрямки терапії.

Метою даної роботи було дослідити основні зміни показників функціонального стану печінки в щурів з різними моделями гепатопульмонального синдрому.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 56 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. У процесі моделювання патології 8 тварин загинуло. Першу експериментальну модель гепатопульмонального синдрому ми

© І. Я. Криницька, І. М. Кліщ, М. І. Куліцька, 2014.

створювали шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчну протоку і подальшого її пересічення скальпелем [6]. Тварин анестезували, ввівши їм внутрішньочеревно тіопентал натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Виконавши розріз під мечоподібним відростком, загальну жовчну протоку відділяли від розташованих поруч тканин, накладали подвійну лігатуру, вище і нижче місця запланованого перетину. Потім загальну жовчну протоку пересікали скальпелем. У тварин контрольної групи № 1 загальну жовчну протоку відділили від тканин, але не пересікали. Післяопераційну рану пошарово наглухо зашивали. На 31-шу добу після операції тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Другу експериментальну модель ГПС було створено шляхом 8-тижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину CCl_4 (400 г на 1 л) у дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварини в перший день експерименту, 0,3 мл на 100 г на третій день експерименту і далі кожного третього дня до закінчення експерименту 0,3 мл на 100 г. Додатково в раціон щурів було введено суміш кукурудзяної муки, смальцю і холестеролу та розчин алкоголю. Контрольна група тварин № 2 перебувала на стандартному раціоні віварію та отримувала внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [10].

Утримували щурів та проводили експерименти на них відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тва-

рин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [7].

Функціональний стан печінки оцінювали за вмістом альбуміну, сечовини; активністю аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) у плазмі крові. Біохімічні дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі "MALYZER 2000" ("Human", Німеччина).

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Вірогідність розбіжностей між досліджуваними показниками визначали за допомогою двовибіркового критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Основні біохімічні показники функціонального стану печінки у щурів з різними моделями гепатопульмонального синдрому наведено в таблиці.

Встановлено виражене зменшення концентрації альбуміну в плазмі крові тварин обох дослідних груп. Так, даний показник у щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки вірогідно зменшився в 1,5 раза відносно контрольної групи № 1. У тварин із тетрахлорметаніндукованим цирозом концентрація альбуміну в плазмі крові вірогідно знизилася у 2 рази щодо контрольної групи № 2.

Таблиця – Показники функціонального стану печінки щурів зі змодельованим гепатопульмональним синдромом (M±m)

Показник	Досліджувана група			
	контрольна група № 1 (n=12)	дослідна група № 1 (n=12)	контрольна група № 2 (n=12)	дослідна група № 2 (n=12)
Альбумін, г/л	44,33±1,21	29,08±0,99 $p_1 < 0,05$	42,80±1,02	20,96±1,03 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
АсАТ, Од/л	62,78±2,26	454,31±22,52 $p_1 < 0,05$	61,15±2,64	644,93±16,61 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
АлАТ, Од/л	49,25±2,06	236,25± 11,41 $p_1 < 0,05$	47,93±1,77	621,80±21,44 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
АсАТ/АлАТ	1,30±0,07	1,95±0,11 $p_1 < 0,05$	1,28±0,05	1,05±0,04 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Лужна фосфатаза, Од/л	86,16±3,44	421,68±17,59 $p_1 < 0,05$	87,40±3,63	287,38±10,29 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Сечовина, ммоль/л	6,45±0,13	2,90±0,12 $p_1 < 0,05$	6,58±0,17	2,68±0,13 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$

Примітки:

1. p_1 – вірогідність відмінностей між контрольною і дослідною групами.
2. p_2 – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

При зіставленні даного показника у тварин обох дослідних груп встановлено його переважання на 38,7 % у щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки.

Склад білків крові організму змінюється залежно від функціонального стану. Альбуміни становлять найбільшу частину білків крові, відіграють важливу роль у підтримці онкотичного тиску крові, беруть участь у транспорті багатьох біологічних речовин: вуглеводів, ліпідів, окремих гормонів, а також мікроелементів (мідь, цинк, магній тощо).

Вміст альбуміну крові є показником білок-синтетичної функції печінки. Зменшення концентрації альбуміну в плазмі крові тварин обох дослідних груп свідчить про пригнічення білок-синтетичної функції печінки внаслідок ураження гепатоцитів за умови гепатопульмонального синдрому. Крім того, помірне зниження рівня альбумінів є ознакою хронічного патологічного процесу в печінці [4].

Активність аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази плазми крові також виражено змінювалася у тварин з обома моделями ГПС.

У щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки активність АсАТ вірогідно зросла у 7,2 раза, а АлАТ – у 4,8 раза відносно контрольної групи № 1. У тварин із тетрахлорметаніндукованим цирозом активність АсАТ збільшувалася в 10,5 раза, а АлАТ – у 13 разів щодо контрольної групи № 2. Відповідно до цього, змінювалось і співвідношення АсАТ/АлАТ (коефіцієнт Рітиса). У щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки даний показник вірогідно зростав на 51,2 % відносно контрольної групи № 1. У тварин із тетрахлорметаніндукованим цирозом

коефіцієнт Рітиса вірогідно зменшився на 18 % щодо контрольної групи № 2.

Результати досліджень активності цитозольних ферментів (АлАТ та АсАТ) у плазмі крові вказують на порушення структури і функцій клітинних мембран. Як відомо, пошкодження плазматичних мембран призводить до виходу ферментів із цитозоля, і їх вміст свідчить про ступінь пошкодження мембран, що впливає на синдром ендогенної інтоксикації.

Щодо активності лужної фосфатази – біохімічного маркера холестазу, то даний показник також зазнав вірогідних змін у тварин обох експериментальних груп. У щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки активність лужної фосфатази збільшилася у 4,9 раза відносно контрольної групи № 1. У тварин із тетрахлорметаніндукованим цирозом даний показник зріс у 3,3 раза щодо контрольної групи № 2.

При зіставленні даного показника у тварин обох експериментальних груп встановлено його переважання на 46,7 % у щурів на 31-шу добу після пересікання загальної жовчної протоки.

ВИСНОВКИ. 1. У щурів зі змодельованим гепатопульмональним синдромом, поряд з морфологічною перебудовою, встановлено виражене порушення функціонального стану печінки, що проявилось зменшенням вмісту альбуміну та сечовини у плазмі крові, підвищенням активності трансаміназ і лужної фосфатази.

2. Інтенсивність патологічних змін є більш вираженою при моделюванні гепатопульмонального синдрому шляхом введення тетрахлорметану.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вірусні гепатити і рак печінки / М. А. Андрейчин, В. І. Дрижак, О. В. Рябоконт, В. С. Копча. – Тернопіль : ТДМУ, 2010. – 187 с.
2. Клініко-генетичні дослідження випадків хронічної печінкової патології з ризиком розвитку спадкового гемохроматозу / З. В. Осадчук, Г. Р. Акоюн, О. Б. Білевич [та ін.] // Суч. гастроентерологія. – 2011. – № 4 (60). – С. 20–25.
3. Стародуб Є. М. Клініко-імунологічні аспекти алкогольного та вірусно-алкогольного цирозу печінки / Є. М. Стародуб, О. Є. Самогальська, Т. Б. Лазарчук // Суч. гастроентерологія. – 2008. – № 6 (44). – С. 27–31.

4. Степанець І. Білковий склад сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації / І. Степанець, О. Моргаєнко, Л. Остапченко // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2013. – Вип. 61. – С. 30–36.
5. Степанов Ю. М. Оцінка ефективності корекції запальних та фібротичних процесів у хворих на хронічний вірусний гепатит С / Ю. М. Степанов, С. Л. Меланіч, Л. Я. Мельниченко // Гастроентерологія. – 2013. – № 3 (49). – С. 88–94.
6. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / М. В. Fallon, G. A. Abrams,

J. W. McGrath [et al.] // Am. J. Physiol. – 1997. – 272. – P. 779–784.

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

8. Frequency of hepatopulmonary syndrome in cirrhotic patients / M. Shafiq, A. A. Khan, A. Alam [et al.] // J. Coll. Physicians Surg. Pak. – 2008. – 18. – P. 278–281.

9. Hamada M. Hepatopulmonary syndrome in a patient with primary biliary cirrhosis / M. Hamada // Internal. Medicine. – 2004. – 43 (6). – P. 458–460.

10. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Zhong-Fu Zhao [et al.] // World J. Gastroenterology. – 2007. – 13 (25). – P. 3500–3507.

11. Zhang Zhao-Jie Progress in investigation the pathogenesis of hepatopulmonary syndrome / Zhao-Jie Zhang, Chang-Qing Yang // Hepatobiliary Pancreat. Dis. INT. – 2010. – 9 (4). – P. 355–360.

И. Я. Криницькая, И. Н. Клищ, М. И. Кулицкая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС С РАЗНЫМИ МОДЕЛЯМИ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМА

Резюме

В эксперименте на крысах с различными моделями гепатопульмонального синдрома исследовано изменения биохимических показателей функционального состояния печени в плазме крови. Результаты проведенного исследования указывают на выраженное нарушение функционального состояния печени, что проявилось уменьшением содержания альбумина и мочевины в плазме крови, повышением активности трансаминаз, нарушением коэффициента Ритиса и возрастанием активности щелочной фосфатазы. Установлено, что интенсивность патологических изменений является более выраженной при моделировании гепатопульмонального синдрома путем введения тетрахлорметана.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гепатопульмональный синдром, печень, функциональное состояние.

I. Ya. Krynytska, I. M. Klishch, M. I. Kulitska

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF BIOCHEMICAL INDICES OF THE LIVER FUNCTIONAL STATE IN RATS WITH DIFFERENT MODELS OF HEPATOPULMONARY SYNDROME

Summary

In an experiment on rats with different models of hepatopulmonary syndrome changes in biochemical indicators of the functional state of the liver in blood plasma were studied. Results of the study showed a marked violation of the functional state of the liver, which was demonstrated by a decrease in albumin and urea content in blood plasma, increased activity of transaminases, violation of Ritis coefficient and increased activity of alkaline phosphatase. It was established that the intensity of pathological changes is more pronounced in case of hepatopulmonary syndrome modeling by administering of carbon tetrachloride.

KEY WORDS: hepatopulmonary syndrome, liver, functional state.

Отримано 04.07.14

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

МЕХАНІЗМИ ПРОГРЕСУВАННЯ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У ВАГІТНИХ ЖІНОК З ОЖИРІННЯМ

Мета роботи – вивчення механізмів прогресування інсулінорезистентності у вагітних жінок з ожирінням різного ступеня.

У прогресуванні інсулінорезистентності у вагітних жінок з різним ступенем ожиріння провідну роль відіграють “ендоплазматичний стрес”, макрофагальна інфільтрація жирової тканини, підвищена продукція прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6) та лептину, які ініціюють розвиток системного запалення з уповільненим перебігом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ожиріння, вагітність, інсулінорезистентність, інтерлейкіни, системне запалення.

ВСТУП. Ожиріння – одне з найбільш розповсюджених соціально значущих захворювань, яке є фактором ризику акушерських та перинатальних ускладнень: невиношування вагітності, гестози, фетоплацентарна недостатність, затримка внутрішньоутробного розвитку плода, порушення контрактильної здатності матки та інші [4, 12, 15].

Ініціальним механізмом розвитку ускладнень при ожирінні, на думку більшості дослідників, є інсулінорезистентність – зниження чутливості клітин до інсуліну [6, 18]. Екзогенними факторами, які спричиняють розвиток інсулінорезистентності, є надмірне харчування та малорухливий спосіб життя.

Фізіологічна інсулінорезистентність характерна для перебігу вагітності у жінок з нормальною масою тіла. Вона направлена на адекватне забезпечення інтенсивного росту плода, який на три порядки вищий, ніж інтенсивність росту тканин матері (матка, молочні залози) [3]. Перша половина вагітності супроводжується збільшенням утилізації глюкози, а в ІІІ триместрі у плода спостерігається накопичення жиру [8]. В осіб з ожирінням β -клітини секретують підвищену кількість проінсуліну, реакція на введення інсуліну знижена, а підшлункова залоза реагує гіпертрофією острівців Лангерганса [2].

Мета даної роботи – вивчення біохімічних механізмів прогресування розвитку інсулінорезистентності у вагітних з ожирінням різного ступеня.

© К. В. Тарасенко, 2014.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням перебувало 122 вагітних жінки з ожирінням різного ступеня, віком від 18 до 36 років, терміном вагітності 9–12 тижнів, із яких першу групу склали 43 вагітних з ожирінням І ступеня, другу групу – 35 вагітних з ожирінням ІІ ступеня та третю групу – 10 вагітних з ожирінням ІІІ ступеня. Контрольна група включала 34 жінок з фізіологічною масою тіла аналогічного віку та терміну вагітності. Ступінь ожиріння вагітних оцінювали за методом Н. С. Луценко [7].

Обстежені жінки дали інформовану згоду на проведення клініко-біохімічних досліджень. Проби крові для досліджень забирали з ліктьової вени вранці натщесерце. Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням стандартного набору “Insulin Elisa” (Німеччина), вміст глюкози – глюкозооксидазним методом. Наявність інсулінорезистентності оцінювали за індексом CARO, який розраховували за формулою: Індекс CARO = Глюкоза (ммоль/л) / Інсулін (мкОд/мл).

Системне запалення оцінювали за рівнем цитокінів – ІЛ-1 β , ІЛ-6, а також високочутливого С-реактивного білка (вчСРБ), які визначали імуноферментним методом за допомогою тест-системи (ЗАТ “Вектор-Бест”, Росія) та CRPELISA (DRG, США) відповідно.

Обробку матеріалів досліджень проводили з використанням комп’ютерної програми Statistica 6,0 (StatSoft, США) та методом варіаційної статистики з використанням t-критерію

Стьюдента. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що інсулінорезистентність у вагітних з ожирінням прогресує з підвищенням маси тіла та ступеня ожиріння (таблиця). Так, індекс CARO у вагітних з ожирінням I ступеня становив 82,9 %, при ожирінні II ступеня – 41,4 %

порівняно з контрольною групою вагітних (з нормальною масою тіла). Це означає, що зі збільшенням інсулінорезистентності відповідно зменшується надходження в клітини глюкози з участю транспортних систем GLUT-4. За цих умов виникає компенсаторна гіперінсулінемія як прояв активації функції підшлункової залози у вагітних залежно від ступеня ожиріння (таблиця).

Таблиця – **Метаболічні показники у вагітних жінок залежно від ступеня ожиріння (M±m)**

Показник	Контрольна група	Основна група		
		ожиріння I ступеня	ожиріння II ступеня	ожиріння III ступеня
Маса тіла, кг	61,32±1,99	86,45±1,98*	95,38±2,37*	104,75±3,30*
Інсулін, мкОД/мл	13,97±2,02	21,99±5,45	38,90±10,72	23,85±4,11
Глюкоза, ммоль/л	4,19±0,07	4,32±0,10	4,40±0,11	4,68±0,28
Індекс CARO, ум. од.	0,41±0,04	0,34±0,04	0,17±0,03*	0,31±0,07
Інтерлейкін-1β, пг/мл	8,37±1,38	14,71±1,97*	18,39±4,31*	11,78±3,11
Інтерлейкін-6, пг/мл	8,91±1,47	15,70±2,68*	18,49±2,26*	4,48±0,28*
вЧСРБ, мг/л	7,58±0,97	10,93±0,68*	14,0±0,96*	14,12±1,79*

Примітка. * – достовірність різниці з контрольною групою ($p < 0,05$).

Ожиріння характеризується надмірним накопиченням в адипоцитах ліпідних вакуолей великих розмірів [11], що порушує функцію всіх органел, особливо ендоплазматичного ретикулума, та сприяє формуванню “ендоплазматичного стресу”, незавершеного фолдинга – синтезу білків з порушеною просторовою формою, що знижує їх біологічну активність. Ожиріння асоціюється з макрофагальною інфільтрацією жирової тканини [19]. У відповідь на утворення нефізіологічних протейнів клітини імунної системи продукують цитокіни – первинні медіатори системного запалення [13, 16]. Про запуск системного запалення з уповільненим перебігом при ожирінні свідчать підвищена продукція цитокінів та ініціація синтезу білків гострої фази – вторинних медіаторів системного запалення, зокрема С-реактивного білка.

За нашими даними, у вагітних з ожирінням вміст прозапальних цитокінів – ІЛ-1β та ІЛ-6 зростає зі збільшенням маси тіла, досягаючи максимальних значень у жінок з ожирінням II ступеня (таблиця). Доведено, що порушення продукції цитокінів та надмірна запальна відповідь можуть бути причиною переривання вагітності в ранні терміни [14, 17].

Про розвиток системного запалення з уповільненим перебігом у вагітних з ожирінням свідчить паралелізм змін вмісту ІЛ-1β, ІЛ-6 та вЧСРБ в сироватці крові залежно від ступеня ожиріння (таблиця).

Системне запалення вважають одним із важливих механізмів розвитку “хвороб цивілізації” [5].

Суттєвий внесок у розвиток інсулінорезистентності робить гуморальний медіатор лептин, який відіграє роль ліпостата шляхом зменшення відчуття голоду та зниження апетиту [13]. Раніше було показано, що ожиріння у вагітних супроводжується підвищенням продукції лептину та розвитком лептинорезистентності [10]. Дослідження *in vitro* свідчать про те, що лептин сприяє утворенню цитотоксичного пероксинітриту [1], який викликає розвиток “нітрозативного стресу”, що включає мітохондріальну дисфункцію та індукцію апоптозу [9].

Таким чином, механізми прогресування інсулінорезистентності у вагітних з ожирінням досить складні. Провідну роль у формуванні інсулінорезистентності у вагітних з різним ступенем ожиріння відіграють “ендоплазматичний стрес”, макрофагальна інфільтрація жирової тканини, підвищена продукція прозапальних цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-6) та лептину, які ініціюють розвиток системного запалення з уповільненим перебігом.

ВИСНОВКИ. 1. Підсилення інсулінорезистентності та гіперінсулінемія у вагітних жінок залежать від ступеня ожиріння.

2. Прогресування інсулінорезистентності у вагітних з ожирінням реалізують такі механізми: надмірне накопичення тригліцеридів в адипоцитах, що ініціює підвищення продукції прозапальних цитокінів, розвиток системного запалення з уповільненим перебігом, а також лептинорезистентність.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив лептину на утворення NO, O₂⁻ і ONOO⁻ в ендотеліальних клітинах / М. М. Корда, Т. Я. Ярошенко, С. М. Самборська, І. В. Корда // Мед. хімія. – 2009. – **11**, № 3. – С. 13–17.
2. Генес С. Г. Тучність і функції β-клеток інсулярного апарату піджелудочної залози / С. Г. Генес // Клин. медицина. – 1974. – № 7. – С. 25–32.
3. Гордюнина С. В. Інсулінорезистентність і метаболізм: її роль при фізіологічній вагітності і гестозі / С. В. Гордюнина // Терапевт. арх. – 2008. – № 11. – С. 85–89.
4. Диндар О. А. Особливості перебігу вагітності, пологів та стану новонароджених у жінок з метаболічним синдромом / О. А. Диндар // Семейная медицина. – 2014. – № 2(52). – С. 150–153.
5. Кайдашев І. П. Изменение образа жизни, нарушение энергетического метаболизма и системное воспаление как фактор развития болезней цивилизации / И. П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 5 (97). – С. 103–108.
6. Коваленко В. Н. Проблемы диагностики и ведения больных с метаболическим синдромом / В. Н. Коваленко, Е. Г. Несукай, А. Ю. Яковенко // Укр. кардіол. журн. – 2006. – № 4. – С. 98–105.
7. Луценко Н. С. Беременность и роды у женщин с ожирением / Н. С. Луценко. – К.: Здоров'я, 1986. – 112 с.
8. Оркодашвили Л. Ш. Сахарный диабет и беременность / Л. Ш. Оркодашвили, В. В. Потин, Н. Г. Кошелева // Пробл. эндокринологии. – 1987. – **33**, № 2. – С. 82–87.
9. Ставнійчук Р. В. Діабетична нейропатія / Р. В. Ставнійчук, Т. М. Кучмеровська // Ендокринологія. – 2014. – **19**, № 2. – С. 156–166.
10. Тарасенко К. В. Вклад лептина в развитие инсулинорезистентности у беременных с ожирением / К. В. Тарасенко // Медицинские новости Грузии. – 2014. – № 3(228). – С. 59–63.
11. Татонь Я. Ожирение: патофизиология, диагностика, лечение / Я. Татонь. – Варшава: Польское мед. издательство, 1981. – 363 с.
12. Тимошина И. В. Влияние ожирения на формирование акушерских осложнений / И. В. Тимошина, Л. М. Комиссарова, В. А. Бурлев // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 6. – С. 3–5.
13. Титов В. Н. Лептин и адипонектин в патогенезе метаболического синдрома / В. Н. Титов // Клин. медицина. – 2014. – № 4. – С. 20–30.
14. Трофимович О. В. Особливості цитокінового статусу жінок із ранніми втратами вагітності / О. В. Трофимович // Здоровье женщины. – 2014. – № 2(88). – С. 101–103.
15. Шелестова Л. П. Вагітність і пологи у жінок з аліментарно-конституційним ожирінням (патогенез, профілактика та лікування акушерських і перинатальних ускладнень): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / Л. П. Шелестова; Нац. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П. Л. Шупика. – К.: [б.в.], 2012. – 40 с.
16. Якобисяк М. Імунологія (переклад з польської за ред. проф. В. В. Чоп'як). – Вінниця: Нова книга, 2004. – 672 с.
17. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site / G. Mor, J. Candenas, V. Abrahams, S. Guller // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2011. – **1221**. – P. 80–87.
18. Matsusava Y. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism / Y. Matsusava, T. Funahashi, T. Nakamura // J. Atheroscler. Thromb. – 2011, **18**. – P. 629–639.
19. Weisberg S. P. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue / S. P. Weisberg, D. Mc Cann, M. Desai [et al.] // J. Clin. Invest. – 2003. – **112**. – P. 1796–1808.

К. В. Тарасенко

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ

Резюме

Цель работы – изучение механизмов прогрессирования инсулинорезистентности у беременных женщин с ожирением разной степени.

В прогрессировании инсулинорезистентности у беременных женщин с ожирением разной степени ведущую роль играют “эндоплазматический стресс”, макрофагальная инфильтрация жировой ткани, повышенная продукция провоспалительных цитокинов и лептина, которые инициируют развитие системного воспаления с замедленным течением.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожирение, беременность, инсулинорезистентность, интерлейкины, системное воспаление.

MECHANISMS OF INSULIN RESISTANCE PROGRESSION IN PREGNANT WOMEN WITH OBESITY

Summary

The aim of the present study is to research mechanisms of insulin resistance progression in pregnant women of different obesity classes.

An excessive accumulation of large lipid vacuoles initiating "endoplasmic stress", a macrophagal infiltration of the adipose tissue and an increased production of proinflammatory interleukins (IL-1 β , IL-6) together with slow systemic inflammation and development of leptin resistance greatly contribute to insulin resistance progression in pregnant women with obesity.

KEY WORDS: obesity, pregnancy, insulin resistance, interleukins, systemic inflammation.

Отримано 10.07.14

Адреса для листування: *К. В. Тарасенко, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36023, Україна.*

**ВПЛИВ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ЗМІШАНОЇ ДІЄТИ НА ВИРАЗКОВЕ
УШКОДЖЕННЯ ШЛУНКА ТА ІНКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПІДШЛУНКОВОЇ
ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ**

Мета дослідження – вивчення в експерименті механізмів ушкодження тканин шлунка і підшлункової залози при іммобілізаційному стресі на тлі висококалорійної дієти. Експерименти виконані на 34 статевозрілих щурах-самцях, яких рандомізували на чотири підгрупи: перша – інтактні, друга – іммобілізаційний стрес на тлі стандартного харчування, третя – висококалорійна дієта протягом 9 тижнів, четверта – поєднаний вплив іммобілізаційного стресу та висококалорійної дієти. Стресостійкість тварин оцінювали на підставі ульцерогенного впливу (частота і множинність виразок шлунка), вмісту перекису водню в цільній крові й ТБК-реактивів, рівня інсуліну та глюкози в сироватці крові. Доведено, що висококалорійна дієта здійснює стресіндукуючий вплив: підвищує ульцерогенний ефект на шлунок, інтенсивність окиснювального стресу, гальмує інкреторну функцію підшлункової залози та загалом знижує стресостійкість організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: іммобілізаційний стрес, виразки шлунка, інсулін, перекис водню.

ВСТУП. Сучасні умови життя людей пов'язані з реалізацією впливу психоемоційного напруження, що сприяє розвитку психосоматичної патології [4].

Універсальним механізмом розвитку ушкоджень тканин стресогенної природи вважають окиснювальний стрес [5, 7, 13]. Механізми розвитку ульцерогенного ефекту емоційного стресу достатньо досліджені [9]. Серед органів системи травлення високою чутливістю до стресорних чинників відзначається підшлункова залоза [1]. Нами раніше доведено гальмування інкреторної функції підшлункової залози при гострому емоційно-больовому стресі, що пов'язано з активацією протеїназ та зниженням інгібіторного потенціалу підшлункової залози та сироватки крові [12].

Враховуючи, що в останні десятиріччя значно змінилися спосіб життя та харчова поведінка людей, що сприяє зростанню кількості осіб з надмірною масою тіла, представляє інтерес дослідження сполученого впливу хронічного стресу та висококалорійного харчування на стан органів травлення – шлунка, підшлункової залози як тест-об'єктів стресостійкості організму.

Мета дослідження – вивчення механізмів ушкодження тканин шлунка і підшлункової залози при хронічному іммобілізаційному стресі (ІС) на тлі висококалорійної дієти.

© Л. М. Тарасенко, О. Є. Омельченко, В. Ю. Цубер, М. В. Білець, С. М. Мартинова, 2014.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконані на 34 щурах-самцях лінії Вістар. На першому етапі досліджень тварин за масою тіла розподілили на дві рівнозначні групи: інтактні (14 щурів), які отримували стандартний корм і воду *ad libitum*, та дослідні (20 щурів), які протягом 9 тижнів перебували на змішаній дієті. Остання складалась із стандартного корму (47 %), солодкого згущеного молока (44 %), рослинної олії (8 %) та крохмалю (1 %) і води *ad libitum* [15].

На другому етапі, через 8 тижнів, інтактних щурів контрольної та дослідної груп рандомізували на 4 підгрупи: перша – інтактні щури; друга – іммобілізаційний стрес; третя – висококалорійна дієта (без ІС); четверта – моделювання ІС на тлі впливу висококалорійної дієти. ІС у щурів моделювали за методом Г. Сельє [10] шляхом фіксації тварин у положенні на спині по 3 години щоденно впродовж 5 днів.

Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг маси), відбирали кров із порожнини серця та зразки тканин (шлунок, підшлункова залоза) для досліджень. При проведенні експериментів дотримувались рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1985) та нормами біомедичної етики, які ухвалені

Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2011).

Ульцерогенний ефект стресу оцінювали на підставі визначення частоти (кількість тварин з наявністю виразок у групах) та множинності (кількість виразок на 1 тварину) [9]. Вміст перекису водню (H_2O_2) визначали в цільній крові [14], ТБК-реактивів – у сироватці крові [11].

Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням стандартного набору Rat Insulin (TMB) ELISA KIT DRG-diagnostics (Німеччина) та глюкози – глюкозооксидазним методом.

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows методами варіаційної статистики. Для оцінки відмінностей між гру-

пами використовували тест Краскела-Уолліса. Критичний рівень значущості у дослідженнях приймали рівним 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під впливом ІС у 87,5 % щурів спостерігались виразки слизової оболонки шлунка (СОШ), множинність яких становила 1,57. Змішана висококалорійна дієта також сприяла утворенню виразок СОШ, хоча їх частота і множинність були значно меншими (таблиця). При сполученому впливі ІС та висококалорійної дієти у 100 % тварин виникли виразки СОШ, а їх множинність набула найбільших значень порівняно зі стресованими щурами, які отримували стандартний корм, та тваринами, які утримувались на висококалорійній дієті (таблиця).

Таблиця – Показники стресорної реакції за умов змішаної висококалорійної дієти ($M \pm SEM$)

Показник	Контроль (n=6)	Стрес (n=8)	Висококалорійна дієта (n=10)	Висококалорійна дієта + стрес (n=10)	p	
Виразки шлунка	частота, %	0	87,5	70	100	0,002
	множинність	0	1,57±0,48	1,71±0,75	2,20±0,29	
Перекис водню, ум.од./л	0,192±0,014	0,261±0,016	0,217±0,020	0,278±0,018	0,024	
ТБК-реактанти, мкмоль/л	35,36±4,1	58,65±10,79	51,17±4,22	84,78±30,49	0,05	
Інсулін, МО/л	4,108±0,415	2,783±0,932	1,629±0,567	2,175±0,671	0,297 0,05*	
Глюкоза, ммоль/л	5,81±0,018	4,83±0,38	3,63±0,61	3,47±0,59	0,002	

Примітка. * – достовірні якісні відмінності за непараметричним ТМФ (точний метод Фішера).

Отже, висококалорійна дієта здійснює стресіндукуючий ульцерогенний вплив на шлунок, про що свідчить збільшення частоти і множинності ушкоджень СОШ. Це по суті відображає зниження проявів адаптації організму до стресу.

У щурів під впливом ІС достовірно підвищився на 36 % вміст перекису водню порівняно з інтактними тваринами (1 підгрупа) та на 20 % – порівняно з тваринами, які отримували тільки змішаний висококалорійний корм (3 підгрупа). Найвищих значень даний показник досяг у підгрупі тварин з поєднаним впливом ІС та змішаної висококалорійної дієти. Аналогічна закономірність спостерігалась щодо змін вмісту ТБК-реактивів у сироватці крові досліджуваних груп щурів (таблиця). Отже, ІС на тлі висококалорійної дієти ініціює окиснювальний стрес найбільшої інтенсивності.

Під впливом ІС вміст інсуліну в сироватці крові становив лише 68 % порівняно з групою інтактних щурів. При цьому рівень глікемії у досліджуваних підгрупах щурів суттєво не змінювався порівняно з інтактними тваринами (таблиця). Найбільш відповідальну роль у

порушенні синтезу інсуліну під впливом ІС, імовірно, відіграють підвищення продукції перекису водню та його цитотоксичний ефект. У дослідженнях *in vitro* доведено, що перекис водню суттєво знижує життєздатність клітин і виявляє дозозалежну цитотоксичність [3].

Отримані нами результати досліджень про зниження рівня інсуліну під впливом ІС узгоджуються з наведеними в літературі про зменшення майже вдвічі продукції інсуліну в щурів-самців, яких піддавали впливу емоційного стресу, що ґрунтується на агресивному конфлікті впродовж 5 днів [8]. Зниження рівня інсуліну розглядають як прояв стадії резистентності стресу [7]. Висококалорійна змішана дієта у сполученні з ІС здійснює гальмівний вплив на секрецію інсуліну підшлунковою залозою. За цих умов спостерігали зниження вмісту глюкози в крові, природа якого потребує подальших досліджень (таблиця). Слід зазначити, що на основі використаної нами висококалорійної змішаної дієти відтворена модель неалкогольного стеатогепатозу [6]. Це свідчить про те, що при надмірному висококалорійному харчуванні порушення системи травлення набуває

поліорганного характеру. За цих умов ІС знижує стресостійкість організму.

За деякими експериментальними даними, хронічний стрес здійснює стимулюючий вплив на секрецію інсуліну, але об'єктом дослідження авторів слугували вагітні щури-самиці [1]. Відомо, що вагітність супроводжується фізіологічною інсулінорезистентністю, яка ініціює розвиток гіперінсулінемії [2]. Можливо, ця особливість гуморальної регуляції формує

відзначну стресорну відповідь вагітних щурів порівняно з інтактними.

ВИСНОВКИ. 1. Змішана висококалорійна дієта асоціюється з розвитком виразок шлунка, окиснювального стресу та гальмуванням продукції інсуліну.

2. Висококалорійна дієта послаблює стресостійкість організму шляхом активації окиснювального стресу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив хронічного стресу на морфофункціональний стан підшлункової залози вагітних щурів та їх потомства / О. В. Ніколаєва, М. В. Ковальцова, С. В. Татарко [та ін.] // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 2014. – **77**, № 2. – С. 72–76.

2. Гордюнина С. В. Инсулинорезистентность и метаболизм: ее роль при физиологической беременности и гестозе / С. В. Гордюнина // Терапевт. архив. – 2008. – № 11. – С. 85–89.

3. Исследование роли супероксида оксида азота и ионов металлов переменной валентности в цитотоксическом эффекте перекиси водорода и бета-амилоида / Н. Я. Гильяно, С. И. Степанов, Л. А. Носкин [и др.] // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 2013. – № 3. – С. 42–46.

4. Кундиев Ю. И. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ / Ю. И. Кундиев, В. В. Кальниш, А. М. Нагорная // Журн. АМН Украины. – 2002. – **8**, № 2. – С. 335–345.

5. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.

6. Оцінка еластографії хвилі зсуву в діагностиці неалкогольної жирової хвороби печінки / П. М. Боднар, О. Б. Динник, Г. П. Михальчшин [та ін.] // Журн. НАМН України. – 2011. – **17**, № 4. – С. 422–430.

7. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса / Л. Е. Панин. – Новосибирск : Наука, 1983. – 233 с.

8. Петрова Т. В. Функциональные возможности инсулярного аппарата поджелудочной железы в условиях длительного воздействия конфликтной си-

туации и применения тиролиберина при сахарной нагрузке / Т. В. Петрова, М. В. Васин, Т. А. Орлова // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 1992. – № 3. – С. 32–34.

9. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патол. физиол. и эксперим. терап. – 2000. – № 2. – С. 24–31.

10. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М. : Медицина, 1960. – 254 с.

11. Стальная И. Д. Метод определения маломолекулярного диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

12. Тарасенко Л. М. Гальмування інкреторної функції підшлункової залози та її корекція тимопентином при гострому емоційно-больовому стресі / Л. М. Тарасенко, С. В. Вакуленко // Проблеми екології та медицини. – 1998. – **2**, № 1–2. – С. 72–74.

13. Тарасенко Л. М. Патогенетичні механізми зниження резистентності слизового бар'єра шлунка за умов хронічного стресу / Л. М. Тарасенко, І. М. Скрипник // Журн. АМН України. – 1998. – **4**, № 4. – С. 671–677.

14. Graf E. Method for determination of hydrogen peroxide with its application illustrated by glucose assay / E. Graf, T. P. John // J. Clin. Chem. – 1980. – **26**, №5. – P. 658–660.

15. Dietary obesity in nine inbred mouse strains / D. B. West, C. N. Bozer, D. L. Moody [et al.] // Am. J. Physiol. – 1992. – № 262. – P. 1025–1032.

Л. М. Тарасенко, А. Е. Омельченко, В. Ю. Цубер, М. В. Билец, С. Н. Мартынова
УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ СМЕШАННОЙ ДИЕТЫ НА ЯЗВЕННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ЖЕЛУДКА И ИНКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА У КРЫС

Резюме

Цель исследования – изучение в эксперименте механизмов повреждения тканей желудка и поджелудочной железы при иммобилизационном стрессе на фоне высококалорийной диеты. Эксперименты выполнены на 34 половозрелых крысах-самцах, которых рандомизировали на четыре подгруппы: первая – интактные, вторая – иммобилизационный стресс на фоне стандартного питания, третья – высококалорийная диета на протяжении 9 недель, четвертая – сочетанное влияние иммобилизационного стресса и высококалорийной диеты. Стрессоустойчивость животных оценивали на основании ulcerогенного влияния (частота и множественность язв желудка), концентрации перекиси водорода в цельной крови и ТБК-реактантов, а также инсулина и глюкозы в сыворотке крови. Доказано, что высококалорийная диета осуществляет стрессиндуцирующее влияние: усиливает ulcerогенное влияние на желудок, интенсивность окислительного стресса, тормозит инкреторную функцию поджелудочной железы и в целом снижает стрессоустойчивость организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммобилизационный стресс, язвы желудка, инсулин, перекись водорода.

L. M. Tarasenko, O. Ye. Omelchenko, V. Yu. Tsuber, M. V. Bilets, S. M. Martynova
UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

EFFECT OF HIGH-CALORIC MIXED DIET ON GASTRIC ULCER LESIONS AND PANCREATIC INCRETION FUNCTION AT IMMOBILIZATION STRESS IN RATS

Summary

The aim of the study was to experimentally investigate mechanisms of lesions of the gastric and pancreatic tissues at immobilization stress combined with a high-caloric diet. The experiment was performed on 34 adult male rats. The animals were randomized into four groups: intact rats (Group 1), immobilization stress at a standard diet (Group 2), a high-caloric diet for nine weeks (Group 3) and combined immobilization stress and high-caloric diet (Group 4). Stress resistance of the animals was assessed with the ulcerogenic effect (frequency and multiplicity of gastric ulcers), concentration of hydrogen peroxide in blood, concentrations of TBARS, insulin and glucose in blood plasma. It was found that a high-caloric diet causes a stress-inducing effect. It exacerbates gastric ulcerogenesis, increases severity of oxidative stress, inhibits the endocrine function of the pancreas and diminishes stress resistance of the organism in general.

KEY WORDS: immobilization stress, gastric ulcers, insulin, hydrogen peroxide.

Отримано 04.07.14

Адреса для листування: Л. М. Тарасенко, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.

**РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В РЕАЛІЗАЦІЇ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ
КАРБОНОВИХ НАНОЧАСТИНОК**

Вивчено вплив внутрішньочеревного введення карбонових наночастинок на генерацію вільних радикалів кисню та функціонування антиоксидантної системи в організмі експериментальних тварин. Показано, що під впливом одно- і багатостінкових нанотрубок активуються ліпопероксидні процеси в сироватці крові, а вміст антиоксиданта відновленого глутатіону знижується. Фулерени не впливали достовірно на параметри інтенсивності оксидативного стресу. Зроблено висновок, що оксидативний стрес є одним із механізмів токсичності карбонових нанотрубок при їх потраплянні в кров.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксидативний стрес, карбонові наночастинок, процеси ліпопероксидації, антиоксидантна система.

ВСТУП. У зв'язку з розвитком технологій одержання та використання наноматеріалів, які завдяки особливим хімічним, біологічним, фармакологічним та механічним властивостям здатні чинити непрогнозований вплив на біологічні об'єкти, нагально постає проблема оцінки ризику впливу наноречовин на організм людини і навколишнє середовище при їх виробництві та застосуванні [3]. Токсичність карбонових наночастинок було оцінено на різних типах клітин та живих організмів, і отримані результати в багатьох випадках були суперечливі – від повного заперечення будь-якого негативного їх впливу на живі об'єкти до висновків, що карбонові наночастинок за певних умов є високоцитотоксичними [6, 11, 12]. На сьогодні вирішення проблеми з'ясування, які атрибути карбонових наночастинок визначають їх токсичні ефекти, а також питання ідентифікації механізмів, що лежать в основі їх токсичності, мають життєво важливе значення [2].

Метою даної роботи було вивчити вплив внутрішньочеревного введення карбонових наночастинок на генерацію вільних радикалів кисню та функціонування антиоксидантної системи в сироватці крові експериментальних тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на білих безпородних щурах-самцях масою 150 г, яких утримували на стандартному раціоні

© С. О. Ястремська, Л. М. Палиця, І. М. Ястремська, В. М. Коробчук, М. М. Корда, 2014.

віварію. Одностінкові (ОСНТ), багатостінкові (БСНТ) нанотрубки і фулерени C_{60} вводили тваринам у вигляді суспензії (0,5 мл) внутрішньочеревно у дозі 60 мг/кг. За даними Z. Chen і співавт. [4], така доза карбонових наночастинок характеризується підгострою токсичністю. Контрольній групі щурів вводили внутрішньочеревно 0,5 мл ізотонічного розчину. Кров забирали з хвостової вени тварин через 3, 6 і 24 год із моменту введення наночастинок. Сироватку крові отримували шляхом центрифугування. Усі експерименти на щурах проводили згідно з Правилами використання лабораторних експериментальних тварин.

Малоновий діальдегід (МДА) визначали за методикою Л. І. Андреевої та співавт. [1]. При високій температурі в кислому середовищі МДА реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при 532 нм. Концентрацію відновленого глутатіону розраховували згідно з методикою, принцип якої полягає в тому, що при взаємодії 5,5'-дитіобіс(2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону утворюється тіонітрофенільний аніон, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп [7]. Загальну антиокиснювальну активність плазми крові визначали за її здатністю гальмувати утворення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті мозку щурів [5].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень

університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Манна–Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Гіперпродукція вільних кисневих радикалів у тканинах організму призводить до активації процесів ліпопероксидації. МДА є одним із продуктів, що утворюються в процесі пероксидації ліпідів, тому його вміст у біологічному середовищі може слугувати непрямим маркером інтенсивності генерації активних форм кисню [8]. Ми спостерігали підвищення рівня МДА в сироватці крові щурів, яким інтраперитонеально вводили 60 мг/кг наночастинок, починаючи з 3-ї год із моменту їх введення (рис. 1). При цьому тільки при застосуванні багатостінкових нанотрубок зміни вмісту МДА на 3-тю год експерименту були достовірними. Тенденція до підвищення активності процесів ліпопероксидації

утримувалася до 6-ї год досліджу. В цей термін вміст МДА у сироватці крові тварин, яким вводили одностінкові нанотрубки, становив $(10,6 \pm 0,9)$ мкмоль/л, що було в 1,4 раза більше, ніж у контрольних тварин $(7,5 \pm 0,4)$ мкмоль/л. Ще більшою мірою активність ліпопероксидації зростала через 6 год після застосування наночастинок у щурів, яким вводили багатостінкові нанотрубки. У крові таких тварин вміст МДА підвищувався, порівняно з контролем, в 1,5 раза і становив $(11,5 \pm 0,9)$ мкмоль/л. Необхідно відмітити, що при використанні фулеренів C_{60} , хоча і мала місце тенденція до активізації вільнорадикальних реакцій на 3-тю і 6-ту год експерименту, проте зміни виявилися статистично недостовірними. Як видно з діаграм, наведених на рисунку 1, через 24 год після введення всіх типів наночастинок інтенсивність ліпопероксидних процесів у піддослідних тварин поверталася до норми.

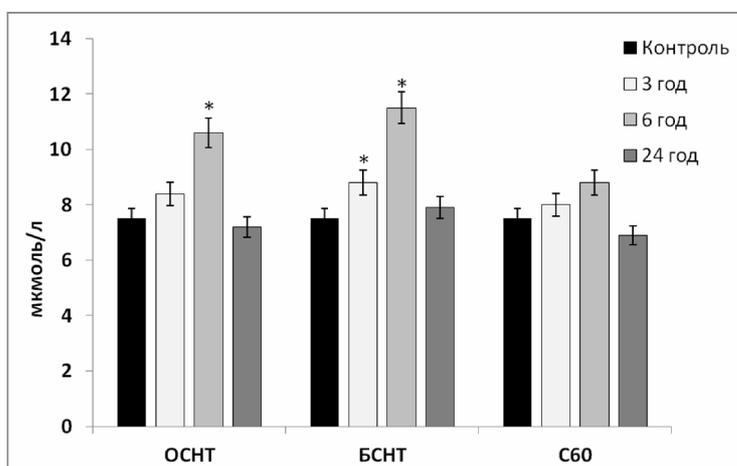


Рис. 1. Вплив карбонових наночастинок на вміст МДА в сироватці крові щурів (* – зміни достовірні порівняно з контролем).

Активність вільнорадикальних реакцій залежить не тільки від швидкості генерації вільних радикалів, але і від функціонування антиоксидантної системи, компоненти якої здатні перехоплювати і знешкоджувати радикальні форми кисню чи блокувати ланцюг ліпопероксидації. Одним з основних антиоксидантів неферментативної природи є відновлений глутатіон, функція якого полягає в елімінації з тканин токсичного перекису водню чи гідропероксидів. Дефіцит відновленого глутатіону в тканинах чи крові призводить до вираженого оксидативного стресу. Тому доцільно було дослідити вплив карбонових наночастинок на динаміку вмісту даної сполуки в крові тварин. Як видно з даних, наведених на рисунку 2, інтраперитонеальне введення щурам одно- і багатостінкових нанотрубок призводило до зниження вмісту в крові віднов-

леного глутатіону через 3 і 6 год з моменту ін'єкції. При цьому тільки на 6-ту год експерименту зміни досліджуваних показників виявилися достовірними. Так, у цей термін дослідження при застосуванні одностінкових нанотрубок рівень глутатіону в крові тварин був в 1,3 раза нижчим порівняно з контролем $(2,3 \pm 0,1)$ проти $(2,9 \pm 0,2)$ ммоль/л. У цей же період дослідження при введенні багатостінкових нанотрубок концентрація відновленого глутатіону знижувалася до $(2,1 \pm 0,1)$ ммоль/л, що становило 72 % від рівня контролю. Як і у випадку з МДА, рівень антиоксиданта повертався до норми через 24 год після застосування нанотрубок.

Порівняно з одно- і багатостінковими нанотрубками, фулерен C_{60} проявив найменший токсичний ефект – його інтраперитонеальне введення не справило достовірного ефекту на

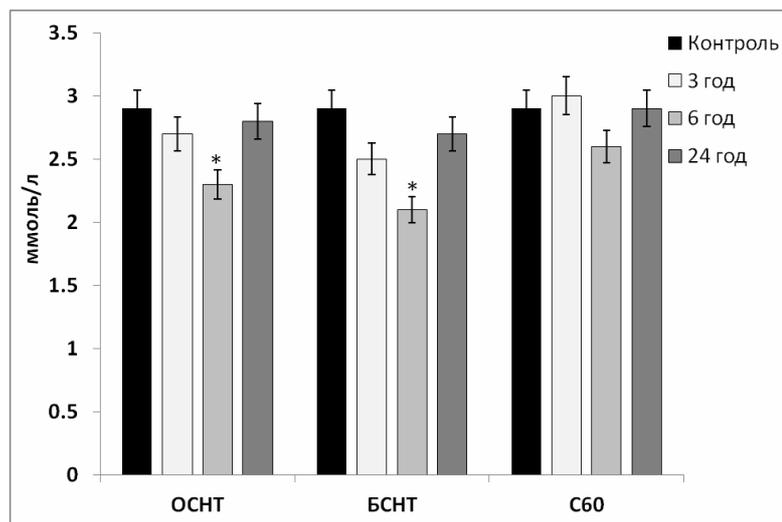


Рис. 2. Вплив карбонових наночастинок на вміст відновленого глутатіону в крові щурів (* – зміни достовірні порівняно з контролем).

показники вмісту відновленого глутатіону в крові щурів у всі терміни дослідження.

Загальна антиоксидантна активність плазми крові – це інтегральний показник, який відображає функціональний стан усіх компонентів антиоксидантної системи в комплексі. Ми досліджували вплив наночастинок на загальну антиоксидантну активність плазми крові за її здатністю гальмувати процеси ліпопероксидації в інкубаційному середовищі, яке містило гомогенат мозку щурів.

Представлені на рисунку 3 результати показують, що плазма здорових щурів інгібувала процеси вільнорадикального окиснення на 64 %, тобто в інкубаційному середовищі, яке містило досліджувану плазму, вміст ТБК-активних продуктів був у 2,6 раза нижчим, ніж у

пробах без плазми. Введення в черевну порожнину тварин фулерену С₆₀, одно- і багатостінкових нанотрубок не супроводжувалося статистично достовірними змінами загальної антиоксидантної активності плазми крові в ході термінів дослідження, хоча тенденція до зниження даного показника мала місце, особливо через 6 год з моменту застосування наночастинок. З огляду на такі результати і беручи до уваги факт зниження рівня відновленого глутатіону в крові під впливом карбонових наночастинок, зокрема одно- і багатостінкових нанотрубок, можна зробити висновок, що загальна антиоксидантна активність плазми крові залежить від функціонального стану багатьох компонентів антиоксидантної системи і питома вага відновленого глутатіону, оче-

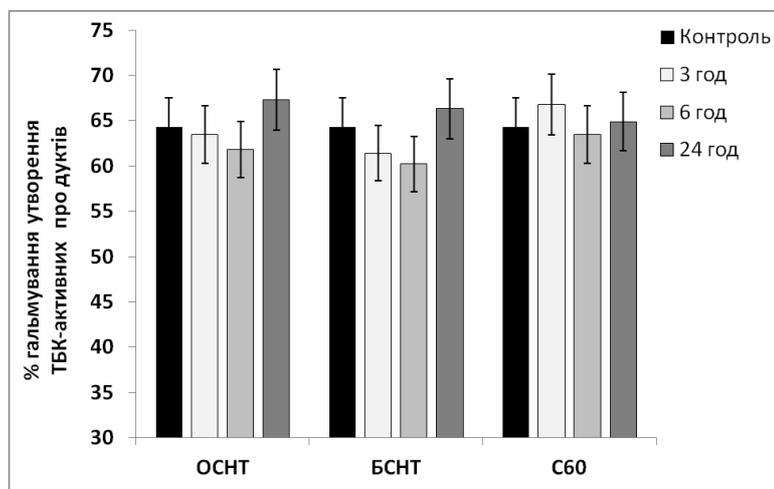


Рис. 3. Вплив карбонових наночастинок на загальну антиоксидантну активність плазми крові щурів.

видно, не є визначальною у цьому інтегральному показнику [9, 10].

ВИСНОВКИ. Токсична дія карбонових наночастинок опосередковується посиленням

продукуванням вільних кисневих радикалів і активацією процесів ліпідної пероксидації в сироватці крові. За ступенем токсичності карбонові наночастинок розміщуються в такому порядку: БСНТ>ОСНТ>C₆₀.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Чекман І. С. Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха, А. М. Дорошенко // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 1. – С. 30–35.
3. Шаторна В. Ф. Нанотехнології, наномедицина, нанобіологія – погляд на проблему / В. Ф. Шаторна // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 1. – 2 (99). – С. 40–44.
4. Applications of Functionalized Fullerenes in Tumor Theranostics / Z. Chen, L. Ma, Y. Liu, C. Chen // Theranostics. – 2012. – 2. – P. 238–250.
5. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – 47. – P. 215–222.
6. Blood oxidative stress generation after intraperitoneal administration of functionalized single-walled carbon nanotubes in rats / S. Clichici, T. Mocan, A. Filip, A. Biris // Acta Physiologica Hungarica. – 2011. – 98, N 2. – P. 231–241.
7. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – 82. – P. 70–77.
8. Jiao F. Studies on anti-tumor and antimetastatic activities of fullerene in a mouse breast cancer model / F. Jiao, Y. Liu, Y. Qu // Carbon. – 2010. – 48. – P. 2231–2243.
9. Mechanisms of carbon nanotube-induced toxicity: focus on oxidative stress / A. Shvedova, A. Pietroiusti, B. Fadeel, V. E. Kagan // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2012. – 261, № 2. – P. 121–133.
10. Pojlak-Blazi M. Cell oxidative stress: risk of metal nanoparticles / M. Pojlak-Blazi, M. Jaganjac, N. Zarkovic // Handbook of Nanophysics: Nanomedicine and Nanorobotics. – 2010. – CRC Press, New York, NY, USA. – P. 1–17.
11. Review of fullerene toxicity and exposure – Appraisal of a human health risk assessment, based on open literature / K. Aschberger, H. J. Johnston, V. Stone, R. J. Aitken // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2010. – 58. – P. 455–473.
12. The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity / H. J. Johnston, G. R. Hutchison, F. M. Christensen, K. Aschberger // Toxicological Sciences. – 2010. – 114, N 2. – P. 162–182.

С. А. Ястремская, Л. М. Палица, И. М. Ястремская, В. М. Коробчук, М. М. Корда
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В РЕАЛИЗАЦИИ ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КАРБОНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

Резюме

Изучено влияние внутрибрюшного введения карбоновых наночастиц на генерацию свободных радикалов кислорода и функционирование антиоксидантной системы в организме экспериментальных животных. Показано, что под влиянием одно- и многостеночных нанотрубок активируются процессы липопероксидации в сыворотке крови, а содержание антиоксиданта восстановленного глутатиона снижается. Фуллерены не влияли достоверно на параметры интенсивности оксидативного стресса. Сделан вывод, что оксидативный стресс является одним из механизмов токсичности карбоновых нанотрубок при их попадании в кровь.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксидативный стресс, карбоновые наночастицы, процессы липопероксидации, антиоксидантная система.

S. O. Yastremska, L. M. Palytsia, I. M. Yastremska, V. M. Korobchuk, M. M. Korda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN THE IMPLEMENTATION OF TOXIC EFFECTS OF CARBON NANOPARTICLES

Summary

It has been studied the effect of carbon nanoparticles intraperitoneal administration on the generation of oxygen free radicals and antioxidant system functioning in the organisms of experimental animals. It has been shown that single walled and multi walled nanotubes activate the lipid peroxidation processes as well as decrease the level of reduced glutathione in blood serum. Fullerenes did not affect the parameters. It has been concluded that oxidative stress is one of the mechanisms of carbon nanotubes toxicity when they are released into the blood.

KEY WORDS: **oxidative stress, carbon nanoparticles, lipid peroxidation processes, antioxidant system.**

Отримано 09.07.14

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

**ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ МЕДІАСТИНАЛЬНОГО ЛІМФОВУЗЛА
В ПІСЛЯНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД У НОРМІ
ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНУ
ЛЮДИНИ**

Досліджено клітинний склад медіастинального лімфатичного вузла в нормі та після внутрішньо-плідного введення імуноглобуліну людини. Встановлено, що введення білкового антигену прискорює формування лімфоїдних структур паренхіми медіастинального лімфатичного вузла, збільшує щільність малих лімфоцитів в усіх структурах паренхіми лімфовузла, але спостерігають зменшення щільності середніх і великих лімфоцитів у паракортикальній зоні та мозковій речовині протягом трьох тижнів спостереження після народження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: медіастинальний лімфатичний вузол, паренхіма вузла, лімфоцит, антиген – імуноглобулін людини.

ВСТУП. Стрімкий розвиток фундаментальної і прикладної імунології супроводжується інтенсивним впровадженням у практику охорони здоров'я методів імунокорекції. Одним з них є застосування гуморального специфічного фактора – імуноглобулінів. Препарат “Імуноглобулін людини нормальний” (“Биофарм”, Україна) містить широкий спектр антитіл до багатьох збудників інфекцій. Складові препарату після введення в організм людини пов'язують і елімінують багато компонентів, що викликають інтоксикацію, сприяють деблокуванню рецепторів, нормалізації експресії антигенів. Одночасно препарату притаманні апірогенні, атоксичні властивості. Таким чином, загалом препарату властиві суто антигенні дії. Тому, застосовуючи його в експерименті, передбачається отримати результати щодо імунної відповіді на чисто білковий антиген. Препарат також сприяє відновленню здатності фагоцитів і ефektorів природної цитотоксичності (натуральні кілери, Т-лімфоцити та ін.) [10].

Ряд авторів провів низку експериментальних досліджень на лабораторних тваринах, яким внутрішньоплідно вводили імуноглобулін людини [2, 7, 11]. Але практично не вивченим залишається питання щодо впливу антигенів білкової природи на становлення і розвиток медіастинального лімфатичного вузла. Імунна система новонароджених має свої онтогенетичні особливості: підвищене споживання імуноглобулінів у ранній період адаптації при колонізації шкіри і

© О. Г. Куш, Н. Г. Васильчук, 2014.

слизових оболонок мікрофлорою навколишнього середовища, а також відсутність клітин імунологічної пам'яті. Деякі автори свідчать, що метаболізм препарату йде двома основними шляхами: більша частина імуноглобулінів поглинається тканинними макрофагами або фагоцитами селезінки та підлягає внутрішньоклітинному протеолізу в лізосомах; вільні імуноглобуліни і частина циркулюючих комплексів потрапляють до нирок, де розщеплюються відповідними протеазами [3, 6].

Науковий інтерес становить вивчення морфологічних особливостей медіастинального лімфатичного вузла як за умов норми, так і при антенатальному введенні імуноглобуліну людини щурам [12, 13].

Метою дослідження було вивчити в порівняльному аспекті динаміку змін щільності малих, середніх, великих лімфоцитів та макрофагів у структурних компонентах паренхіми медіастинального лімфатичного вузла щурів з 1-ї доби після народження до 60-ї як у нормі, так і після внутрішньоплідного введення імуноглобуліну людини.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використовували 2 групи білих щурів: 1-ша – контрольна, тваринам якої вводили фізіологічний розчин (n=30); 2-га – експериментальні тварини, яким вводили імуноглобулін людини (n=30), препарати вводили внутрішньоплідно на 18-ту добу внутрішньоутробного розвитку. Антиген і фізіологічний розчин вводили плодам

лапаротомічно, шляхом кризьматкової ін'єкції, фізіологічний розчин об'ємом 0,05 мл та антиген у кількості 0,165 мг білка в 0,05 мл кожному плоду – за способом, розробленим М. А. Волошиним зі співавторами [1]. Всі експериментальні процедури проводили відповідно до Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях [4]. Кількість клітин підраховували за допомогою модифікованої сітки Глаголева в перерахунку на умовну одиницю площі – 1000 мкм² [8].

Гістологічні зрізи медіастинального лімфатичного вузла товщиною 5–6 мкм фарбували гематоксиліном і еозином та ставили ШІК-реакцію. Клітинний склад структур медіастинальних лімфатичних вузлів вивчали при збільшенні $\times 90$ (абсолютна кількість малих, середніх та великих лімфоцитів, а також абсолютна кількість макрофагів у різних зонах лімфовузла). Всі результати дослідження обробляли методами варіаційної статистики за Фішером–Стьюдентом. Для кожної досліджуваної величини визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки репрезентативності середнього арифметичного (m). При перевірці статистичних гіпотез нульову гіпотезу відкидали при рівні значущості $p < 0,05$ [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З 1-ї до 11-ї доби вузол має майже круглу форму. У тварин старшого віку він набуває будови класичного лімфовузла – бобоподібної форми, при цьому лімфовузол подовжується вздовж поверхні основи серця. Розміри медіастинального лімфатичного вузла зростають з віком. Збільшуються як поперекові, так і повздовжні розміри вузла. У новонароджених тварин його повздовжні розміри становлять 0,41 мм. На 60-ту добу вони зростають до 1,48 мм. У тварин після внутрішньоплідного введення антигену спостерігають збільшення розмірів лімфовузла протягом усіх строків спостереження. На 1-шу добу життя його розміри становлять 0,48 мм, з часом, через два місяці, – 2,45 мм, що було встановлено раніше [5].

На гістологічних препаратах медіастинального лімфатичного вузла щурів кіркова речовина займає велику площу зрізу та має неоднорідну будову. Більш-менш чітка межа між кірковою та мозковою речовинами досліджуваних лімфатичних вузлів проявляється у двотижневих тварин. Приблизно у цей же час можна вже диференціювати лімфоїдні вузлики від інших зон паренхіми медіастинального лімфатичного вузла в антигенпремійованих тварин. Необхідно зазначити, що в паренхімі

лімфовузлів щурів, які зазнали антенатальної стимуляції імуноглобуліном людини, формування вищезазначених структур прискорилось на тиждень. На зрізах вузла, проведених через його ворота, вже можна розрізнити периферичну щільну кіркову речовину, що складається з лімфатичних вузликів, паракортикальну (дифузну) зону, а також світлу мозкову речовину, утворену мозковими тяжами та синусами.

Проведені морфологічні дослідження показали, що внутрішньоплідне введення антигену викликає у новонароджених тварин достовірне збільшення кількості малих лімфоцитів у кірковій та мозковій речовинах ($14,80 \pm 0,66$ і $3,00 \pm 0,25$) порівняно з контрольною групою щурів ($11,00 \pm 0,57$ та $1,90 \pm 0,23$ відповідно), хоча слід зазначити, що поділ паренхіми лімфовузла в цей період досить умовний. Антигенна стимуляція сприяла також більш ранній появі активованих макрофагів у різних зонах паренхіми середостінного лімфовузла. Достовірних змін щільності середніх лімфоцитів у жодній зоні лімфовузла не виявлено, проте спостерігали достовірне зниження (на 60 %) числа великих лімфоцитів у В-залежній зоні медіастинального лімфатичного вузла (табл.).

У 3-добових щурів продовжує збільшуватися щільність малих лімфоцитів на одиницю площі в усіх зонах досліджуваних лімфовузлів (табл.), проте інтенсивність зростання кількості клітин у 2-й групі достовірно (в середньому на 40 %) перевищує показники 1-ї групи. Достовірно зменшується чисельність середніх та великих лімфоцитів порівняно з контролем.

У тижневих тварин переважають малі лімфоцити в кірковому плато щурів обох груп, достовірно відносно групи контролю. Їх кількість збільшується в кірковій та мозковій зонах медіастинального лімфовузла (відповідно, на 57 і 69 %). Починає визначатися паракортикальна зона вузлів експериментальних тварин, яка переважно заселена малими лімфоцитами. Помітно збільшується кількість макрофагів у кірковій та мозковій зонах лімфовузла. У кірковому шарі експериментальних тварин в 43 % випадків виявлено лімфоїдні вузлики без гермінативних центрів. Достовірно зростає щільність середніх лімфоцитів у всіх структурних відділах середостінного лімфовузла, особливо в паракортикальній зоні та мозковій речовині (на 55 і 76 % відповідно). Плазматичні клітини поодинокі в кірковій речовині. Візуально їх чисельність починає збільшуватися в паракортикальній зоні та м'якітних тяжах, проте в антигенпремійованих щурів вона все ж таки залишається достовірно нижчою, ніж у контролі.

Таблиця – Динаміка клітинного складу медіастинального лімфатичного вузла щурів з 1-го до 60-го дня після народження як за умов норми, так і після внутрішньоплідної антигенної стимуляції

Доба	Група	Кількість лімфоцитів (M±L) на ум. од. площі 1000 мкм ²			
		малих	середніх	великих	макрофагів
1	2	3	4	5	6
Кіркова зона					
1	1-ша	11,00±0,57	0,50±0,16	0,20±0,13	1,00±0,21
3		12,00±0,57	1,50±0,16	0,50±0,16	2,40±0,26
7		12,90±0,62	2,00±0,25	0,80±0,13	2,10±0,23
11		16,10±0,52	1,80±0,24	0,60±0,16	2,90±0,27
14		15,60±0,65	2,30±0,15	1,10±0,10	2,40±0,26
21		17,00±0,47	3,00±0,25	0,70±0,15	2,00±0,25
30		15,10±0,43	3,20±0,20	0,90±0,10	1,90±0,23
45		15,90±0,64	4,00±0,33	1,20±0,13	3,00±0,25
60		17,80±0,48	3,10±0,23	1,10±0,10	3,00±0,33
1	2-га	14,80±0,66*	–	0,10±0,10	1,20±0,20
3		16,90±0,87*	0,80±0,13	0,30±0,15	2,50±0,22
7		20,30±0,96*	1,70±0,26	0,20±0,13*	2,90±0,27*
11		30,50±0,95*	5,80±0,32*	0,30±0,15*	3,90±0,27*
14		34,40±0,87*	6,00±0,39*	0,70±0,15*	3,10±0,23
21		26,20±1,16*	5,00±0,39	1,00±0,21	4,90±0,45*
30		18,80±0,94	4,10±0,43*	1,60±0,22*	4,90±0,34*
45		15,70±0,88	3,80±0,91	1,80±0,20	3,70±0,30
60		12,20±0,79*	4,20±0,66	2,30±0,30*	6,00±0,33*
Паракортикальна зона					
1	1-ша	9,10±0,52	0,50±0,16	–	–
3		11,20±0,67	0,30±0,15	0,50±0,16	2,10±0,23
7		14,40±0,45	1,10±0,17	0,70±0,15	3,00±0,25
11		12,50±0,50	1,00±0,21	1,40±0,16	2,00±0,21
14		15,70±0,47	0,70±0,15	1,70±0,30	2,90±0,23
21		15,00±0,57	1,30±0,15	2,10±0,09	2,00±0,21
30		14,10±0,45	0,90±0,10	1,90±0,23	3,00±0,25
45		16,00±0,47	1,60±0,22	2,30±0,21	2,10±0,23
60		15,00±0,42	2,40±0,16	1,50±0,16	2,00±0,25
1	2-га	9,70±0,55	–	–	0,70±0,15*
3		15,90±0,70*	0,40±0,16	0,40±0,16	1,60±0,16
7		17,80±0,79	1,70±0,21	0,70±0,15	3,30±0,30
11		24,0±0,81*	3,50±0,26*	0,90±0,10	2,80±0,29
14		21,10±0,84*	2,80±0,24*	1,60±0,22	3,50±0,26
21		18,10±0,78	3,80±0,24*	2,60±0,22	3,10±0,23*
30		14,70±0,82	2,10±0,31*	1,20±0,29	4,10±0,37*
45		15,40±1,04	1,70±0,26	1,90±0,27	3,60±0,22*
60		12,90±0,64	1,30±0,30*	1,50±0,26	2,80±0,24
Мозкова речовина					
1	1-ша	1,90±0,23	1,10±0,17	0,50±0,16	–
3		4,10±0,27	2,00±0,25	2,80±0,20	0,30±0,15
7		4,80±0,32	2,10±0,27	3,90±0,37	0,70±0,15
11		6,80±0,38	4,00±0,25	2,90±0,27	0,90±0,10
14		5,80±0,32	3,00±0,25	4,90±0,37	0,90±0,17
21		3,80±0,32	1,90±0,23	3,00±0,25	0,70±0,15
30		4,90±0,31	4,00±0,25	3,60±0,37	1,10±0,17
45		5,90±0,37	2,10±0,23	4,10±0,34	1,10±0,17
60		4,70±0,13	2,80±0,20	4,50±0,37	1,60±0,16
1	2-га	3,00±0,25*	0,70±0,15	0,20±0,13*	1,00±0,14*
3		5,70±0,42*	1,50±0,22	0,80±0,20*	1,10±0,23*
7		8,10±0,52*	3,70±0,26*	2,10±0,23*	1,50±0,26*
11		11,50±0,58*	2,90±0,23*	2,20±0,20	2,10±0,23*
14		9,70±0,55*	5,00±0,25*	5,80±0,32	1,00±0,21
21		10,70±0,65*	6,70±0,42*	4,70±0,42*	1,80±0,24*

1	2	3	4	5	6
30		8,00±0,49*	4,00±0,33	8,10±0,52*	2,00±0,25*
45		6,80±0,78	5,60±0,37*	6,00±0,39*	1,00±0,21
60		7,00±0,64	5,10±0,50*	6,90±0,37*	2,00±0,25

Примітки:

1. * – відмінність достовірна порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).
2. 1-ша – контрольна група.
3. 2-га – група антенатально імунізована γ -глобуліном.

На 11-ту добу спостерігають значне підвищення відносної кількості малих лімфоцитів (табл.). Так, щільність малих лімфоцитів у кірковій, паракортикальній зонах та мозковій речовині середостінних лімфовузлів піддослідних щурів на 89, 92 і 58 % відповідно перевищує аналогічні значення контрольної групи. Триває збільшення клітин, що діляться мітотично. Спостерігають зростання чисельності макрофагів у всіх зонах лімфатичних вузлів як контрольних, так і піддослідних тварин. Достовірно і суттєво збільшується число середніх лімфоцитів у кірковій та паракортикальній зонах середостінних лімфовузлів піддослідних щурів (на 222 та 250 % відповідно). Плазматичні та клітини з ознаками руйнування одиничні в кірковій зоні, але плазмацити стабільно переважають у мозкових тяжках, де їх кількість візуально відповідає показникам, характерним для дефінітивних середостінних лімфовузлів.

На 14-ту добу після народження лімфоїдні вузлики виявляють в 100 % випадків у всіх досліджуваних групах тварин, причому в піддослідних щурів (2-га група) переважають вузлики, що мають добре розвинені гермінативні центри. Щільність малих лімфоцитів у антигенпремійованих щурів продовжує збільшуватись у кірковій зоні (перевищуючи аналогічне значення 1-ї групи на 120 %), в паракортикальній зоні зростання щільності клітин дещо призупиняється (перевищуючи контрольну групу всього на 34 %), у мозковій речовині різниця між групами за показником щільності малих лімфоцитів залишається практично без змін (67 %) порівняно з попереднім терміном спостереження. Достовірно збільшується щільність середніх лімфоцитів у всіх зонах паренхіми лімфовузла піддослідних щурів порівняно з групою контролю. Достовірно різниці за кількістю великих лімфоцитів та макрофагів на одиницю площі між вищезазначеними групами не виявлено.

Наприкінці третього тижня життя щурів згладжується різниця у показниках клітинного

складу в піддослідних та контрольних тварин за щільністю малих лімфоцитів у різних зонах лімфовузла, проте починає достовірно збільшуватись кількість середніх і малих лімфоцитів на одиницю площі. Вузли антигенстимульованих щурів набувають остаточно дефінітивної будови. Дещо візуально зростають показники моноцитів та плазматичних клітин у кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла. Схожа тенденція простежується і на 30-ту добу після-натального розвитку щурів.

На 45-ту і 60-ту доби продовжує зменшуватись щільність малих лімфоцитів у всіх зонах паренхіми середостінного лімфовузла щурів дослідної групи, проте зростає кількість середніх та великих лімфоцитів у мозковій речовині, перевищуючи аналогічні показники контрольних щурів (на 167 і 46 % відповідно). Практично до 60-ї доби нівелюється різниця за показниками щільності клітин між різними зонами паренхіми лімфовузла (табл.).

ВИСНОВКИ. 1. Внутрішньоплідне введення імуноглобуліну людини у пренатальний період онтогенезу сприяє прискореному формуванню лімфоїдних структур паренхіми середостінного лімфатичного вузла в ранній постнатальний період онтогенезу щурів: зростають розміри лімфатичного вузла, на сім діб раніше спостерігають формування лімфоїдних вузликів та паракортикальної зони.

2. Протягом перших трьох тижнів постнатального розвитку тварин після внутрішньоплідного введення імуноглобуліну людини відмічають збільшення щільності малих лімфоцитів у всіх структурах паренхіми лімфовузла та зменшення щільності середніх і великих лімфоцитів у паракортикальній зоні та мозковій речовині.

3. Із 60-ї доби після народження в антиген-премійованих щурів різниця в показниках щільності лімфоцитів у структурах нівелюється порівняно з тваринами контрольної групи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Внутриутробное введение антигенов – модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов / Н. А. Волошин, М. В. Карзов, Е. А. Григорьева [и др.] // Тавр. мед.-биол. вестн. – 2002. – № 3. – С. 43–46.
2. Волошин Н. А. Особенности становления лимфоидной ткани, ассоциированной с кожей, в норме и после внутриутробного введения антигенов / Н. А. Волошин, О. Г. Куц // Вісник морфології. – 1999. – 5, № 2. – С. 118–120.
3. Вопросы практической педиатрии / А. Г. Антонов, Н. Н. Ашиткова, Т. В. Бирюкова [и др.]. – 2007. – 2, № 2. – С. 56–64.
4. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експер. та клін. фізіол. біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
5. Куц О. Г. Особливості топографії і будови медіастинального лімфатичного вузла у щурів в ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішноплідної дії антигену / О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук // Морфологія на сучасному етапі розвитку науки. – Тернопіль, 2012. – С. 114–116.
6. Лазарева Д. Н. Стимуляторы иммунитета / Д. Н. Лазарева, Е. К. Алехин. – М. : Медицина, 1985. – 256 с.
7. Матвейшина Т. М. Влияние внутриутробного антигенного навантаження на темпи збільшен-
ня висоти епітелію носової частини глотки щурів / Т. М. Матвейшина // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини. – Одеса, 2012. – С. 33.
8. Методика оценки клеточного состава лимфатических узлов / М. Р. Сапин, В. Ш. Белкин, С. Б. Стефанов, М. Ю. Куинова // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1988. – 105, № 8. – С. 85–89.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва. – М. : Издательство Медиа Сфера, 2006. – 305 с.
10. Самсыгина Г. А. Иммуноглобулины для внутривенного введения в педиатрии / Г. А. Самсыгина // Лечащий врач. – 2002. – № 9. – С. 14–18.
11. Светлицкий А. А. Морфологические изменения стенки тонкой кишки крыс в постнатальном периоде, после внутриутробного введения антигена / А. А. Светлицкий // Запорож. мед. журн. – 2006. – 1, № 5 (38). – С. 10.
12. Lymphatic system: morphofunctional considerations / G. Saiiustio, C. Giangreogorij, L. Cannas [et al.] // Rays. – 2000. – 25, № 4. – P 413–427.
13. Roncarolo M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans / M. Roncarolo, M. Battaglia // Nat. Rev. Immunol. – 2007. – P. 585–598.

О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МЕДИАСТИНАЛЬНОГО ЛИМФОУЗЛА В ПОСЛЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИПЛОДНОГО ВВЕДЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА

Резюме

Исследовано клеточный состав медиастинального лимфатического узла в норме и после внутриплодного введения иммуноглобулина человека. Установлено, что введение белкового антигена ускоряет формирование лимфоидных структур паренхимы медиастинального лимфатического узла, увеличивает плотность малых лимфоцитов во всех структурах паренхимы лимфоузла, но наблюдается уменьшение плотности средних и больших лимфоцитов в паракортикальной зоне и мозговом веществе на протяжении трех недель наблюдения после рождения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медиастинальный лимфатический узел, паренхима узла, лимфоцит, антиген – иммуноглобулин человека.

PECULIARITIES OF FORMATION OF MEDIASTINAL LYMPH NODE IN POSTNATAL PERIOD IN NORM AND AFTER THE ANTENATAL INTRODUCTION OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN

Summary

Investigated the cellular composition of the mediastinal lymph node in norm and after the antenatal introduction of human immunoglobulin. It is found that the introduction of proteantigen accelerates the lymphoid structures of parenchyma of mediastinal lymph node, increases the density of small lymphocytes in all structures of the parenchyma of the lymph node, but a decrease in the density of the medium and large lymphocytes in the paracortical zone and the medulla for three weeks after birth.

KEY WORDS: mediastinal lymph node, the parenchyma of the node, the lymphocyte, antigen – human immunoglobulin.

Отримано 18.07.14

Адреса для листування: Н. Г. Васильчук, вул. Маяковського, 20, кв. 133, Запоріжжя, Україна, e-mail: Vasilchuknata@mail.ru.

СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДІЄТИНДУКОВАНОМУ АЛІМЕНТАРНОМУ ОЖИРІННІ

У статті наведено результати дослідження пероксидного окиснення ліпідів у щурів на моделі дієтиндукованого ожиріння. Встановлено підвищення вмісту дієнових кон'югатів і продуктів тіобарбітурової кислоти в крові, гомогенаті печінки і жировій тканині проти даних контролю ($p < 0,05$). При цьому виявлено, що запускають процеси пероксидного окиснення ліпідів активні метаболіти оксигену, рівень яких значно зростає стосовно контролю, а найбільшим джерелом кисневих радикалів при надмірній масі тіла є жирова тканина.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальне ожиріння, пероксидне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Ожиріння є однією з важливих проблем охорони здоров'я в усьому світі, оскільки збільшує частоту серцево-судинних захворювань, цукрового діабету і раку товстої кишки [9, 10]. По суті ожиріння – результат надмірного споживання енергії порівняно з тією енергією, що витрачається [12]. Відповідно до сучасної концепції патогенезу ожиріння, головною патогенетичною ланкою цього процесу, згідно з даними S. Weisberg та співавт., є системний оксидативний стрес, що ініціює дефекти мітохондріального окиснення субстратів у жировій тканині [8]. Дані Н. С. Леоненко вказують на те, що при вільнорадикальній патології перш за все відбувається окиснення ліпідів, інтенсивність якого значною мірою залежить від стану антиоксидантного захисту, тоді як білки окиснюються на другому етапі, й у цей процес включаються не тільки активні форми кисню, а й інші продукти, в тому числі пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4].

Метою даної роботи було дослідити вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів при дієтиндукованому експериментальному ожирінні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою від 160,0 до 180,0 г згідно з Женевською конвенцією "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Geneva, 1990) та Загальними принципами експериментів на © І. В. Антонишин, М. І. Марущак, О. В. Денефіль, 2014.

тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001). Щури перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України".

Експериментальну модель аліментарного ожиріння відтворювали шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глютамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складалась із стандартної їжі (47 %), солодкого концентрованого молока (44 %), кукурудзяної олії (8 %) і рослинного крохмалю (1 %). Відтворення аліментарного ожиріння контролювали шляхом зважування тварин.

Тварин поділили на три групи: контрольну групу – інтактні тварини (6 щурів); дослідну групу № 1 – термін спостереження через 14 діб від початку експерименту при ІМТ > 25 (6 щурів); дослідну групу № 2 – через 28 днів від початку експерименту при ІМТ > 30 (6 щурів).

Для дослідження особливостей вільнорадикального окиснення при експериментальному ожирінні спектрофотометрично визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактивів (ТБК-АП) [2]. Для дослідження використовували плазму крові, супернатант гемолізованих еритроцитів, 10 % гомогенат тканини печінки і жирової тканини готували на фізіологічному розчині при температурі 35 °С.

Для дослідження активних метаболітів оксигену (АМО) використовували лізати моноцитів, попередньо виділених за допомогою

центрифугування на подвійному градієнті щільності 1,077 і 1,093 фіколу-верографіну. Після 40 хв центрифугування при температурі 4 °С і швидкості 1500 об./хв утворювалися дві інтерфази. Верхня інтерфаза (на межі плазма-верифікол щільністю 1,077) складалася з мононуклеарних клітин – 80 % лімфоцитів, 15–18 % моноцитів і незначного (2–3 %) додатка гранулоцитів. Розділення лімфоцитів і моноцитів здійснювали методом ізокінетичного центрифугування протягом 5 хв при 400 об./хв у градієнті фіколу-верографіну щільністю 1,060 [7]. Аналіз зразків проводили на проточному цитометрі Erics XL (“Beckman Coulter”, США) за допомогою дихлорфлюоресцеїну діацетату, значення досліджуваного параметра виражали у відсотках (інтенсивність світіння на клітину) [1].

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, наведені в таблиці, вміст ДК у супернатанті гемолізатів еритроцитів, плазмі крові та гомогенаті печінки щурів з дієтіндукованим ожирінням мав тенденцію до зростання через

14 діб спостереження, тоді як у гомогенаті жирової тканини виявлено статистично значиме підвищення рівня первинних продуктів ПОЛ на 30,08 % відносно контрольної групи. За умови аліментарного ожиріння (через 28 діб від початку експерименту) вміст ДК достовірно збільшився в усіх досліджуваних біологічних субстратах, зокрема у супернатанті гемолізату еритроцитів – на 61,52 %, у плазмі крові – на 89,72 %, у гомогенаті печінки – на 89,29 %, у гомогенаті жирової тканини – на 81,59 % відносно показників інтактних тварин та, відповідно, на 40,22, 99,80, 70,44 і 39,60 % стосовно даних дослідної групи № 2 ($p < 0,05$).

Ініціація ПОЛ призводить до утворення малоальдегідоподібних продуктів, які викликають порушення впорядкованої орієнтації молекул фосfolіпідів, ліпопротеїдних міжмолекулярних взаємодій та конфігурацію базальної мембрани, що підвищує в'язкість, змінює фазові властивості й електричний опір мембрани [13]. При аналізі динаміки змін ТБК-АП у різних біологічних рідинах було встановлено тенденцію до їх зростання через 14 діб моделювання дієтіндукованого ожиріння з наступним вірогідним збільшенням через 21 добу експерименту проти даних контролю і показників дослідної групи № 1 ($p < 0,05$) (табл.).

Процес ПОЛ відбувається за ланцюговим механізмом. Обов'язковою його умовою є наявність у системі вільних радикалів, які являють собою молекули або фрагменти

Таблиця – Показники пероксидного окиснення ліпідів щурів за умови дієтіндукованого ожиріння ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=6)	Дослідна група № 1 (n=6)	Дослідна група № 2 (n=6)
1	2	3	4
Супернатант гемолізатів еритроцитів			
ДК, мкмоль/дц ³	2,63±0,09	3,03±0,09	4,25±0,23 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/дц ³	7,15±0,53	8,96±0,15	12,08±0,61 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Плазма крові			
ДК, мкмоль/дц ³	1,78±0,10	1,69±0,12	3,38±0,11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/дц ³	2,33±0,13	2,60±0,12	5,13±0,14 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Гомогенат печінки			
ДК, мкмоль/г тканини	2,40±0,15	2,66±0,10	4,54±0,30 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/г тканини	4,41±0,14	4,75±0,13	6,23±0,17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

1	2	3	4
Гомогенат жирової тканини			
ДК, мкмоль/г тканини	5,40±0,40	7,02±0,14 $p_1 < 0,05$	9,80±0,22 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/г тканини	7,74±0,12	8,79±0,11	11,13±0,17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітки:

1. p_1 – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами.
2. p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

молекул з неспареним електроном і мають високу хімічну активність. Відомо, що у фізіологічно повноцінній клітині АМО утворюються постійно у невеликій кількості, які клітина інактивує за допомогою антиоксидантної системи. За умови досліджуваного нами експериментального дієтіндукованого ожиріння АМО моноцитів (макрофагів) перевищують захисні можливості клітини, що проявляється достовірним зростанням їх рівня в обох дослідних групах у всіх біологічних рідинах стосовно контролю, при цьому показники дослідної групи № 2 були більшими від показників групи № 1 ($p < 0,05$)

(рис.). Потрібно відмітити, що при надмірній масі тіла (через 14 днів спостереження) найбільшим джерелом АМО виступає жирова тканина. Надмірний потік нутрієнтів в адипоцитах зумовлює порушення внутрішньоклітинного енергетичного балансу в бік збільшення надходження енергії, що компенсується, згідно з даними С. Bouchard та співавт., підвищенням оксидативних процесів і витрачанням, таким чином, надлишку енергії [13]. Граничне напруження клітинної ферментної архітекτονіки при дієтіндукованому ожирінні призводить до оксидативного стресу.

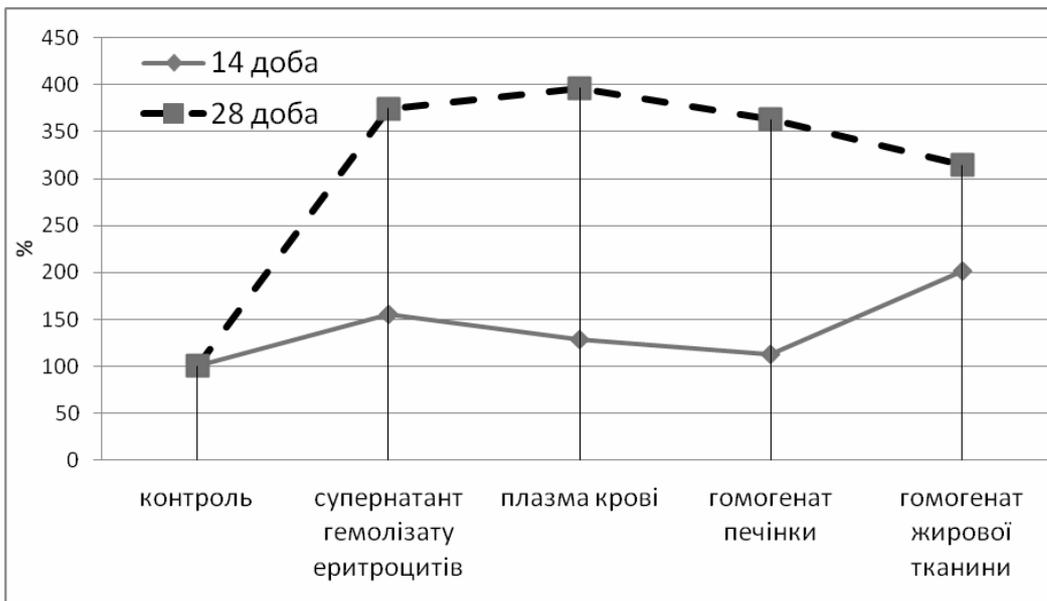


Рис. 1. Динаміка рівня вільних радикалів за умови дієтіндукованого ожиріння в щурів.

ВИСНОВКИ. 1. Активація пероксидного окиснення ліпідів у щурів за умови дієтіндукованого ожиріння проявляється вірогідним збільшенням дієнових кон'югатів і продуктів тіобарбітурової кислоти в крові, гомогенаті печінки і жировій тканині проти даних контролю ($p < 0,05$).

2. За умови експериментального дієтіндукованого ожиріння активні метаболіти кисню перевищують захисні можливості клітини, що проявляється достовірним зростанням їх рівня в усіх біологічних рідинах стосовно контролю, при цьому найбільшим джерелом кисневих радикалів при надмірній масі тіла є жирова тканина.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волосовець О. П. Патогенетична роль оксиду азоту та ендотеліальної дисфункції в розвитку захворювань серцево-судинної системи у дітей / О. П. Волосовець, С. П. Кривоустов, Т. С. Мороз // Здоровье ребенка. – 2007. – № 2 (5). – Режим доступу : <http://www.mif-ua.com/archive/article/716>.
2. Кисеньзалежні функції фагоцитів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Є. М. Нейко, П. Р. Герич, М. М. Островський, Л. М. Томащук // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 1. – С. 100–104.
3. Кіхтяк О. П. Механізми розвитку інсулінорезистентності та її мішені / О. П. Кіхтяк // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 5 (97). – Режим доступу : <http://www.umj.com.ua/article/65455/mexanizmi-rozvitku-insulinorezistentnosti-ta-ii-misheni>.
4. Леоненко Н. С. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків в організмі щурів при дії метсульфурон-метилу в малих дозах [Електронний ресурс] / Н. С. Леоненко. – Режим доступу : http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2005/05_4_9.htm.
5. Федорова Т. Н. Реакции с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида крови методом флюориметрии / Т. Н. Федорова, Т. С. Коршунова, Э. Г. Ларский // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 25–28.
6. Barquera S. Obesidad: La epidemia mundial. / S. Barquera, L. Tolentino, J. Rivera // Instituto Nacional de Salud Publica: Mexico. – Mexico, 2006.
7. Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – **287**, № 25. – P. 20922–20930.
8. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding / S. P. Weisberg, D. Hunter, R. Huber [et al.] // J. Clin. Invest. – 2006. – **116** (1). – P. 115–124.
9. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidacyn and oxidative stress in women / F. Amirkhizi, F. Siassi, S. Minaie [et al.] // ARYA Atheroscler. J. – 2007. – **2**. – P. 189–192.
10. Leptin and hypertension in obesity / P. Bravo, S. Morse, D. Borne [et al.] // Vasc. Health Risk Manage. – 2006. – № 2. – P. 163–169.
11. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation // World Health Organ. Tech. Rep. Ser. – 2000. – **894**. – P. 1–253.
12. Sikaris K. The clinical biochemistry of obesity / K. Sikaris // Clin. Biochem. Rev. – 2004. – **25**. – P. 165–181.
13. The response to long-term overfeeding in identical twins / Bouchard C., Tremblay A., Despres J. P. [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1990. – **322** (21). – P. 1477–1482.

И. В. Антонишин, М. И. Марущак, О. В. Денефиль

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИЕТИНДУЦИРОВАННОМ АЛИМЕНТАРНОМ ОЖИРЕНИИ

Резюме

В статье приведены результаты исследования пероксидного окисления липидов у крыс на модели диетиндуцированного ожирения. Установлено повышение содержания диеновых конъюгатов и продуктов тиобарбитуровой кислоты в крови, гомогенате печени и жировой ткани против данных контроля ($p < 0,05$). При этом выявлено, что запускают процессы пероксидного окисления липидов активные метаболиты кислорода, уровень которых значительно возрастает относительно контроля, а крупнейшим источником кислородных радикалов при избыточной массе тела выступает жировая ткань.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальное ожирение, пероксидное окисление липидов.

I. V. Antonyshyn, M. I. Marushchak, O. V. Denefil
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

LIPID PEROXIDATION STATUS IN EXPERIMENTAL DIET-INDUCED ALIMENTARY OBESITY

Summary

The results of the study of lipid peroxidation in rat model of diet-induced obesity was demonstrated. The increase of content of diene conjugates and products of thiobarbituric acid were observed in the blood, liver homogenate and adipose tissue compared with control data ($p < 0.05$). It was established that the process of lipid peroxidation initiated by reactive oxygen metabolites, the level of which increases significantly on the control group and the adipose tissue is greatest source of oxygen radicals in overweight.

KEY WORDS: **experimental obesity, lipid peroxidation.**

Отримано 17.07.14

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

ОСОБЛИВОСТІ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗНОЇ І Н⁺-АТФ-АЗНОЇ АКТИВНОСТІ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ 2,4-ДИНІТРОФЕНОЛОМ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ МЕЛАТОНІНОМ

У досліджах на 36 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях встановлено суттєве зниження сукцинатдегідрогеназної та Н⁺-АТФ-азної активності в мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-динітрофенолу, що свідчить про розвиток енергодефіцитного стану організму. Застосування мелатоніну викликало підвищення активності сукцинатдегідрогенази та нормалізацію Н⁺-АТФ-азної активності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нирки, окиснювальний стрес, сукцинатдегідрогеназа, Н⁺-АТФ-аза, 2,4-динітрофенол, мелатонін.

ВСТУП. Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) – один із найважливіших ферментів енергетичного обміну. СДГ є компонентом ІІ комплексу дихального ланцюга мітохондрій, який переносить водень від сукцинату на КоQ без участі NAD⁺, внаслідок чого забезпечує додатковий шлях надходження електронів у дихальний ланцюг мітохондрій і виконує компенсаторну функцію в енергозабезпеченні клітин у разі порушення NAD-залежного дихання [1, 5, 9].

Ключовим ферментом, що забезпечує спряження роботи дихального ланцюга та синтезу основних макроергічних сполук клітини – АТФ, є Н⁺-АТФ-аза, розташована у внутрішній мембрані мітохондрій [6, 11].

Мітохондрії продукують енергію АТФ за спряження протонного градієнта, який генерується при роботі дихального ланцюга, з фосфорилуванням ADP під дією F₀F₁-синтази [8, 12]. По дихальному ланцюгу передаються електрони від відновленого субстрату до кисню, а протони під дією різниці окисно-відновного потенціалу переносяться через внутрішню мембрану мітохондрій. Таким чином відбувається стабілізація градієнта протонного електрохімічного потенціалу, який з участю Н⁺-АТФ-ази запускає синтез АТФ [9, 13].

АТФ-аза мітохондрій може функціонувати як АТФ-синтаза або АТФ-гідролаза. Напрямок дії ферменту залежить від зміни балансу між рівнем електрохімічного градієнта протонів, що встановлює величину вільної енергії транслокації протонів через мембрану за градієнтом

© М. В. Дікал, Є. О. Ференчук, 2014.

і співвідношенням АТФ до ADP+P_i та визначає величину вільної енергії синтезу АТФ. Ми визначали гідролізу активність Н⁺-АТФ-синтази. Окисно-відновні реакції, які каталізуються І, ІІ та ІІІ комплексами дихального ланцюга мітохондрій, спряжені з генерацією Δμ_{H⁺}, і Н⁺-АТФ-аза використовує енергію Δμ_{H⁺} для забезпечення функціонування клітин.

Ефективна реалізація роботи нирок супроводжується затратами енергії, що вказує на необхідність повноцінного функціонування системи енергозабезпечення мітохондрій нефроцитів при патології. Ферментативну активність компонентів дихального ланцюга нефроцитів тварин, яким вводили 2,4-динітрофенол (2,4-ДНФ), вивчено недостатньо, тому метою роботи було з'ясувати вплив мелатоніну на стан системи енергозабезпечення нефроцитів при введенні 2,4-ДНФ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 36 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 0,16–0,20 кг, які перебували в умовах віварію зі сталим температурним та світловим режимами. Їх поділили на три групи: 1-ша – контрольна група тварин; 2-га – тварини, в яких моделювали токсичне ураження шляхом внутрішньочеревного введення 0,1 % розчину 2,4-ДНФ у дозі 3 мг/кг одноразово; 3-тя – тварини, яким на фоні моделювання токсичного ураження 2,4-ДНФ для корекції вводили мелатонін ("Sigma", США) з розрахунку 3 мг/кг маси тіла. Через 2 год після навантаження проводили евтаназію щурів шляхом

декапітації під легким ефірним наркозом відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄЕС). Мітохондріальну фракцію отримували методом диференційного центрифугування [3]. Активність СДГ визначали за інтенсивністю відновлення калію фериціаніду [4], H^+ -АТФ-азну активність – за накопиченням неорганічного фосфату [2], вміст білка – за методом Лоурі [10]. Отримані цифрові дані опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що в групі тварин, яким

уводили 2,4-ДНФ, суттєво знижувалась сукцинатдегідрогеназна (рис. 1) та H^+ -АТФ-азна (рис. 2) активність, що можна пояснити дією 2,4-ДНФ як класичного роз'єднувача процесів окиснення і фосфорилування [1, 5, 7].

Зміни енергетичного забезпечення нирок внаслідок зниження активності H^+ -АТФ-ази, ймовірно, викликані зміною трансмембранного потенціалу H^+ і порушенням функціонування спряженої системи окиснювального фосфорилування мітохондрій дихального ланцюга клітин, що свідчить про розвиток енергодефіцитного стану організму.

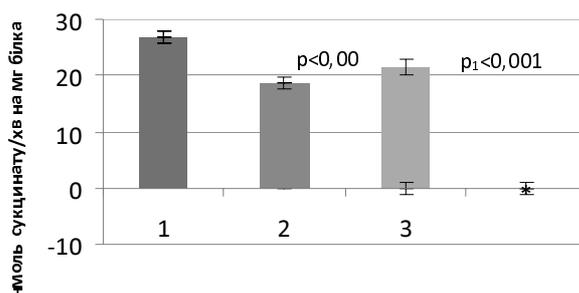


Рис. 1. Активність СДГ у мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-ДНФ та мелатоніну (%): 1 – контроль; 2 – уведення 2,4-ДНФ; 3 – уведення мелатоніну; p – достовірність відмінностей порівняно з контролем.

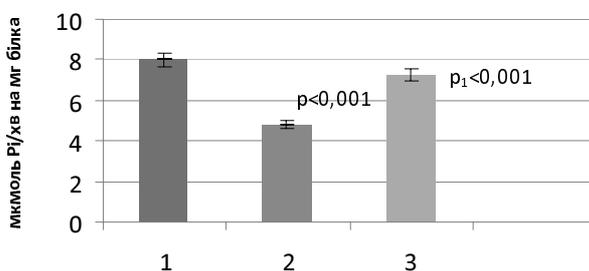


Рис. 2. Активність H^+ -АТФ-ази в мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-ДНФ та мелатоніну (%): 1 – контроль; 2 – уведення 2,4-ДНФ; 3 – уведення мелатоніну; p – достовірність відмінностей порівняно з контролем.

Уведення мелатоніну викликало зростання активності СДГ. Разом з тим, її рівень залишався нижчим порівняно з активністю ферменту в групі контрольних тварин. Посилення окиснення сукцинату спричиняло генерацію різниці потенціалів на мембрані мітохондрій та дозволяло прискорити енергозабезпечення клітин і підтримати їх функціонування за умов впливу пошкоджувального фактора. Зростання H^+ -АТФ-азної активності за умов уведення мелатоніну можна розглядати як формування компенсаторно-приспосувального процесу підтримки мембранного потенціалу.

Встановлені зміни ферментативної активності вказують на порушення спряженості функціонування дихального ланцюга мітохондрій і є адаптивною реакцією на зниження електрохімічного потенціалу внутрішніх мітохондріальних мембран нефроцитів.

ВИСНОВКИ. 1. Уведення 2,4-динітрофенолу дослідній групі тварин призвело до пошкодження мітохондрій та пригнічення окиснення субстратів циклу трикарбонних кислот, порушення транспорту електронів дихальним ланцюгом, роз'єднання процесів дихання і

фосфорилування, зниження сукцинатдегідрогеназної активності й зменшення трансмембранного потенціалу з активацією H^+ -АТФ-ази та, як наслідок, зниження компенсаторного потенціалу системи енергозабезпечення.

2. Корекція мелатоніном викликала підвищення активності сукцинатдегідрогенази та

нормалізацію H^+ -АТФ-азної активності, оскільки мелатонін є донором електронів, забезпечує захист білкових молекул від окиснювальних пошкоджень, бере участь у захисті організму від окиснювального стресу, зв'язує вільні радикали та пришвидшує дію ферментів антиоксидантної системи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив 2,4-динітрофенолу на дихальну активність та вміст АТФ у печінці щурів після гіпотермічного зберігання та наступної реперфузії / Д. В. Черкашина, О. М. Ткачова, О. Ю. Сомов [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2008. – **80**, № 2. – С. 101–105.

2. Габибов М. М. Влияние гипербарической оксигенации на активность протонной АТФ-азы митохондрий различных тканей крыс / М. М. Габибов // Укр. биохим. журн. – 1986. – **58**, № 5. – С. 81–83.

3. Егорова М. В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы / М. В. Егорова, С. А. Афанасьев // Сиб. мед. журн. – 2011. – **26**, № 1, вып. 1. – С. 22–28.

4. Ещенко Н. Д. Методы биохимических исследований / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский, М. И. Прохорова. – Л. : ЛГУ, 1982. – С. 210–212.

5. Роговий Ю. Є. Окисномодифіковані білки у нирках та печінці при інтоксикації 2,4-динітрофенолом та дії мелатоніну в експерименті / Ю. Є. Роговий, В. В. Белявський, М. В. Дікал // Клін. анат. та опер. хірургія. – 2011. – **10**, № 3. – С. 18–21.

6. Dinitrophenol, cyclosporin A, and trimetazidine modulate preconditioning in the isolated rat heart: support for a mitochondrial role in cardioprotection / Jan Minners, Ewout J. van den Bos, Derek M. Yellon

[et al.] // Cardiovascular Research. – 2000. – **47**. – P. 68–73.

7. Dryer S. E. Enhancement of Mitochondrial, Cyanide-resistant Superoxide Dismutase in the Livers of Rats Treated with 2,4-Dinitrophenol / S. E. Dryer, R. L. Dryer, A. P. Autor // J. Biol. Chem. – 1980. – **255**. – P.1054–1057.

8. Faccenda D. Molecular Regulation of the Mitochondrial F_1F_0 -ATP synthase: Physiological and Pathological Significance of the Inhibitory Factor 1 (IF1) / D. Faccenda, M. Campanella // Int. J. Cell Biol. – 2012. – **40**, № 12. – P. 2698–2701.

9. Hajjawi O. S. Succinate Dehydrogenase: Assembly, Regulation and Role in Human Disease / O. S. Hajjawi // Eu. J. Sc. Res. – 2011. – **51**, № 1. – P. 133–142.

10. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, – № 1. – P. 2.

11. Tielens A. G. M. Mitochondria as we don't know them / A. G. M. Tielens // Trends in Biochem. Sciences. – 2002. – **27**, № 11. – P. 564–572.

12. Weber J. ATP synthesis driven by proton transport in F_1F_0 -ATP synthase / J. Weber, E. Alan // FEBS Letters. – 2003. – № 545. – P. 61–70.

13. Yoshida M. ATP synthase – a marvellous rotary engine of the cell / M. Yoshida, E. Muneyuki, T. Hisabori // Nature. – 2001. – **2**. – P. 669–678.

М. В. Дікал, Е. А. Ференчук

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

ОСОБЕННОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ И H^+ -АТФ-АЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ПОЧКАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ 2,4-ДИНИТРОФЕНОЛОМ И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ

Резюме

В опытах на 36 белых нелинейных половозрелых крысах-самцах установлено существенное снижение сукцинатдегидрогеназной и H^+ -АТФ-азной активности в митохондриях почек в условиях введения 2,4-динитрофенола, что свидетельствует о развитии энергодефицитного состояния организма. Применение мелатонина вызвало повышение активности сукцинатдегидрогеназы и нормализацию H^+ -АТФ-азной активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: почки, окислительный стресс, сукцинатдегидрогеназа, H^+ -АТФ-аза, 2,4-динитрофенол, мелатонин.

**PECULIARITIES OF SUCCINATE DEHYDROGENASE AND H⁺-ATPASE, ACTIVITY
IN THE KIDNEYS OF RATS WHEN INTOXICATED WITH 2,4-DINITROPHENOL
AND THE CORRECTION OF MELATONIN**

Summary

The influence of oxidative phosphorylation uncoupler 2,4-dinitrophenol on 36 albino non-linear male rat succinate dehydrogenase and H⁺-ATP-ase activity in the kidneys was investigated. 2,4-dinitrophenol led to decrease of activity of the investigated enzymes as compared with the control. The use of melatonin resulted in improvement of mitochondrial functional state, was registered increase of succinate dehydrogenase activity and normalization of H⁺-ATP-ase activity.

KEY WORDS: kidneys, oxidative stress, succinate dehydrogenase, H⁺-ATP-ase, 2,4-dinitrophenol, melatonin.

Отримано 21.07.14

Адреса для листування: М. В. Дікал, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.

А. О. Безкоровайний^{1,2}, А. Р. Зинь², Н. П. Гарасим¹, Д. І. Санагурський¹
 ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА¹
 НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ЕКСПЕРТНО-КРИМІНАЛІСТИЧНИЙ ЦЕНТР
 ПРИ ГУМВС УКРАЇНИ У ЛЬВІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ²

ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ ЯЙЦЕКЛІТИНИ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L.

У статті наведено дані про роль ліпідів у клітинах, в тому числі яйцеклітинах, в'юна, їх вплив на запліднення і ранній розвиток організмів. Описано методи вивчення ліпідного профілю яйцеклітини в'юна *Misgurnus fossilis* L., аналіз отриманих даних за допомогою хромато-мас-спектрометрії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: в'юн, яйцеклітина, ліпідний профіль, мас-спектрометрія.

ВСТУП. Ліпідний метаболізм відіграє важливу роль у регуляції шляхів диференціювання клітини. Ліпідний склад яйцеклітини має важливе значення для подальшого розвитку організму, оскільки вони відіграють вагомий роль у злитті мембран сперматозоїда та яйцеклітини, акросомній реакції, впливають на мітогенез (*MAPK-kinase*), проліферацію, диференціацію, міграцію клітин, фолдинг білка, апоптоз [5–9]. Розташування ліпідів у компартментах клітини відповідає за їх функції в міжклітинній та внутрішньоклітинній сигналізації. Ліпіди мембран здатні організовуватись у рафти – маленькі гетерогенні та дуже динамічні ліпідні кластери (10–200 нм), збагачені холестерином і фосфоліпідами, які беруть участь у клітинній компартменталізації.

На прикладі голкошкірих, шпорцевої жаби *Xenopus laevis*, прісноводної риби *Danio rerio*, мишей показано, що вилучення з мембран яйцеклітини холестеролу та фосфоліпідних рафтових компонентів призводить до втрати здатності запліднюватись [6–9].

Метою роботи було дослідження ліпідного складу яйцеклітини в'юна *Misgurnus fossilis* L., яке необхідне для отримання цільового уявлення про метаболічний профіль зародкових організмів, що пов'язано з ускладненням останнього впродовж розвитку зародків.

З'ясування ролі процесу змін ліпідного профілю яйцеклітини дозволить створити ряд нових підходів щодо профілактики, діагностування та лікування різних захворювань, підвищення рівня запліднення різного типу яйцеклітин і покращення якості імплантації зародків.

© А. О. Безкоровайний, А. Р. Зинь, Н. П. Гарасим, Д. І. Санагурський, 2014.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом наших досліджень були яйцеклітини прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. В'юн є адекватною тест-системою при дослідженні ряду проблем сучасної біології розвитку, що можна пояснити короткою тривалістю періоду ембріогенезу, легкістю отримання статевих продуктів і відсутністю труднощів в утримуванні цих риб у лабораторних умовах [1, 2, 4].

Для експерименту використовували десять самок в'юна середньою довжиною тіла (19,0±3,0) см, дослідження з якими проводили за загальноприйнятими методиками [1, 3, 4]. Загальне ліпідне екстрагування з яйцеклітин здійснювали відповідно до модифікованої методики Блайя та Даєра [5]. Розділення та ідентифікацію ліпідних компонентів проводили на системі хромато-мас-спектрометрії фірми "Agilent Technologies", яка складається з газового хроматографа 6890N та мас-селективного детектора 5975B. Умови хроматографічного розділення: колонка капілярна HP-5 ms довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм; фаза – 0,25 мкм.

Відносний процентний вміст кожного компонента розраховували шляхом порівняння його середньої площі піку із загальною площею. Ідентифікацію продуктів проводили з порівнянням каталогів мас-спектрів Wiley та NIST 2008, за допомогою програми AMDIS.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При проведенні досліджень ми отримали характерні фрагменти, а також молекулярні іони 86, 124, 184, 284 m/z для фосфатидилхоліну (m/z – співвідношення між масою даного іона та числом елементарних зарядів, що він несе).

Гліцеровий хвіст в основному фрагментований до моноацилгліцеролу та діацигліцеролу в діапазоні мас 300–500 m/z. Показано високий процентний вміст фосфатидилхоліну (табл.). Це узгоджується з дослідженнями на *Xenopus leavis* та *Danio rerio* [7, 8] і пояснюється тим, що фосфатидилхолін виступає субстратом для утворення ряду біологічно активних речовин, зокрема фосфатидної кислоти та холіну. Він є прекурсором для синтезу нових фосфоліпідів. Менша кількість фосфатидилетаноламіну (табл.) з характерними іонними піками 124 та 142 m/z і фосфатидилсерину з піками 87, 185 m/z збігається з дослідженнями, проведеними на яйцеклітинах *Danio rerio* [7], що можна пояснити зростанням їх кількості в ранньому ембріогенезі, де вони відіграють важливу роль у поділі клітини та фолдингу білків. Фосфатидилінозитол фрагментацією іонів 241 і 277 m/z характеризує на хроматограмі піки циклічного шестиатомного спирту інозитулу та його похідних фосфоіно-

зитулу. Згідно з літературними даними, фосфатидилінозитол в яйцеклітинах шпорцевої жаби є також у невеликій кількості [8], його вміст зростає протягом часу запліднення. Це пояснюють розщепленням фосфатидилінозитулу в момент запліднення та активацією Ca²⁺ [8]. Гліцеровий хвіст в основному фрагментований до моноацилгліцеролу та діацигліцеролу в діапазоні мас 300–500 m/z. Високий вміст діацигліцерових залишків (табл.) пов'язують з його важливою роллю в процесах злиття мембрани сперматозоїда та яйцеклітини і біосинтезі фосфоліпідів [8, 9]. До складу моноацилгліцеролів та діацигліцеролів входять суміші насичених і ненасичених жирних кислот з довжиною вуглеводневого ланцюга C4-C16. Холестерол – один із важливих ліпідів, є прекурсором у синтезі ряду гормонів і вітаміну D, стабілізує пружність мембрани та модулює її компартментізацію. Він ідентифікувався характерними іонними піками 369 та 386 m/z.

Таблиця – Процентний вміст основних ліпідних компонентів яйцеклітин

№	Ліпідний клас	Вміст, %
1	Моноацигліцериди	22,0
2	Діацигліцериди	32,0
3	Фосфатидилхолін	11,0
4	Фосфатидилетаноламін	4,6
5	Фосфатидилінозитол	2,4
6	Фосфатидилсерин	2,3
7	Лізофосфатидилхолін	0,7
8	Холестерол	25

ВИСНОВКИ. Ліпідний профіль яйцеклітини в'юна характеризується високим рівнем фосфатидилхоліну та холестеролу. Виявлено також високий вміст діацигліцерових залишків в яйцеклітинах в'юна, які відіграють важливу роль у процесах злиття мембрани яйцеклітини та сперматозоїда, стимулювання активності фосфоліпази. Вони є важливими

метаболітами в процесах біосинтезу фосфоліпідів. Вивчення ліпідних профілів яйцеклітин та, в подальшому, зародків на ранніх етапах розвитку дозволить розробити нові аналітичні методи дослідження молекулярних процесів раннього ембріогенезу та покращення запліднення різного типу яйцеклітин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гойда Е. А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных / Е. А. Гойда. – К. : Наук. думка, 1993. – 224 с.
2. Зинь А. Р. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах / А. Р. Зинь // Вісник Львівського ун-ту. Серія біол. – 2012. – Вип. 60. – С. 21–39.
3. Нейфах А. А. Молекулярная биология процессов развития / А. А. Нейфах. – М. : Наука, 1977. – 311 с.

4. Санагурський Д. І. Об'єкти біофізики : монографія / Д. І. Санагурський. – Львів : ЛНУ ім. Івана Франка, 2008. – 522 с.
5. A rapid method of total lipid extraction and purification / E. C. Bligh, W. J. Dyer // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1959. – **37**. – P. 913 – 917.
6. Lipid Rafts: Keys to Sperm Maturation, Fertilization, and Early Embryogenesis / N. Kawano, K. Yoshida,

K. Miyado [et al.] // Journal of Lipids. – 2011. – **125**. – P. 10–15.

7. Metabolomics of develop in zebrafish embryos using gas chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry / S.-M. Huang, F. Xua, S. H. Lamb [et al.] // Mol. Biosyst. – 2013. – **9**. – P. 1372–1380.

8. Petcoff D. W. Lipid levels in sperm, eggs, and during fertilization in *Xenopus laevis* / D. W. Petcoff, W. L. Holland, B. J. Stith // Journal of Lipid Research. – 2008. – **49**. – P. 2365–2378.

9. Single embryo and oocyte lipid fingerprinting by mass spectrometry / Ferreira C. R., Saraiva S. A., Catharino R. R. [et al.] // J. Lipid Res. – 2010. – **51**. – P. 1218–1227.

А. О. Безкоровайный^{1,2}, А. Р. Зынь², Н. П. Гарасим¹, Д. И. Санагурский¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ФРАНКО¹
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЭКСПЕРТНО-КРИМИНАЛИСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ПРИ ГУМВД УКРАИНЫ ВО ЛьВОВСКОЙ ОБЛАСТИ²

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ЯЙЦЕКЛЕТКИ ВЬЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L.

Резюме

В статье приведены данные о роли липидов в клетках, в том числе яйцеклетках, вьюна, их влиянии на оплодотворение и раннее развитие организмов. Описаны методы изучения липидного профиля яйцеклетки вьюна *Misgurnus fossilis* L., анализ полученных данных с помощью хромато-масс-спектрометрии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вьюн, яйцеклетка, липидный профиль, масс-спектрометрия.

A. O. Bezkorovayny^{1,2}, A. R. Zyn², N. P. Harasym¹, D. I. Sanahursky¹
IVAN FRANKO LVIV NATIONAL UNIVERSITY¹
SCIENCE AND RESEARCH FORENSIC EXPERT CENTER AT THE MINISTRY OF INTERNAL AFFAIRS OF
UKRAINE IN LVIV REGION²

LIPID LEVEL OF LOACH *MISGURNUS FOSSILIS* L. EGG

Summary

The article presents data on the lipids role in cells including eggs loach, their effects on fertilization and early development of organisms. Methods for lipids studding loach *Misgurnus fossilis* L.egg, analysis of the data using chromatography-mass spectrometry.

KEY WORDS: loach, egg, lipid level, mass spectrometry.

Отримано 08.07.14

Адреса для листування: А. О. Безкоровайний, Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Університетська, 1, Львів, 79000, Україна.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ПОСЕДНАНОЇ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І РАУНДАПУ

У статті розглянуто вплив купрум сульфату, плюмбум ацетату та гліфосату на стан показників білкового обміну в тварин різного віку. Установлено, що за дії ксенобіотиків збільшується вміст молекул середньої маси, креатиніну, сечовини, залишкового азоту, білірубіну та знижується активність амінотрансфераз у плазмі крові щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: плюмбум ацетат, купрум сульфат, гліфосат, функціональний стан печінки, обмін білків, щури.

ВСТУП. У результаті промислової діяльності збільшується кількість токсичних речовин у навколишньому середовищі, що призводить до зростання захворювань населення [1–4].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, важкі метали – велика група ксенобіотиків, які характеризуються високою стійкістю в навколишньому середовищі й відомі людству як політропні токсини [15, 16].

В основі дії важких металів лежить блокування функціонально активних груп структурних білків і білків-ферментів, найбільше значення має блокування сульфгідрильних (тіолових) груп (SH). У результаті втрати білками багатьох фізико-хімічних і біологічних властивостей порушується обмін білків та інших речовин. Руйнується структура клітинних оболонок, що призводить до виходу з клітини багатьох елементів та речовин. Основними центрами токсичності сполук важких металів, у тому числі купруму і плюмбуму, є епітелій нирок, печінки, кишечника, еритроцитів і нервові клітини, де спостерігають підвищену концентрацію цих речовин [12, 14].

Ще одним джерелом токсичного впливу на організм людини є фосфорорганічні сполуки (ФОС), які досить широко застосовують у сільському господарстві, промисловості та медицині. Фосфорорганічні сполуки – речовини з різною токсичністю для людини. Більшість ФОС не стійкі в зовнішньому середовищі, розпадаються протягом 1–2 місяців. Гранично допустима концентрація для різних ФОС коливається від 0,02 до 0,5 мг/м³. Отруєння може настати

в результаті вдихання парів ФОС і їх проникнення через травний тракт та шкіру. Проникнення ФОС крізь шкіру зумовлене тим, що вони добре розчиняються в жирах і ліпоїдах. Більшість представників цієї групи токсичних речовин, потрапивши на шкіру, не залишають слідів, не спричинюють місцевої подразнювальної дії, тому отруєння вчасно може бути не виявлене. При хронічному впливі на організм людини ФОС має ефект функціональної кумуляції.

Інактивація більшості ФОС в організмі проходить шляхом гідролізу або хімічної взаємодії з білками протягом доби. В результаті окиснення утворюються активніші метаболіти порівняно з тими, що потрапляють в організм. Це сприяє посиленню їх токсичного ефекту. До цієї групи сполук належить гліфосат (N-(фосфометил)гліцин) – неселективний гербіцид системної дії, який вважають малотоксичним. Однак існують дані, що він, як і всі фосфорорганічні сполуки, впливає на нервову та серцево-судинну системи, інактивує ферменти [4, 7, 15].

Зважаючи на вищесказане, метою даної роботи було дослідити зміни показників функціонального стану печінки в щурів різних вікових груп, уражених купрум сульфатом, плюмбум ацетатом та фосфорорганічним пестицидом – раундапом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою вивчення функціонального стану печінки за ураження важкими металами та гліфосатом було проведено дослідження на лабораторних нелінійних білих щурах-самцях трьох вікових груп: статевонезрілих (молодих масою 70–90 г і віком 2–3 міс.), статевозрілих (середніх масою 170–

210 г і віком 5–8 міс.) та старих (масою 250–300 г і віком 20–24 міс.). Вік щурів визначали за схемою [9]. Отруювали тварин упродовж 30 днів шляхом щоденного перорального введення водних розчинів плюмбум ацетату в дозі 11 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), купрум сульфату в дозі 13 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), гліфосату (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$). Інтактним тваринам вводили питну водопровідну дехлоровану воду. Всі піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні (контрольні); 2-га – уражені купрум сульфатом; 3-тя – уражені плюмбум ацетатом; 4-та – уражені гліфосатом (раундапом); 5-та – одночасне ураження тварин усіма вищеперерахованими токсикантами. На 1-шу добу після 30-денного ураження тварин виводили з експерименту за умов тіопенталонатрієвого наркозу. Вплив токсикантів на зміни показників функціонального стану печінки та білкового обміну в організмі уражених щурів оцінювали за активністю аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), рівнем білірубину, креатиніну, сечовини, загального білка, залишкового азоту [5], молекул середньої маси (МСМ) [10]. Отриманий нами цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента [8]. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

Під час проведення досліджень усі щури перебували у виварії з підтриманням постійної

температури та вологості. Усі експерименти на тваринах проводили відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що отруєння важкими металами та іншими ксенобіотиками супроводжується генерацією активних форм кисню, пероксидною модифікацією молекул і виснаженням системи антиоксидантного захисту організму, що призводить до зростання проникності мембран клітин та органел, виходом у позаклітинний простір органоспецифічних ферментів [17].

Як показали наші дослідження (табл. 1–3), за дії купрум сульфату, плюмбум ацетату, гліфосату та їх поєднання спостерігали істотні зміни активності амінотрансфераз у сироватці крові уражених щурів. Найбільш виражене зростання активності цих ферментів відмічено в щурів 3-місячного віку. Так, ферментна активність АлАТ у крові становила за дії купрум сульфату 164 %, плюмбум ацетату – 184 %, гліфосату – 276 %, їх комбінованої дії – 428 % від рівня контролю (інтактні тварини). Це можна пояснити тим, що кількість ферменту, яка потрапляє з гепатоцитів у позаклітинний простір, збільшується в плазмі крові.

Подібно змінювалась активність АсАТ, яка за комбінованої дії купрум сульфату, плюмбум ацетату і раундапу в плазмі крові тварин 3-, 6- і 24-місячного віку зростає в 2,6; 2,7; 2,1 рази від рівня контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 1 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в ставевонезрілих щурів, уражених плюмбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	6,18±0,17	6,60±0,31	11,36±0,27*	6,71±0,22	12,03±0,37*
Загальний білок, г/л	80,42±2,89	69,59±1,49*	52,07±1,64*	64,36±2,16*	47,08±1,89*
МСМ ₁ ум. од.	0,30±0,01	0,31±0,01*	0,46±0,01*	0,38±0,01*	0,53±0,01*
МСМ ₂ ум. од.	0,040±0,002	0,057±0,002*	0,090±0,005*	0,078±0,004*	0,108±0,003*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	3,59±0,24	5,88±0,28*	6,62±0,33*	9,92±0,29*	15,39±0,25*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	3,89±0,22	7,69±0,31*	10,71±0,24*	8,83±0,29*	11,53±0,25*
Залишковий азот, ммоль/л	19,31±0,96	23,69±1,13*	27,35±0,97*	25,88±1,37*	36,90±0,91*
Креатинін, ммоль/л	10,52±0,23	12,90±0,35*	15,69±0,51*	12,30±0,28*	19,25±0,66*
Загальний білірубін, мкмоль/л	9,74±0,52	12,74±0,61*	16,19±0,49*	13,56±0,55*	25,35±0,89*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – зміни достовірні відносно інтактних тварин ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в статевозрілих щурів, уражених плумбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	6,84±0,16	5,34±0,23*	4,61±0,24*	5,72±0,26*	4,00±0,34*
Загальний білок, г/л	73,18±2,55	69,91±3,15	51,50±2,90*	52,59±1,93*	49,08±1,44*
MCM ₁ , ум. од.	0,38±0,01	0,43±0,01*	0,47±0,01*	0,42±0,01*	0,58±0,01*
MCM ₂ , ум. од.	0,055±0,007	0,074±0,011*	0,086±0,005*	0,074±0,005*	0,095±0,005*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	4,81±0,33	12,53±0,65*	15,62±0,75*	10,77±0,66*	17,34±0,88*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	5,63±0,59	8,31±0,61*	11,39±0,55*	9,58±0,78*	15,28±0,84*
Залишковий азот, ммоль/л	21,17±0,86	26,66±1,19*	29,20±1,02*	31,91±1,19*	34,76±0,95*
Креатинін, ммоль/л	9,10±0,41	12,98±0,53*	15,07±0,53*	11,68±0,48*	16,90±0,36*
Загальний білірубін, мкмоль/л	11,12±0,49	11,96±0,82	15,67±0,61*	11,68±0,72	20,08±0,86*

Таблиця 3 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в старих щурів, уражених плумбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	8,44±0,23	91,6±0,39	11,62±0,32*	9,84±0,34*	12,02±0,34*
Загальний білок, г/л	70,40±2,54	68,15±2,19	48,65±2,26*	61,40±1,92*	44,71±1,58*
MCM ₁ , ум. од.	0,38±0,01	0,44±0,01*	0,58±0,01*	0,52±0,01*	0,61±0,01*
MCM ₂ , ум. од.	0,134±0,009	0,243±0,012*	0,317±0,023*	0,262±0,018*	0,356±0,030*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	6,35±0,031	8,80±0,32*	4,95±0,20*	11,48±0,27*	15,60±0,27*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	6,75±0,25	8,87±0,22*	6,46±0,25	12,29±0,32*	14,50±0,35*
Залишковий азот, ммоль/л	29,00±1,07	32,33±0,70*	37,40±0,66*	34,15±0,77*	38,10±0,96*
Креатинін, ммоль/л	7,96±0,35	10,55±0,36*	13,12±0,58*	10,92±0,28*	14,62±0,55*
Загальний білірубін, мкмоль/л	12,82±0,66	15,72±0,78*	17,31±0,53*	15,28±0,84*	25,88±1,37*

Ще одним непрямим маркером фізіологічного стану печінки є рівень білірубину, що утворюється при розпаді гемоглобіну. За нормальних умов білірубін зв'язується в печінці, а потім виводиться з організму з жовчю через шлунково-кишковий тракт. Введення щурам солей купруму і плумбуму та раундапу викликало достовірне зростання вмісту загального білірубину в усіх піддослідних тварин. За комбінованої дії ксенобіотиків відмічали максимальне збільшення білірубину в 3-місячних тварин – (25,35±1,09) мкмоль/л, що на 260 % вище від показників інтактних щурів (табл. 1). Рівень білірубину в крові може підвищуватись при його

надмірному утворенні, зниженому поглинанні та зв'язуванні у печінці, а також зниженому виділенні при порушенні прохідності жовчних проток [11].

За дії ксенобіотиків спостерігали пригнічення функцій печінки, про що свідчили зростання вмісту в крові креатиніну, залишкового азоту та зменшення концентрації загального білка. Ці показники зазнали змін в усіх групах піддослідних тварин. Так, вміст білка за комбінованої дії купрум сульфату, плумбум ацетату і раундапу в тварин 3-, 6- і 24-місячного віку становив, відповідно, 59, 67 і 64 % від рівня контролю. Одночасно зі зменшенням вмісту білка зростала концентрація залишкового

азоту і креатиніну. За даної патології вміст залишкового азоту в плазмі крові уражених щурів 3-, 6- і 24-місячного віку складав, відповідно, 191,2, 164,2 % і 131,4 % від рівня контролю (інтактні тварини, $p < 0,05$).

Введення щурам плумбум ацетату, купрум сульфату та раундапу супроводжувалося синдромом ендогенної інтоксикації, на що вказувало зростання вмісту молекул середньої маси, які містять ланцюгові (MCM_1) та ароматичні амінокислоти (MCM_2). Максимальний вміст середньомолекулярних пептидів відмічено за комбінованого ураження ксенобіотиками у тварин усіх вікових груп (табл. 1–3). Так, у сироватці крові статевонезрілих тварин вміст MCM_1 збільшився в 1,8 раза, а в дорослих і старих – в 1,6 раза порівняно з інтактними щурами ($p < 0,05$). Аналогічних змін зазнав вміст

MCM_2 , що становив 270, 173 та 266 % від рівня контролю (інтактні тварини).

Отже, одержані дані, ймовірно, вказують на посилення катаболічних процесів та порушення проникності клітинних мембран, що супроводжується наростанням ендогенної інтоксикації організму.

ВИСНОВКИ. Інтоксикація впродовж 30 днів купрум сульфатом, плумбум ацетатом та гліфосатом у формі раундапу в допорогових дозах ($1/20 DL_{50}$) супроводжується порушенням білоксинтезувальної функції печінки. Підвищення вмісту білірубину, сечовини, залишкового азоту, креатиніну, MCM , зростання активності сироваткових амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) свідчать про наявність синдрому внутрішньопечінкового холестазу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабенко Г. А. Свинцевий токсикоз як універсальний патогенний фактор у формуванні хвороб / Г. А. Бабенко // Мед. газета. – 1994. – № 7. – С. 33–34.
2. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності. ДСанПіН 8.87.1.002. – К., 1998. – 181 с.
3. Гнатейко О. З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О. З. Гнатейко, Н. С. Лук'яненко // Здоровье ребенка. – 2007. – № 6 (9). – С. 82–87.
4. Доповнення до переліку пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Міністерство охорони навколишнього природного середовища. – К., 2009. – 304 с.
5. Камышникова В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. В. С. Камышникова. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.
6. Кожем'якіна Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робота з ними / Ю. М. Кожем'якіна, О. С. Хромова, М. А. Філоненко. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Кузнецова Е. М. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков / Е. М. Кузнецова, В. Д. Чмиль // Совр. пробл. токсикологии. – 2010. – № 1. – С. 87–95.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия / под ред. Г. Ф. Лакина. – М. : Высш. школа, 1990. – 352 с.
9. Махынко В. И. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс / В. И. Махынко, В. Н. Никитин // Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. – К., 1975. – С. 308–326.
10. Метод определения эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
11. Окремі біохімічні показники сироватки крові мишей з нокаутом гена *pttg* // О. П. Канюка, Є. З. Філяк, С. В. Афанасьєв, Н. О. Сибірна // Біологічні Студії. – 2011. – 5, № 3. – С. 41–48.
12. Свинец и его действие на организм (обзор литературы) / А. И. Корбакова, Н. С. Сорокина, Н. Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 29–34.
13. Ткач С. И. Профессиональная свинцовая интоксикация: патогенез, клиника, диагностика, лечение / С. И. Ткач, В. Н. Братусь // Вестник проблем биологии и медицины. – 1997. – № 5. – С. 13–23.
14. Ткаченко Т. А. Кислотно-лужный стан крови вагітних щурів за введення їм ацетату свинцю // Укр. біохім. журн. – 2008. – 80, № 5. – С. 112–116.
15. Трахтенберг И. М. Книга о ядах и отравлениях / И. М. Трахтенберг. – К. : Наукова думка, 2000. – 366 с.
16. Штабський Б. М. Обмін свинцю і завдання профілактичної та клінічної медицини / Б. М. Штабський, В. І. Федоренко // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2000. – № 2. – С. 109–111.
17. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD // P. Cales, F. Laine, J. Boursier [et al.] / J. of Hepatol. – 2007. – 50. – P. 165–170.

Я. И. Гонский, Е. Б. Дмухальска, Т. Я. Ярошенко
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РАУНДАПА

Резюме

В статье рассмотрено влияние сульфата меди, ацетата свинца и глифосата на состояние показателей белкового обмена у животных разного возраста. Установлено, что под действием ксенобиотиков увеличивается содержание молекул средней массы, креатинина, мочевины, остаточного азота, билирубина и снижается активность аминотрансфераз в плазме крови крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ацетат свинца, сульфат меди, глифосат, функциональное состояние печени, обмен белков, крысы.

Ya. I. Honsky, Ye. B. Dmukhalska, T. Ya. Yaroshenko
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOCHEMICAL INDICES OF LIVER FUNCTIONAL STATE BY THE COMBINED EFFECT OF HEAVY METAL SALTS AND ROUNDUP

Summary

The article it was research the effects of copper sulfate, lead acetate and glyphosate on the indicators of protein metabolism in animals of different age. It was discovered that these toxicants increase content of middle mass molecules (MMM), creatinine, urea, residual nitrogen, bilirubin and decrease activity of aminotransferase on blood plasma of affected rats.

KEY WORDS: lead acetate, copper sulfate, glyphosate, the functional state of the liver, protein metabolism, rats.

Отримано 03.07.14

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

ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КЛІТИННИХ ІНФІЛЬТРАТІВ ВЛАСНОЇ ПЛАСТИНКИ ЯСЕН ПРИ ПАРОДОНТИТІ

У статті наведено результати комплексного імуногістохімічного дослідження запальних інфільтратів власної пластинки ясен за умов ураження симптоматичним гінгівітом при пародонтиті. Отримані результати дають можливість умовної систематики пародонтиту за імуногістохімічним профілем.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, симптоматичний гінгівіт, загострення, інфільтрати, лімфоцити.

Робота є фрагментом проекту Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики (м. Полтава) "Роль запальних захворювань зубо-щелепного апарату в розвитку хвороб, пов'язаних із системним запаленням", номер державної реєстрації № 0112U0011538. Автор є співвиконавцем даного проекту.

ВСТУП. Відомо, що розвитку генералізованого пародонтиту сприяють різноманітні екзо- та ендогенні чинники і пускові механізми [1–3], однак співвідносну роль цих чинників вивчено недостатньо [5].

Крім того, існуючі на сьогодні погляди і концепції до кінця не пояснюють наявні відмінності в ідентифікації факторів ризику розвитку і прогресування захворювань пародонта, їх перебігу, неоднозначних результатах лікування за однакових умов. Відома у клініці різниця в темпах прогресування генералізованого пародонтиту у хворих, які отримали лікування за стандартними загальноприйнятими схемами, наводить на думку про біологічну гетерогенність даного захворювання та можливі комплексні його причини. У зв'язку з цим, особливого значення набувають дослідження, які будуть конкретизувати вплив на можливість розвитку та прогноз перебігу генералізованого пародонтиту. Тому вивчення зв'язку даної патології з імуногістохімічним профілем інфільтратів та генетично зумовлених чинників слід вважати перспективним [4].

Метою дослідження стало визначення характеру запальних інфільтратів власної пластинки ясен за умов ураження симптоматичним

гінгівітом при пародонтиті для обґрунтування прогностичних критеріїв перебігу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Імуногістохімічне дослідження проводили з метою визначення стану Т- і В-клітинної ланки імунітету й оцінювали в матеріалі біоптатів тканин ясен, взятих у пацієнтів під час виконання клаптевих реконструктивних операцій з відновлення висоти альвеолярного відростка. Ці операції проводили на базі лікувально-хірургічного відділення Полтавської обласної клінічної стоматологічної поліклініки на підставі угоди про спільну діяльність (термін дії від 26.06.12 до 30.12.17 р.). Оцінювали специфічну взаємодію поліклональних або моноклональних антитіл з антигенами тканини, яку виявляють завдяки відповідній мітці на світлооптичному рівні. Визначали маркери CD3 (клон SP7, LabVision), CD4 (клон 4B12, LabVision), CD8 (клон SP16, LabVision), CD20 (клон L26, LabVision), CD68 (клон KP1, LabVision), Ki67 (клон SP6, LabVision) (США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою визначення цитональності сполучнотканинних інфільтратів власної пластинки ясен за умов ураження симптоматичним гінгівітом при пародонтиті було проведено імуногістохімічне дослідження з використанням маркерів CD-3, CD-4 та CD-20.

Специфіка імуногістологічної експресії маркерів на плазмолемі клітин дає можливість поділити біоптати на три групи та виділити три імуногістохімічних профілі інфільтратів.

Перший імуногістохімічний профіль характеризувався переважанням в інфільтратах Т-лімфоцитів, що експресували на плазмолемі

імуногістохімічний маркер CD-3 мультипротеїновий комплекс, який експресував на поверхні Т-лімфоцитів, що є основним корецептором Т-клітинного рецептора. У ссавців утворений 4 субодиницями: CD3 γ , CD3 δ і двома CD-3 ϵ . У функції CD-3 комплексу входить передача сигналів у клітину, а також стабілізація Т-клітинного рецептора на поверхні мембрани.

Враховуючи анамнестичні дані пацієнтів та зіставляючи з наведеним імуногістохімічним профілем, частота загострень пародонтиту була мінімальною і складала 2–3 рази протягом року.

Даний профіль є прогностичним і може характеризуватися як відносно сприятливий для клінічного перебігу (рис. 1).

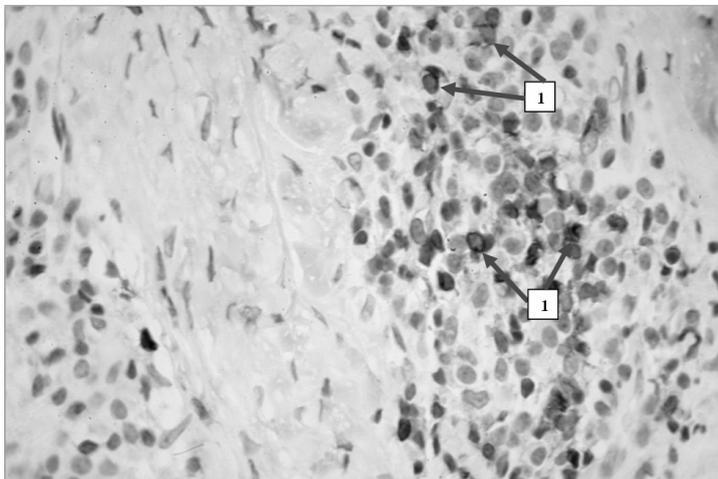


Рис. 1. Т-лімфоцити в периваскулярних інфільтратах власної пластинки ясен за умов ураження пародонтитом. Імуногістохімічна реакція з маркером CD-3.

Другий імуногістохімічний профіль характеризувався переважанням в інфільтратах Т-лімфоцитів, що експресували на плазмолемі імуногістохімічний маркер CD-4 – один з білків кластера диференціювання, мономерний трансмембранний глікопротеїн надсімейства Ig з молекулярною масою 55 кД, містить 4 поза-клітинних домени, трансмембранний домен і цитоплазматичну ділянку, є маркером Т-хелперів. Відіграє роль корецептора $\alpha\beta$ TCR: зв'язується з інваріантним β 2-доменом МНС II класу, бере участь у розпізнаванні молекул процесо-

ваної Аг, репрезентованої АПК. Є рецептором для ВІЛ, зв'язуючись через домен D1 з gp120 вірусу. Експресується на зрілих Т-лімфоцитах у 65 % Т-хелперах.

Враховуючи анамнестичні дані пацієнтів та зіставляючи з наведеним імуногістохімічним профілем, частота загострень пародонтиту була мінімальною і складала 0–1 раз протягом року.

Даний профіль є прогностичним і може характеризуватися як сприятливий для клінічного перебігу (рис. 2).

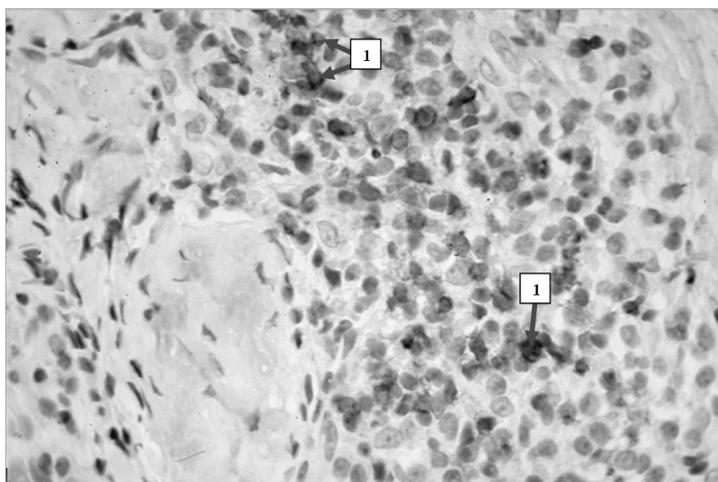


Рис. 2. Т-лімфоцити в периваскулярних інфільтратах власної пластинки ясен за умов ураження пародонтитом. Імуногістохімічна реакція з маркером CD-4.

Третій імуногістохімічний профіль характеризувався переважанням в інфільтратах клітин, які експресували на плазмолемі імуногістохімічний маркер CD-20 або В-лімфоцитарний антиген – білок, корецептор, розташований на поверхні В-лімфоцитів.

Встановлено, що у клітинних інфільтратах власної пластинки визначається високий та

помірний ступені експресії у вигляді темно-коричневого та світло-коричневого ядер клітин (рис. 3).

Враховуючи анамнестичні дані пацієнтів та зіставляючи з наведеним імуногістохімічним профілем, частота загострень пародонтиту була максимальною і складала 2–4 рази протягом року.

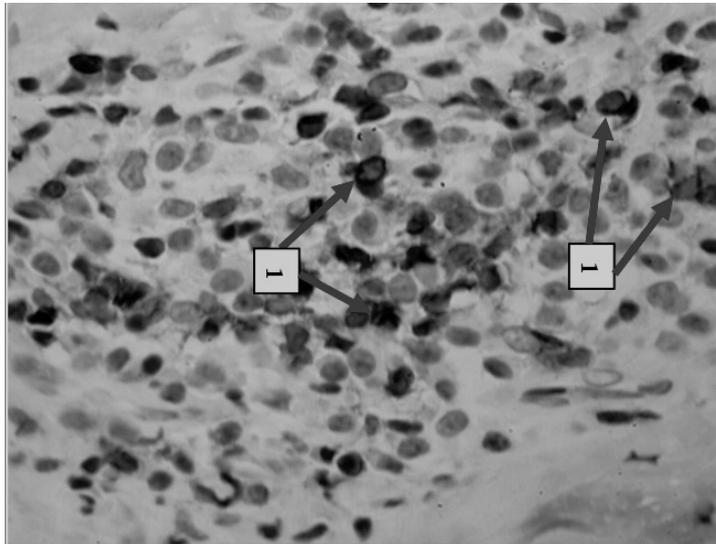


Рис. 3. Т-лімфоцити в периваскулярних інфільтратах власної пластинки ясен за умов ураження пародонтитом. Імуногістохімічна реакція з CD-20.

Даний профіль є прогностичним і може характеризуватися як несприятливий для клінічного перебігу.

Отже, наведена нами характеристика клітинних інфільтратів із застосуванням маркерів CD-3, CD-4, CD-20 при зіставленні з анамнестичними та клінічними показниками дає можливість поділити пародонтит в осіб молодого віку на клініко-морфологічні форми залежно від переважання в запальних інфільтратах Т- чи В-клітин.

Підводячи підсумок, слід відзначити, що поширеність пародонтиту в осіб молодого віку є високою. Клінічні прояви характеризуються як загостреним, так і хронічним перебігом із вираженою тенденцією до загострень.

Критеріями встановлення діагнозу в обстеженого контингенту осіб повинні слугувати: молодий вік пацієнтів (від 21 до 35 років згідно з віковим розподілом ВООЗ), тривалість захворювання від 1 до 3 років, генералізований і прогресуючий характер деструкції кісткової тканини, дані об'єктивного обстеження, що дає можливість характеризувати захворювання як швидкопрогресуючий пародонтит.

Результати проведених нами гістологічних досліджень дають можливість стверджувати,

що зміни в епітеліальному компоненті пародонтальних кишень характеризуються порушенням зроговіння у вигляді дискератозу за рахунок порушення процесів десквамації та збільшення шипуватого шару.

У сполучній тканині візуалізуються ділянки інвагінації епітелію, при цьому підлегла до ділянок вегетації епітелію пухка сполучна тканина багата на судини, навколо яких розміщена набрякла основна речовина з великою кількістю запальних клітинних елементів. Звертають на себе увагу кількісний склад фібробластів ступеня зрілості та численні судини, що дає можливість характеризувати тканину як грануляційну – незрілу сполучну, утворену в результаті тривалого запального процесу.

Епітеліальний компонент прикріпленої частини ясен набряклий за рахунок вакуолізації шипуватих клітин. На межі шипуватих та поверхневих клітин у розширених міжепітеліальних щілинах, за рахунок порушення цілісності десмосом, візуалізуються сегментоядерні лейкоцити. Наявність даних клітин характерна як для пародонтиту хронічного перебігу, так і для загострення.

Мастоцити прилеглої сполучної тканини перебувають у фазі накопичення секрету, а за

умов загострення хронічного генералізованого пародонтиту переважають дегранульовані. Наявність нейросекреторних гранул гепарину та гістаміну ініціюють судинні розлади кровообігу, а також міграцію клітинних елементів не лише у пухку сполучну тканину, а й в епітеліальний компонент ясен.

ВИСНОВКИ. Характер перебігу запально-деструктивних процесів у пародонті визначається станом місцевого імунітету, який знахо-

дить своє відображення в зміні імуногістохімічного профілю запальних інфільтратів. Отримані результати дають можливість умовної систематики пародонтиту в обстеженого контингенту осіб на “стабільні”, що характеризуються частотою загострень до одного разу на рік та CD-4 імуногістохімічним профілем, “умовно стабільні” з частотою загострень 2–3 рази на рік та CD-3 імуногістохімічним профілем і прогресуючі з частотою загострень 2–4 рази на рік та CD-20 імуногістохімічним профілем.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kinane D. F. Periodontal manifestations of systemic disease / D. F. Kinane, G. J. Marshall // Aust. Dent. J. – 2001. – № 46(1). – P. 2–12.
2. Loos B. G. Systemic markers of inflammation in periodontitis / B. G. Loos // J. Periodontol. – 2005. – № 76 (11). – P. 2106–2115.
3. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis / L. L. Humphrey, R. Fu, D. I. Buckley, M. Freeman // J. Gen. Intern. Med. – 2008. – № 23(12). – P. 2079–2086.
4. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease / K. S. Komman, F. S. Giovine, M. G. Newman, F. W. Pirk [et al.] / Journal of Clinical Periodontology. – 1997. – № 24. – P. 72–77.
5. Wilder R. S. Periodontal-systemic disease education in United States dental hygiene programs / R. S. Wilder, K. M. Thomas, H. Jared // J. Dent. Educ. – 2008. – № 72(6). – P. 69–79.

Н. В. Гасюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ ИНФИЛЬТРАТОВ СОБСТВЕННОЙ ПЛАСТИНКИ ДЕСЕН ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Резюме

В статье приведены результаты комплексного иммуногистохимического исследования воспалительных инфильтратов собственной пластинки десен в условиях поражения симптоматическим гингивитом при пародонтите. Полученные результаты дают возможность условной систематики пародонтита в зависимости от гистохимического профиля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, симптоматический гингивит, обострение, инфильтраты, лимфоциты.

N. V. Hasyuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

IMMUNOHISTOCHEMICAL DESCRIPTION CELL INFILTRATE OF THE LAMINA PROPRIA ASH UNDER CONDITIONS OF PARIODONTITIS

Summary

In the article the results of a comprehensive immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate of the lamina propria by conditions gums gingivitis symptomatic lesions in periodontitis. The results enable conventional taxonomy for periodontitis imunohistohimichnyym profile.

KEY WORDS: periodontal disease, gingivitis symptomatic, aggravation, infiltrates, lymphocytes.

Отримано 10.07.14

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

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРОДОНТИТОМ ЗА ЗМІНЕНОЇ РЕАКТИВНОСТІ

Метою експериментального дослідження стало вивчення активності перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у тварин з експериментальним пародонтитом за зміненої реактивності. При моделюванні гіпо- і гіперергічного пародонтиту відбувалася активація ліпопероксидації зі збільшенням початкових її продуктів. Активність антиоксидантної системи мала тенденцію до зменшення і при гіперергічному, і при гіпоергічному пародонтиті. Отримані дані свідчать про різний перебіг процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в дорослих тварин і тварин препубертатного вікового періоду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, щури, експериментальний пародонтит.

ВСТУП. Оновлення пошкоджених клітинних мембран, підтримка гомеостазу, небезпосередній активуючий вплив на елімінацію патогенних структур – усі ці процеси забезпечуються перекисним окисненням ліпідів (ПОЛ) біологічних мембран. Відомо, що даний процес є невід'ємною частиною запалення, в тому числі пародонтиту. Ступінь активації ПОЛ та системи протидії накопиченню вільнорадикальних сполук, тобто системи антиоксидантів, є факторами, що визначають тяжкість цього захворювання [3, 5]. Разом із тим, ступінь пошкоджувальної дії інфекції на пародонт залежить від реактивності організму. Саме реактивність організму детермінує силу запальної реакції з відповідними наслідками. Вивчення інтенсивності накопичення в крові тварин із різною реактивністю маркерних ферментів цитолізу та реакції антиоксидантної системи (АОС) може пояснити зв'язок між ступенем ураження тканин і реактивністю організму [1].

Для розробки методів діагностики з метою визначення змін реактивності дитячого організму при пародонтиті було проведено біохімічні дослідження сироватки крові експериментальних тварин з гіпо- та гіперергічним запальним процесом у пародонті.

Метою даного дослідження стало проведення аналізу стану перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи у тварин з гіпо- та гіперергічним запальним процесом у пародонті.

© А. Б. Бойків, 2014.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 30 білих нелінійних щурах віком 2 місяці (що відповідає віку людини 8–12 років), яких поділили на три групи: 1-ша – 10 тварин із гіпоергічною реакцією; 2-га – 10 тварин із гіперергічною реакцією; 3-тя – 10 тварин із нормергічною реакцією (контрольна група), яким внутрішньом'язово вводили 1 мл фізіологічного розчину. Моделювання гіпоергічної реакції проводили шляхом внутрішньом'язового введення алкілюючого цитостатика циклофосфану (ВАТ "Київмедпрепарат", Україна) протягом 7 днів щоденно з розрахунку 10 мг/кг [7]. Моделювання гіперергічної реакції здійснювали шляхом внутрішньом'язового введення імуностимулятора полісахаридної природи – пірогеналу (НДІЕМ ім. М. Ф. Гамалєї РАМН, Росія) протягом 7 днів щоденно з розрахунку 10 мкг/кг на одну тварину на фізіологічному розчині на основі високовуглеводної дієти [8].

Забій тварин і забір крові під тіопенталовим наркозом проводили через 7 діб після початку експерименту. В сироватці крові визначали вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК), тіобарбітурово-кислих активних продуктів (ТБК-АП). Згадані метаболіти послідовно утворюються на шляхах вільнорадикального перетворення ненасичених жирних кислот мембранних фосfolіпідів, і їх одночасне визначення дає уявлення про вираження мембранної де-струкції. Використані у дослідженнях методи

визначення вмісту ДК ґрунтуються на здатності кон'югованих дієнових ацилів до інтенсивного поглинання при $\lambda=233$ нм [10]. Вміст ТБК-АП у сироватці крові визначали колориметричним методом, який ґрунтується на утворенні забарвленого триметинового комплексу ТБК-АП з тіобарбітуровою кислотою, що має максимум поглинання при $\lambda=532$ нм [10]. Активність АОС оцінювали за активністю каталази [6] і вмістом церулоплазміну (ЦП) [4]. Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики [2].

Результати дослідження піддавали математичній обробці за загальноприйнятими методами [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У щурів на 7 день експерименту спостерігали зменшення маси тіла, появу гіперемії, набряку, кровоточивості, ерозій ясен, зменшення висоти ясенного сосочка, руйнування кругової зв'язки, оголення кореня зуба з виникненням пародонтальних кишень, заповнених шерстю тварин.

Проведені дослідження стану ПОЛ та АОС показали (табл.), що відбувалися зміни, які вказували на розвиток деструктивних процесів у клітинах із пошкодженням мембран, водночас спостерігали зменшення активності АОС.

Таблиця – **Зміни інтенсивності ПОЛ і стану АОС у сироватці крові експериментальних тварин ($M \pm m$, $n=10$)**

Показник	Дослідна група тварин		
	інтактна	гіпоергічна	гіперергічна
ТБК-АП, мкмоль/л	0,29±0,08	0,13±0,02*	0,22±0,03*
ДК, мкмоль/л	0,18±0,03	0,31±0,04*	0,32±0,06*
ЦП, г/л	0,29±0,02	0,23±0,01	0,24±0,04
Каталаза, мкат/л	5,11±0,05	5,08±0,08	4,86±0,08*

Примітка. * – відхилення показника достовірно відносно контрольної групи ($p \leq 0,05$).

Встановлено, що у щурів рівень ТБК-АП зменшився в 2,2 раза ($p < 0,05$) при гіпоергічному перебігу пародонтиту та в 1,3 раза – при гіперергічному ($p < 0,05$). Дещо іншою була картина змін вмісту ДК: він зростав у 1,7 та 1,8 раза при гіпо- і гіперергічному перебігу пародонтиту відповідно. Слід відмітити, що зміни вмісту ДК у всіх групах були достовірними ($p < 0,05$). Зменшення вмісту ТБК-АП у двомісячних щурів, можливо, пов'язане з особливостями пренупубертатного вікового періоду.

У двомісячних щурів вміст ЦП зменшувався від показника групи контролю: в гіпоергічній групі – на 20,7 %, в гіперергічній – на 17,2 %.

Ступінь активації АОС було оцінено за ступенем активності каталази. Так, у двомісячних щурів спостерігали зменшення активності каталази і в гіпоергічній, і в гіперергічній групах – на 0,6 і 4,9 % відповідно.

Аналіз отриманих даних показав, що розвиток пародонтиту на основі зміненої реактивності організму спричиняв зниження активності АОС. Так, за гіпоергічного перебігу пародонтиту спостерігали зменшення активності ферментативної та неферментативної ланок.

За гіперергічного перебігу пародонтиту активність каталази – ферменту першої ланки захисту від активних сполук кисню – достовірно знижувалася. Зменшення вмісту ЦП, найімовірніше, свідчило про пригнічення цього ферменту в пренупубертатний період за розвитку пародонтиту.

Отже, вищевикладене демонструє, що за розвитку гіперергічного та гіпоергічного пародонтиту відбуваються інтенсифікація процесів ПОЛ і пригнічення АОС. У даному напрямку перспективним буде дослідити біохімічні зміни за розвитку запального процесу в тканинах пародонта при зміні реактивності організму.

ВИСНОВКИ. При моделюванні гіпо- і гіперергічного пародонтиту відбувалася активація ліпопероксидації зі збільшенням початкових її продуктів. Зменшення ТБК-АП можна пояснити активацією детоксуючих систем організму. Активність АОС мала тенденцію до зниження і при гіперергічному, і при гіпоергічному пародонтиті. Отримані дані свідчать про різний перебіг процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в дорослих тварин і тварин пренупубертатного вікового періоду.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдеев О. В. Динаміка перекисного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи у пародонті в експерименті / О. В. Авдеев, А. Б. Бойків // Вісник стоматології (спецвипуск). – 2012. – № 6 (79). – С. 2–4.
2. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.
3. Ковач И. В. Состояние антиоксидантной системы при воспалении десен крыс под действием токсических факторов / И. В. Ковач // Совр. стоматология. – 2005. – № 2. – С. 156–159.
4. Колб В. Г. Определение активности церулоплазмينا в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников // Клиническая биохимия. – Минск : Беларусь, 1976. – С. 219–220.
5. Левицкий А. П. Состояние перекисного окисления липидов и антирадикальной защиты в тканях слизистой оболочки полости рта при профилактике острой лучевой болезни средней тяжести / А. П. Левицкий, В. Я. Скиба, В. Н. Почтарь // Вісник стоматології. – 2000. – № 5. – С. 9–10.
6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
7. Пат. 57189 Україна, МПК (2011.01) А61К 31/00 G09В 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання пародонтита / Авдеев О. В. ; Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u201010071 ; заявл. 16.08.10 ; опубл. 10.02.11, Бюл. № 3, 2011 р.
8. Пат. 66298 Україна, МПК А61К 39/104 (2006.01); G09В 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання пародонтиту / Авдеев О. В. ; Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u201108090 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24, 2011 р.
9. Поляков И. В. Практическое пособие по медицинской статистике / И. В. Поляков, Н. С. Соколова. – Л. : Медицина, 1975. – 151 с.
10. Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 42–44, 66–68.

А. Б. Бойків

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПАРОДОНТИТОМ ПРИ ИЗМЕНЕННОЙ РЕАКТИВНОСТИ

Резюме

Целью экспериментального исследования стало изучение активности перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у животных с экспериментальным пародонтитом при измененной реактивности. При моделировании гипо- и гиперэргического пародонтита происходила активация липопероксидации с увеличением начальных ее продуктов. Активность антиоксидантной системы имела тенденцию к уменьшению и при гиперэргическом, и при гипоэргическом пародонтите. Полученные данные свидетельствуют о различном течении процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты у взрослых животных и животных препубертатного возрастного периода.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, крысы, экспериментальный пародонтит.

А. В. Boikiv

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CHANGES IN BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AT REACTIVITY CHANGES

Summary

The purpose of the pilot study was to evaluate the activity of lipid peroxidation and antioxidant system in animals with experimental periodontitis with altered reactivity. In the simulation of hypo- and hyperergic periodontitis occurred activation of lipid peroxidation with increasing initial of its products. The activity of the antioxidant system tended to decrease and hyperergic, and hypoergic periodontitis. The findings suggest that different from adults during lipid peroxidation and antioxidant protection in animals pre-pubertal age period.

KEY WORDS: lipid peroxidation; antioxidant system; rats; experimental periodontitis.

Отримано 16.07.14

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

ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ ТА ВОДЯНИСТОЇ ВОЛОГИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ

В експериментах на кролях при модельованій непроникній механічній травмі рогівки встановлено активацію цитокінопродукування через 7 діб патологічного процесу, тоді як на початку моделювання травми рогівки відмічали зниження рівнів ФНП- α ($p < 0,05$), ІЛ-1 β й ІЛ-6 як у водянистій волозі, так і в сироватці крові. Зменшення цитокінів у перші доби пошкодження, на нашу думку, пов'язане з цитокіновою ареаактивністю внаслідок порушень у системі імунорегуляції. Підвищення вмісту прозапальних цитокінів через 14 діб експериментальної непроникної механічної травми рогівки вказує на компенсаторну активацію клітинної ланки імунітету. При порівнюванні цитокінового профілю в обох біологічних рідинах встановлено, що локальне ураження за умови непроникної механічної травми рогівки є більш значущим, ніж її системні прояви.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **травма, рогівка, прозапальні цитокіни.**

ВСТУП. Травматизм органа зору залишається актуальною проблемою офтальмології, оскільки займає перше місце у структурі причин первинної інвалідності по зору в багатьох країнах світу [11, 14]. Епідеміологічні дослідження вказують на зростання травматизму очей, що пов'язано, на думку ряду авторів, зі збільшенням числа жителів сільської місцевості, погіршенням економічної і воєнно-політичної ситуації [4, 12, 13]. Дані В. А. Шаїмової свідчать про те, що дослідники в галузі офтальмології довели провідну роль цитокінів в імунопатогенезі захворювань очей як активних біорегуляторів запальних і репаративних процесів [10]. Дослідник вказує на те, що рівень цитокінів у вогнищі запалення може відрізнятися від їх вмісту в циркулюючій крові, оскільки локальне ураження часто може бути більш значущим, ніж його системні прояви. За даними О. С. Слепової, принцип локальності порушується при патологіях, які супроводжуються генералізованою активацією імунної системи [9].

Тому метою даного дослідження було з'ясувати роль прозапальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкінів 1 β і 6 (ІЛ-1 β та ІЛ-6) у водянистій волозі та периферичній крові експериментальних тварин у патогенезі механічної непроникної травми рогівки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих

кролях породи Шиншила масою від 2,5 до 3,0 кг згідно з Женевською конвенцією "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Женева, 1990) та Загальними принципами експериментів на тваринах, ухваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001). Кролі отримували повноцінне збалансоване харчування і перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України".

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали на обох очах тварини під місцевою епібульбарною анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну (1,0 мл). Трепаном діаметром 7 мм у верхній половині рогівки наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом із переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флуоресцеїну.

Тварин поділили на п'ять груп: контрольна група – інтактні тварини (10 кролів); 1-ша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після травми (10 кролів); 2-га дослідна група – через 7 днів після травми (10 кролів); 3-тя дослідна група – через 14 днів після травми (10 кролів); 4-та дослідна група – термін спостереження через 21 день після травми (10 кролів).

За умов тіопентало-натрієвого знеболювання (25 мг/кг) у кролів з крайової вени вуха забирали кров, після чого тварин виводили з експерименту методом повітряної емболії. Рівні ФНП- α , ІЛ-1 β й ІЛ-6 визначали імуноферментним методом на аналізаторі STAT-Fax за допомогою стандартних методик [8].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з даними досліджень, за фізіологічних умов ФНП- α є імунорегулятором процесів проліферації і диференціювання різних типів клітин, основним медіатором апоптозу [5]. Ця молекула проявляє різноманітні біологічні ефекти, стимулюючи продукування інших прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8). Результати проведеного нами дослідження вказали на те, що через 3 доби моделювання патологічного про-

цесу рівень ФНП- α у сироватці крові вірогідно зменшився на 24,6 % і практично не змінився до 7-ї доби. У 3-й дослідній групі концентрація ФНП- α була вищою на 14,5 %, у 4-й – на 27,3 % стосовно показників контрольної групи. Потрібно відмітити статистично значиме зростання рівня досліджуваного цитокіну в сироватці крові через 14 діб (в 1,5 раза) відносно даних 2-ї дослідної групи з максимальними показниками через 21 добу (табл. 1). У водянистій волозі передньої камери ока кролів з механічною непроникною травмою рогівки через 3 доби відзначали зниження рівня ФНП- α на 39,9 % проти контрольних значень ($p < 0,05$) з наступним поверненням до норми через 7 діб. У 3-й і 4-й дослідних групах рівень досліджуваного цитокіну був вищим, відповідно, на 51,2 та 86,6 % відносно контролю (табл. 1). При порівнюванні отриманих даних у двох біологічних рідинах виявлено односпрямоване зниження рівня ФНП- α через 3 доби дослідження, що вказує, на нашу думку, на послаблення в системі імунорегуляції. Через 14 діб ФНП- α як у водянистій волозі, так і в сироватці крові різко зростає та продовжував підвищуватися до 21-ї доби, проявляючи патологічну дію (рис.).

Таблиця 1 – Рівень ФНП- α (пг/мл) у водянистій волозі й сироватці крові кролів при механічній непроникній травмі рогівки (M \pm m)

Контрольна група (n=10)	1-ша дослідна група (n=10)	2-га дослідна група (n=10)	3-тя дослідна група (n=10)	4-та дослідна група (n=10)
Сироватка крові				
11,43 \pm 0,45	8,65 \pm 0,22*	8,62 \pm 0,29*	13,09 \pm 0,25*	14,55 \pm 0,53*
		p>0,05	p<0,05	p<0,05
Водяниста волога				
1,42 \pm 0,15	0,85 \pm 0,03*	1,43 \pm 0,09	2,14 \pm 0,12*	2,64 \pm 0,08*
		p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

- * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами ($p < 0,05$).
- p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

ІЛ-1 є системою з трьох цитокінів ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-1Ra та двох рецепторів R1 і R2, домінує при цьому багатфункціональний ІЛ-1 β . Він ініціює та регулює запальні, імунні процеси, активує нейтрофіли, Т- і В-лімфоцити, стимулює синтез білків гострої фази, ІЛ-4, ІNF- γ , ФНП- α , фагоцитоз, гемопоез, проліферацію ендотеліальних клітин, проникність судинної стінки, цитотоксичну і бактерицидну активність [2, 3].

Встановлено, що у щурів 1-ї експериментальної групи рівень ІЛ-1 β у сироватці крові й водянистій волозі односпрямовано мав тенденцію до зниження, тоді як через 7 діб спостереження практично не відрізнявся від контролю,

що може бути зумовлено його інгібуванням іншими цитокінами або саморегулюванням (табл. 2). У 3-й і 4-й дослідних групах рівень досліджуваного цитокіну був вищим, відповідно, на 36,5 і 49,1 % у сироватці крові та на 37,4 і 51,0 % у водянистій волозі відносно контролю ($p < 0,05$) (табл. 2). Порівнюючи отримані дані, можна говорити про однакову динаміку ІЛ-1 β як на локальному, так і на системному рівнях (рис.).

ІЛ-6 належить до цитокінів запалення, оскільки він є сигнальним агентом для активації та диференціації цитотоксичних Т-клітин, а також індукує синтез білків гострої фази тканинного ураження [15]. Доведено, що

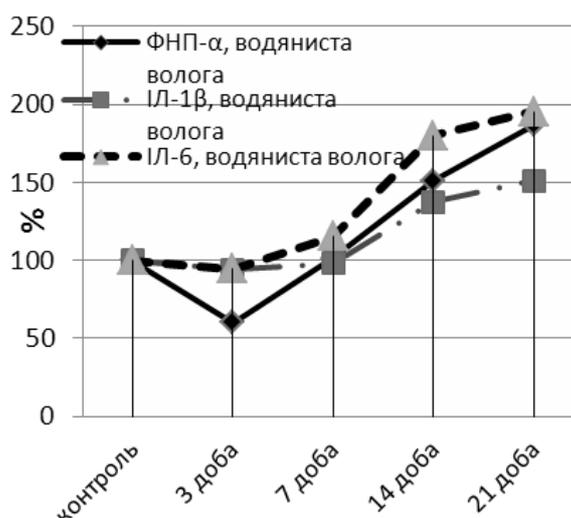
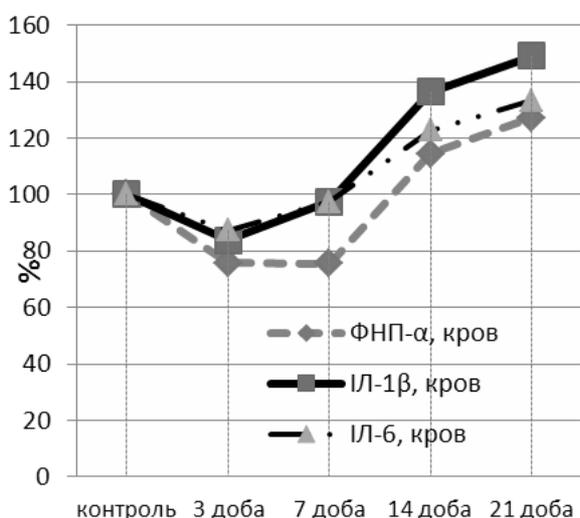


Рис. Динаміка прозапальних цитокінів сироватки крові та водянистої вологи при експериментальній механічній непроникній травмі рогівки.

активація ІЛ-6 має велике значення у розвитку запальної реакції на поверхні ока і в процесах загоєння рани [1]. Встановлено, що у щурів 1-ї експериментальної групи рівень ІЛ-6 як у сироватці крові, так і у водянистій волозі мав тенденцію до зниження, тоді як через 7 днів спостереження практично не відрізнявся від контролю (табл. 3). У 3-й і 4-й дослідних групах рівень

досліджуваного цитокіну був вищим, відповідно, на 22,6 і 33,3 % у сироватці крові та на 80,0 і 95,5 % у водянистій волозі відносно контролю ($p < 0,05$) (табл. 3). Порівнюючи отримані дані, можна говорити про однакову динаміку ІЛ-6 як на локальному, так і на системному рівнях зі значно вищими показниками у водянистій волозі (рис.).

Таблиця 2 – Рівень ІЛ-1β (пг/мл) у водянистій волозі й сироватці крові кролів при механічній непроникній травмі рогівки (M±m)

Контрольна група (n=10)	1-ша дослідна група (n=10)	2-га дослідна група (n=10)	3-тя дослідна група (n=10)	4-та дослідна група (n=10)
Сироватка крові				
1,59±0,09	1,33±0,08	1,55±0,12	2,17±0,10*	2,37±0,09*
		p>0,05	p<0,05	p>0,05
Водяниста волога				
1,55±0,10	1,46±0,11	1,52±0,07	2,13±0,09*	2,34±0,07*
		p>0,05	p<0,05	p>0,05

Таблиця 3 – Рівень ІЛ-6 (пг/мл) у водянистій волозі й сироватці крові кролів при модельованій механічній непроникній травмі рогівки (M±m)

Контрольна група (n=10)	1-ша дослідна група (n=10)	2-га дослідна група (n=10)	3-тя дослідна група (n=10)	4-та дослідна група (n=10)
Сироватка крові				
1,59±0,09	1,39±0,11	1,55±0,11	1,95±0,09*	2,12±0,08*
		p>0,05	p<0,05	p>0,05
Водяниста волога				
1,10±0,08	1,04±0,08	1,27±0,08	1,98±0,12*	2,15±0,07*
		p>0,05	p<0,05	p>0,05

Відомо, що розвиток будь-якого патологічного процесу супроводжується підвищенням концентрації ФНП-α, ІЛ-1β та ІЛ-6 [6]. Продуктування цитокінів має активаційний характер і забезпечує інформаційний обмін між клітина-

ми, які залучені в запальний процес. При протективних варіантах запального процесу цитокіни переважно утворюються у вогнищі запалення, а їх надходження у системний кровотік зумовлене гострофазною відповіддю, стрес-

реакцією нейроендокринної системи, лейкоцитозом тощо [7]. У нашому дослідженні встановлено активацію цитокинопродукування через 7 діб патологічного процесу, тоді як на початку моделювання травми рогівки відмічали зниження рівнів ФНП- α ($p < 0,05$), ІЛ-1 β й ІЛ-6 як у водянистій волозі, так і в сироватці крові. Зниження цитокинів у перші доби пошкодження, на нашу думку, пов'язане з цитокиновою ареактивністю внаслідок порушень у системі імунорегуляції. Підвищений вміст прозапальних цитокинів при експериментальній непроникній механічній травмі рогівки вказує на компенсаторну активацію клітинної ланки імунітету за умови порушеного гематофтальмологічного бар'єру, що супроводжується генералізованою активацією імунної системи. Встановлено вагомий внесок досліджуваних цитокинів у патогенезі непроникної механічної травми рогівки, проте ключовим імуномедіатором вважаємо ФНП- α . Порівнюючи цитокиновий профіль в обох біологічних рідинах, встановили, що локальне ураження за умови непроникної механічної травми рогівки є більш значущим, ніж її системні прояви.

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальна непроникна механічна травма рогівки супроводжується зниженням рівня прозапальних цитокинів (ФНП- α ($p < 0,05$), ІЛ-1 β й ІЛ-6) у водянистій волозі й сироватці крові протягом перших трьох діб пошкодження, що вказує на порушення у системі імунорегуляції.

2. Гіперпродукування прозапальних цитокинів через 14 діб спостереження у водянистій волозі (ФНП- α – на 51,2 %, ІЛ-1 β – на 37,4 % й ІЛ-6 – на 80,0 %) і сироватці крові кролів (відповідно, на 14,5, 36,5 і 22,6 %) при непроникній механічній травмі рогівки з максимумом через 21 день може відігравати важливу роль у розвитку даного процесу.

3. Враховуючи вищі показники прозапальних цитокинів у водянистій волозі, можна стверджувати, що локальне ураження за умови непроникної механічної травми рогівки є більш значущим, ніж її системні прояви.

У перспективі буде досліджено взаємозв'язок між рівнями цитокинів, клітинного й гуморального імунітету, пероксидного окиснення ліпідів за умови експериментальної непроникної механічної травми рогівки в динаміці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Захарова И. А. Изучение интерферонового статуса при проникающих ранениях глазного яблока / И. А. Захарова, В. Ю. Махмутов, Д. О. Найдюк // РМЖ. – 2004. – № 3. – С. 102.
- Зяблов Е. В. Закономерности изменений цитокинового статуса у больных фолликулярной и папиллярной формами рака щитовидной железы в динамике распространения неоплазии / Е. В. Зяблов, Н. П. Чеснокова, В. Ю. Барсуков // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 5. – С. 62–67.
- Кельцев В. А. Взаимосвязь цитокинового профиля и цитолиза у детей с хроническим вирусным гепатитом В / В. А. Кельцев, О. В. Чурбакова // Саратов. науч.-мед. журн. – 2011. – 7, № 2. – С. 461–465.
- Максимов И. Б. Диагностика и лечебная тактика при современных боевых огнестрельных повреждениях глаз / И. Б. Максимов // Тезисы докладов VII съезда офтальмологов России. – М., 2000. – Т. 2. – С. 87.
- Марущак М. І. Закономірності змін цитокинового статусу в бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень / М. І. Марущак // Шпит. хірургія. – 2012. – № 2. – С. 39–42.
- Мозговая Л. А. Эффективность лечения хронического генерализованного пародонтита с использованием инфракрасного лазерного света / Л. А. Мозговая, Д. В. Шмидт, А. Ю. Новиков // Стоматология. – 2012. – 90, № 6. – С. 10–11.
- Особенности развития острофазного ответа и цитокинемии при системной воспалительной реакции инфекционного и неинфекционного генеза / Д. А. Левит, И. Н. Лейдерман, Е. Ю. Гусев, А. Л. Левит // Инфекция в хирургии. – 2007. – № 1. – С. 33–37.
- Сенников С. В. Методы определения цитокинов / С. В. Сенников, А. Н. Силков // Цитокины и воспаление. – 2005. – 4, № 1. – С. 22–27.
- Слепова О. С. Патогенетическая роль цитокинов при различных заболеваниях глаз как основа для прогнозирования и выбора тактики иммунокорригирующего лечения / О. С. Слепова // Росс. офтальмол. журн. – 2008. – № 3. – С. 36–42.
- Шаимова В. А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз / В. А. Шаимова // Цитокины и воспаление. – 2005. – 4, № 2. – С. 13–15.
- Эфендиев Н. М. Морфогистохимические и биофизические исследования экспериментального гемофтальма / Н. М. Эфендиев // Вестн. офтальмологии. – 1998. – № 1. – С. 16–17.
- Epidemiology of the mechanical eye injuries / M. Jovanovic, D. Vukovic, S. Glisic, M. Knezevic // Srpski Oftalmol. Arhiv. – 2004. – 1. – P. 62–71.
- Mechanical injuries of the eye / A. Potockova, P. Strmen, V. Krasnik, Z. Olah // Bratisl. Lek. Listy. – 2010. – № 111 (6). – P. 329–335.
- Naik B. S. A study on socio demographic profile of patients attending government hospital

tirupati with mechanical ocular injuries / B. S. Naik, Sushma, S. R. Dudala // International Journal of Research in Health Sciences. – 2013. – 1, Iss. 1. – P. 28–33.

15. Yoon K. C. Interleukin-6 and Tumor Necrosis factor- α levels in tears with dry eye syndrome / K. C. Yoon, I. Y. Jeong, S. Y. Yang // Cornea. – 2007. – 26, № 4. – P. 431–437.

Н. В. Турчин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ И ВОДЯНИСТОЙ ВЛАГИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ТРАВМЕ РОГОВИЦЫ

Резюме

В экспериментах на кроликах при моделируемой непроникающей механической травме роговицы установлено активацию цитокинопродукции через 7 суток патологического процесса, тогда как изначально при моделировании травмы роговицы отмечали снижение уровней ФНО- α ($p < 0,05$), ИЛ-1 β и ИЛ-6 как в водянистой влаге, так и в сыворотке крови. Уменьшение цитокинов в первые сутки повреждения, по нашему мнению, связано с цитокиновой ареактивностью вследствие нарушений в системе иммунорегуляции. Повышение содержания провоспалительных цитокинов через 14 суток экспериментальной непроникающей механической травмы роговицы указывает на компенсаторную активацию клеточного звена иммунитета. При сравнении цитокинового профиля в обоих биологических жидкостях установлено, что локальное поражение при непроникающей механической травме роговицы является более значимым, чем ее системные проявления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: травма, роговица, провоспалительные цитокины.

M. V. Turchyn

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CYTOKINE PROFILE OF BLOOD AND AQUEOUS HUMOR IN CASE OF EXPERIMENTAL CORNEAL MECHANICAL NONPENETRATIVE INJURY

Summary

In experiments on rabbits with corneal mechanical nonpenetrative injury was found the activation of cytokine production after 7 days of the pathological process, while during the first 3 days of trauma was noted lower levels of TNF- α ($p < 0.05$), IL-1 β and IL-6 in both aqueous humor and serum. Reduction of cytokines in the early days of injury, in our opinion, is associated with cytokine areactivity which due to disturbances in the system of immunoregulation. Increase of proinflammation cytokines after 14 days of experimental nonpenetrative mechanical injury of the cornea indicates a compensatory activation of cellular immunity. Comparing the cytokine profile in both biological fluids was found that local lesions in case of nonpenetrative mechanical injury of the cornea is more important than its systemic manifestations.

KEY WORDS: trauma, cornea, proinflammation cytokines.

Отримано 07.07.14

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

ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ГОМОЦИСТЕЇНУ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ
В ЦЕНТРАЛЬНІЙ НЕРВОВІЙ СИСТЕМІ

Порушення обміну метіоніну та гомоцистеїну асоціюються з нейроваскулярними та нейродегенеративними захворюваннями. Метаболізм сірковмісних амінокислот у мозку має певні особливості, які детермінують його особливу чутливість до токсичної дії гіпергомоцистеїнемії. В представленому огляді узагальнено сучасну інформацію про ключові шляхи метаболізму метіоніну, гомоцистеїну і гідроген сульфід, їх біологічну роль та особливості регуляції в мозку тварин і людини, окреслено перспективи подальших досліджень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гомоцистеїн, гідроген сульфід, ензими, метаболізм, мозок.

Порушення обміну сірковмісних амінокислот, особливо гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ), пов'язують із розвитком нейроваскулярних, нейродегенеративних захворювань та психічних розладів [14, 16]. Метаболізм метіоніну та гомоцистеїну (ГЦ) у центральній нервовій системі має певні особливості, які детермінують її виняткову чутливість до негативного впливу ГГЦ. Наприклад, у мозку метаболізм ГЦ спряжений з утворенням гомоцистеїнової кислоти (потужного ексайтотоксину) [28] та гідроген сульфід (H_2S) – нейротрансмітера, цитопротектора та антиоксиданта [20, 21]. В представленому огляді літератури ми спробували узагальнити ін-

формацію про особливості обміну сірковмісних амінокислот у центральній нервовій системі (ЦНС) з акцентом на ГЦ та H_2S .

Гомоцистеїн – непротеїногенна сульфгідрильна амінокислота, яка утворюється в організмі з метіоніну. В харчових продуктах ГЦ міститься в надзвичайно низькій кількості, тому нормальний рівень цієї амінокислоти в плазмі крові забезпечується метіоніном [1]. У плазмі крові людини ГЦ перебуває переважно (70–80 %) у протеїнозв'язаній формі (рис. 1), дещо менша кількість (20–30 %) циркулює у вигляді гомоцистину та змішаного дисульфід ГЦ-цистеїну, близько 1 % міститься у вільній формі, а менше 0,3 % – у формі тіолактону ГЦ [17].

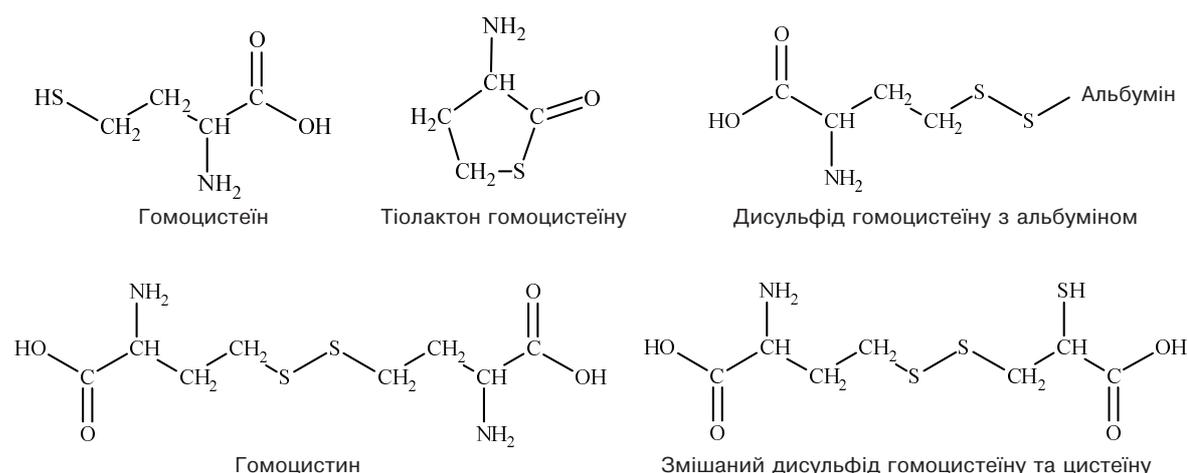


Рис. 1. Структурні формули різних форм ГЦ у плазмі крові.

© П. О. Юрченко, А. В. Мельник, Н. В. Заїчко,
М. М. Йолтухівський, 2014.

Тканини живих організмів відрізняються за вмістом ГЦ. У щурів та мишей найвищий рівень загального ГЦ зареєстровано в печінці (3–4 нмоль/г тканини), менший – у нирках, легенях та серці (1–2 нмоль/г тканини). В мозку вміст ГЦ є найменшим і становить у середньому (0,76±0,07) нмоль/г тканини [15]. Утворення ГЦ у тканинах відбувається в реакціях трансметилування метіоніну (рис. 2) [1, 6]. Спочатку метіонін з участю АТФ та ензиму метіонінаденозилтрансферази (КФ 2.5.1.6) активується до S-аденозилметіоніну. Останній містить високоактивну метильну групу, яка використовується

метилтрансферазами для метилування різних субстратів. Реакції трансметилування досить активно проходять у мозку і забезпечують утворення та деградацію нейромедіаторів, регуляцію процесингу мРНК, експресії генів, пост-трансляційної модифікації поліпептидів і протеїнів [23].

Після відщеплення метильної групи в реакціях трансметилування S-аденозилметіонін перетворюється на S-аденозилгомоцистеїн, який гідролізується S-аденозилгомоцистеїнгідролазою (КФ 3.3.1.1) до аденозину та ГЦ [12]. Ця реакція є оборотною, і за присутності

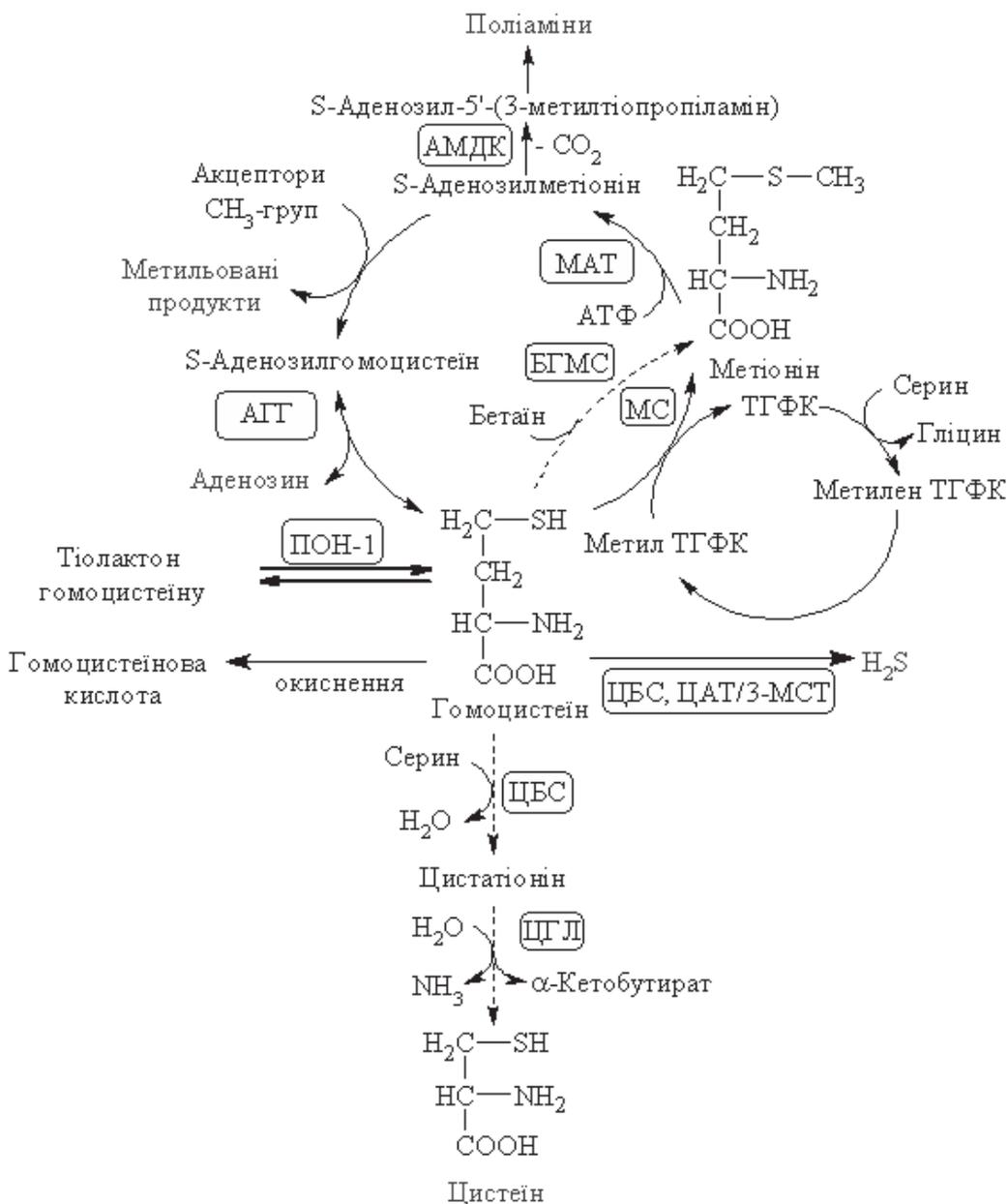


Рис. 2. Основні шляхи метаболізму ГЦ; MS – метіонінсинтетаза; ЦГЛ – цистатіонін-γ-ліаза; БГМТ – бетаїнгомоцистеїнметилтрансфераза; МАТ – метіонінаденозилтрансфераза; АГТ – S-аденозилгомоцистеїнгідролаза; ЦБС – цистатіонін-β-синтаза; АМДК – S-аденозилметіоніндекарбоксилаза; пунктирними стрілками позначено реакції, які не проходять у мозку.

аденозину ГЦ може ефективно трансформуватись у S-аденозилгомоцистеїн з участю S-аденозилгомоцистеїнгідролази. За умов *in vitro* швидкість реакції синтезу S-аденозилгомоцистеїну значно (більш ніж у 10 разів) перевищує швидкість його гідролітичного розщеплення [12]. Однак в організмі превалює реакція гідролізу S-аденозилгомоцистеїну, оскільки ГЦ та аденозин швидко утилізуються.

В мозку та інших тканинах S-аденозилметіонін може переносити на акцептор не лише метильні групи, а також амінопропанову частину, що супроводжується утворенням поліамінів – сперміну та спермідину. Для цього S-аденозилметіонін декарбоксилюється з участю піридоксальфосфату та S-аденозилметіонін-декарбоксилази (КФ 4.1.1.50) до S-аденозил-5'-(3-метилтіопропіламіну) [3]. Останній переносить амінопропановий фрагмент на путресцин з утворенням спермідину, який після приєднання ще однієї амінопропанової групи перетворюється на спермін. Поліаміни володіють позитивним зарядом, легко зв'язуються з нуклеїновими кислотами, беруть участь у реплікації ДНК, транскрипції та трансляції. Встановлено, що пригнічення синтезу сперміну в мозку асоціюється з порушенням активності NMDA-рецепторів, K^+ - і Ca^{2+} -каналів та розвитком когнітивних і психічних порушень [24].

Утилізація ГЦ у тканинах відбувається трьома основними шляхами: реметилюванням, транссульфуванням та десульфуруванням.

Шлях реметилювання [1, 6] забезпечує перетворення ГЦ на метіонін. У реакціях реметилювання відбувається утилізація невеликої (близько 2 %) кількості ГЦ. Основним шляхом утворення метіоніну з ГЦ є реакція з участю V_{12} -залежного ензиму метіонінсинтетази (КФ 2.1.1.13). Безпосереднім донором метильної групи в цій реакції є 5-метилтетрагідрофолат, який утворюється в циклі активного фолату: гідроксиметильна група серину переноситься на тетрагідрофолат з утворенням 5,10-метилентетрагідрофолату, що відновлюється до 5-метилтетрагідрофолату з участю флавінового ензиму 5,10-метилентетрагідрофолат-редуктази (КФ 1.7.99.5).

Альтернативним шляхом утворення метіоніну з ГЦ є реакція з участю фолатнезалежного ензиму бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (КФ 2.1.1.5) та донора метильних груп бетаїну [1, 6]. В мозку перетворення ГЦ на метіонін проходять лише з участю метіонінсинтази, тоді як реакції бетаїнзалежного реметилювання не мають значення (в мозку експресія бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази не виявлена) [5, 16, 23]. У тканинах мозку процеси реметилювання

проходять з різною інтенсивністю: найменшу активність реакцій реметилювання відмічають у гліальних клітинах, в яких вміст вітаміну V_{12} є низьким [23].

Шлях транссульфування [1, 6] забезпечує перетворення ГЦ на цистеїн. У реакціях транссульфування утилізується основна кількість ГЦ (70–80 %). Спочатку ГЦ конденсується із серином з участю піридоксальфосфатзалежного ензиму цистатіонін- β -синтази (КФ 4.2.1.22) з утворенням цистатіоніну. Далі цистатіонін під впливом іншого піридоксальфосфатзалежного ензиму цистатіонін- γ -ліази (КФ 4.4.1.1) перетворюється на цистеїн, NH_3 та α -кетобутират. У тканинах мозку шлях транссульфування не відіграє важливої ролі в утилізації ГЦ: цистатіонін- β -синтаза експресується з дуже низькою цистатіонінсинтазною активністю, а експресія цистатіонін- γ -ліази взагалі відсутня. За цих умов рівень цистеїну в мозку поповнюється лише за рахунок його циркулюючого пулу в крові [16, 23]. У ЦНС цистеїн бере участь у формуванні структури протеїнових молекул, їх фолдингу, регулює функціональний стан багатьох ензимів та рецепторних протеїнів, входить до складу глутатіону (GSH) та коензиму А, забезпечує редокс-сигналінг, є джерелом гальмівного нейромедіатора таурину [2, 22, 25].

Шлях десульфурування забезпечує перетворення ГЦ на H_2S [20, 21] (табл.). Основна реакція утворення H_2S у тканинах мозку – конденсація L-гомоцистеїну з L-цистеїном (β -заміщення) з участю цистатіонін- β -синтази (табл.), яка експресується в гіпокампі, мозочку, корі, стовбурі мозку [9, 13, 21]. Встановлено, що десульфуразна активність цистатіонін- β -синтази в тканинах мозку в десятки разів перевищує цистатіонінсинтазну активність.

Нещодавно було відкрито ще один шлях утворення H_2S у мозку: спершу L-цистеїн вступає в реакцію трансамінування з α -кетоглутаратом з участю цистеїнамінотрансферази (КФ 2.6.1.3) з утворенням 3-меркаптопіривату, з якого далі вивільняється H_2S з участю 3-меркаптопіриватсульфуртрансферази (КФ 2.8.1.2) [27]. Останній ензим експресований у корі та мозочку [8] і як кофактори може використовувати глутатіон, тіоредоксин та дигідроліпоєву кислоту [27]. Також існують відмінності у клітинній локалізації H_2S -продукуючих ензимів: цистатіонін- β -синтаза локалізується в цитозолі астроцитів, тоді як 3-меркаптопіриватсульфуртрансфераза – в мітохондріях нейронів [19].

H_2S відіграє важливу роль у функціонуванні ЦНС: проявляє вазодилатуючий, цитопротекторний, антиоксидантний, протизапальний та антиапоптотичний ефекти, збільшує чутливість

Таблиця – Ензиматичні реакції утворення H₂S у тканинах мозку тварин та людини

Ензим	Схема реакції
Цистатіонін-β-синтаза КФ 4.2.1.22	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-гомоцистеїн} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \text{L-цистатіонін} \end{array} + \text{H}_2\text{S} $
Цистеїнаміно-трансфераза КФ 2.6.1.3	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{L-цистеїн} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \\ \alpha\text{-кетоглутарат} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{3-меркаптопіруват} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \\ \text{L-глутамат} \end{array} $
3-Меркаптопіруватсульфуртрансфераза КФ 2.8.1.2	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{SH} \\ \text{3-меркаптопіруват} \end{array} + \text{R-SH} \xrightarrow{-\text{піруват}} \text{R-S-SH} \xrightarrow[\text{+ R-S-S-R}]{+\text{R-SH}} \text{H}_2\text{S} $ <p style="text-align: center;">персульфіди</p>

NMDA-рецепторів нейронів до глутамату, стимулює надходження Ca²⁺ в астроцити, збільшує синаптичну активність, активує цистин-глутаматні антипортери, посилює синтез глутатіону в нейронах, а також потенціює ефекти біогенних амінів (γ-аміномасляної кислоти, глутамату, серотоніну, дофаміну, адреналіну та норадреналіну) й ацетилхоліну [9, 13, 21].

Гомоцистеїн у нейронах самоокиснюється до гомоцистеїнової кислоти, що супроводжується накопиченням у цих клітинах гідроген пероксиду [28]. Існують дані, що гомоцистеїнова кислота може також утворюватись при окисненні метіоніну [4]. Секреція гомоцистеїнової кислоти активується у відповідь на електричну стимуляцію нейронів або збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію [29]. Показано, що гомоцистеїнова кислота володіє високою ексайтотоксичністю, яка є значно вищою, ніж у ГЦ [28]. Її цитотоксична дія в нейронах гіпокампа реалізується через активацію NMDA-рецепторів, а в клітинах Пуркінє – по-NMDA-рецепторів, а саме AMPA- та кайнатних рецепторів [29].

У тканинах мозку ГЦ може помилково взаємодіяти з тРНК^{мет} (або тРНК^{лей}, тРНК^{іле}) і утворювати комплекс, який специфічно розпізнається відповідною аміноацил-тРНК-синтетазою (рис. 3) [18]. Специфічна тРНК-синтетаза (наприклад метіонін-тРНК-синтетаза) виправляє пошкодження: забезпечує конверсію ГЦ до

тіолактону. Останній є дуже токсичною речовиною, тому швидко гідролізується мітохондріальною тіолактоназою мозку [26]. Дефіцит тіолактонази (параоксонази 1) супроводжується накопиченням тіолактону ГЦ, який викликає модифікацію білків, автоімунні реакції, накопичення амілоїду та загибель нейронів. Зростання вмісту тіолактону ГЦ асоціюється з розвитком епілептичних судом та хвороби Альцгеймера [7].

Регуляція метаболізму гомоцистеїну та гідроген сульфіду в мозку

Можна виділити три основні шляхи регуляції метаболізму ГЦ та H₂S: метаболітний, нутрієнтний та гуморальний.

Метаболітна регуляція. У тканинах мозку обмін ГЦ та H₂S регулюється S-аденозилметіоніном, який є інгібітором метилентетрагідрофолатредуктази та метіонінсинтетази й одночасно активатором цистатіонін-β-синтази [11, 21, 23]. У високих концентраціях S-аденозилгомоцистеїн є конкурентним інгібітором метилтрансферазних реакцій [23]. Активність 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази інгібується Ca²⁺ незалежно від кальмодуліну, тоді як при підвищенні вмісту тіоредоксину та дигідроліпоєвої кислоти в клітинах її активність зростає [19].

Нутрієнтна регуляція. Певне значення в регуляції обміну ГЦ має вміст у дієті донорів метильних груп – бетаїну та метіоніну, а також вітамінів B₉, B₁₂. Вагомим доказом причетності

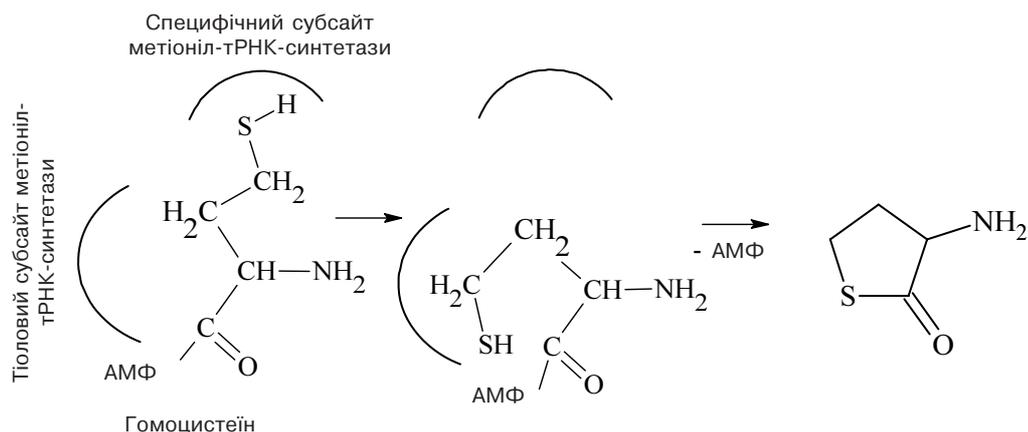


Рис. 3. Роль метіоніл-тРНК-синтетази в утворенні тіолактону ГЦ.

цих нутрієнтів до регуляції гомеостазу ГЦ є той факт, що високі дози вітамінів B_9 та B_{12} , а також бетаїну зменшують вміст ГЦ у тканинах мозку за експериментальної гіпергомоцистеїнемії, тоді як їх нестача, а також надлишок дієтарного метіоніну сприяють збільшенню вмісту ГЦ [6, 23].

Гуморальна регуляція. Дотепер залишається невідомою причетність гормонів до регуляції обміну ГЦ у мозку. В одному з досліджень показано, що введення тироксину підвищувало активність метіонінаденозилтрансферази в мозковій корі та мозочку щурів у неонатальний період, але значно знижувало активність цього ензиму в більш пізні терміни [10]. Існують дані щодо регуляції продукції H_2S у мозку тестостероном [11]. Показано, що в мозку самців мишей вміст H_2S достовірно вищий, ніж у

самок. Однократне введення тестостерону самкам мишей збільшує продукцію H_2S , натомість кастрація самців зменшує рівні H_2S у мозку [11].

Таким чином, питання щодо особливостей обміну H_2S та його регуляції в ЦНС за умов ГЦ залишаються відкритими. Не встановлено, чи змінюються кінетичні параметри H_2S -синтезувальних ензимів у мозку залежно від статі й віку, чи впливають модулятори обміну H_2S на реалізацію нейротоксичного ефекту ГЦ і якою мірою гіпогомоцистеїнемічні засоби можуть змінювати продукцію H_2S у мозку за умов ГЦ. Вивчення цих питань дозволить у перспективі оптимізувати підходи до лікування захворювань ЦНС, асоційованих із порушеннями обміну сірковмісних амінокислот та H_2S .

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, І. І. Андрушко, К. П. Повстівенко // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5–17.
2. Activation of glycine and extrasynaptic GABA(A) receptors by taurine on the substantia gelatinosa neurons of the trigeminal subnucleus caudalis / T. T. Nguyen, J. P. Bhattarai, S. J. Park, S. K. Han // *Neural. Plast.* – 2013. – № 2013. – P. 740581. doi: 10.1155/2013/740581.
3. Bale S. Structural biology of S-adenosylmethionine decarboxylase / S. Bale, S. E. Ealick // *Amino Acids.* – 2010. – **38**, № 2. – P. 451–460.
4. Bern M. Conversion of methionine into homocysteine acid in heavily oxidized proteomics samples / M. Bern, J. Saladino, J. S. Sharp // *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.* – 2010. – **24**, № 6. – P. 768–772.
5. Betaine-homocysteine methyltransferase-2: cDNA cloning, gene sequence, physical mapping, and expression of the human and mouse genes / L. H. Chad-

wick, S. E. McCandless, G. L. Silverman [et al.] // *Genomics.* – 2000. – **70**. – P. 66–73.

6. Blom H. J. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects / H. J. Blom, Y. Smulders // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2011. – **34**, № 1. – P. 75–81.

7. Borowczyk K. Metabolism and neurotoxicity of homocysteine thiolactone in mice: evidence for a protective role of paraoxonase 1 / K. Borowczyk, D. M. Shih, H. Jakubowski // *J. Alzheimers Dis.* – 2012. – **30**, № 2. – P. 225–231.

8. Brain 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3MST): cellular localization and downregulation after acute stroke / H. Zhao, S-J. Chan, Y-K. Ng, P-T-H. Wong // *PLoS ONE.* – 2013. – **8**, №6. – e67322. doi:10.1371/ journal.pone.0067322.

9. Dynamic change of hydrogen sulfide after traumatic brain injury and its effect in mice / M. Zhang, H. Shan, T. Wang [et al.] // *Neurochem. Res.* – 2013. – **38**, № 4. – P. 714–725.

10. Effects of thyroxine on methionine adenosyltransferase activity in rat cerebral cortex and cerebellum during postnatal development / R. M. Di Giorgio, V. Fodale, S. Macaione, G. C. De Luca // J. Neurochem. – 1983. – **41**, № 3. – P. 607–610.
11. Eto K. The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-L-methionine in mouse brain / K. Eto, H. Kimura // J. Neurochem. – 2002. – **83**, № 1. – P. 80–86.
12. Functional analysis of human S-adenosylhomocysteine hydrolase isoforms SAHH-2 and SAHH-3 / K. Fumic, R. Beluzic, M. Cuk [et al.] // Eur. J. Hum. Genet. – 2007. – **15**. – P. 347–351.
13. Gadalla M. M. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter / M. M. Gadalla, S. H. Snyder // J. Neurochem. – 2010. – **113**. – P. 14–26.
14. Homocysteine as a predictor of early neurological deterioration in acute ischemic stroke / H. M. Kwon, Y. S. Lee, H. J. Bae, D. W. Kang // Stroke. – 2014. – **45**, № 3. – P. 871–873.
15. Homocysteine in tissues of the mouse and rat / P. M. Ueland, S. Helland, O. J. Broch, J. S. Schanche // J. Biol. Chem. – 1984. – **259**, № 4. – P. 2360–2364.
16. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders / M. Petras, Z. Tatarkova, M. Kovalska [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2014. – **65**, № 1. – P. 15–23.
17. Jakubowski H. Pathophysiological Consequences of Homocysteine Excess // J. Nutr. – 2006. – **136**. – P. 1741–1749.
18. Jakubowski H. Quality control in tRNA charging – editing of homocysteine / H. Jakubowski // Acta Biochim. Pol. – 2011. – **58**, № 2. – P. 149–163.
19. Kimura H. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant / H. Kimura, N. Shibuya, Y. Kimura // Antioxid. Redox. Signal. – 2012. – **17**, № 1. – P. 45–57.
20. Kimura H. Hydrogen sulfide: its production and functions // Exp. Physiol. – 2011. – **96**, № 9. – P. 833–835.
21. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system / H. Kimura // Neurochem. Int. – 2013. – **63**, № 5. – P. 492–497.
22. Leichert L. I. Protein thiol modifications visualized in vivo / L. I. Leichert, U. Jakob // PLoS. Biol. – 2004. – **2**, № 11. – P. 1723–1733.
23. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia / R. Obeid, W. Herrmann // FEBS Lett. – 2006. – **580**, № 13. – P. 2994–3005.
24. Park M. H. Polyamines and their metabolites as diagnostic markers of human diseases / M. H. Park, K. Igarashi // Biomol Ther (Seoul). – 2013. – **21**, № 1. – P. 1–9.
25. Prediction of reversibly oxidized protein cysteine thiols using protein structure properties / R. Sanchez, M. Riddle, J. Woo, J. Momand // Protein. Sci. – 2008. – **17**, № 3. – P. 473–481.
26. Quantification of neutral cysteine protease bleomycin hydrolase and its localization in rat tissues / Y. Kamata, Y. Itoh, A. Kajiya [et al.] // J. Biochem. – 2007. – **141**, № 1. – P. 69–76.
27. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide / N. Shibuya, Y. Mikami, Y. Kimura [et al.] // J. Biochem. – 2009. – **146**, № 5. – P. 623–626.
28. Why is homocysteine toxic for the nervous and immune systems? Boldyrev A., E. Bryushkova, A. Mashkina, E. Vladychenskaya // Curr. Aging. Sci. – 2013. – **6**, № 1. – P. 29–36.
29. Yuzaki M. Characterization of L-homocysteate-induced currents in Purkinje cells from wild-type and NMDA receptor knockout mice / M. Yuzaki, J. A. Connor // J. Neurophysiol. – 1999. – **82**, № 5. – P. 2820–2826.

П. А. Юрченко, А. В. Мельник, Н. В. Заичко, М. М. Йолтуховский
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ГОМОЦИСТЕИНА И ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Резюме

Нарушения обмена метионина и гомоцистеина ассоциируются с нейроваскулярными и нейродегенеративными заболеваниями. Метаболизм серосодержащих аминокислот в мозге имеет определенные особенности, которые детерминируют его особую чувствительность к токсическому действию гипергомоцистеинемии. В представленном обзоре обобщена современная информация о ключевых путях метаболизма метионина, гомоцистеина и гидроген сульфида, их биологической роли и особенностях регуляции в мозге животных и человека, обозначены перспективы дальнейших исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гомоцистеин, гидроген сульфид, ферменты, метаболизм, мозг.

P. O. Yurchenko, A. V. Melnyk, N. V. Zaichko, M. M. Yoltukhivskyy
M. I. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF HOMOCYSTEINE AND HYDROGEN SULFIDE METABOLISM IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Summary

Metabolic disorders of methionine and homocysteine are associated with neurovascular and neurodegenerative diseases. Metabolism of sulfur-containing amino acids has certain features in the brain that determine its particular sensitivity to the toxic effects of hyperhomocysteinemia. The present review summarizes recent information about the key pathways of methionine, homocysteine and hydrogen sulfide, their biological role and peculiarities of regulation in animal and human brain, perspectives for future research directions.

KEY WORDS: homocysteine, hydrogen sulfide, enzymes, metabolism, brain.

Отримано 01.08.14

Адреса для листування: П. О. Юрченко, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ПЛР-ДІАГНОСТИКА: ПРИНЦИПИ, ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР, або PCR) – експериментальний метод молекулярної біології, спосіб значного збільшення малих концентрацій бажаних фрагментів ДНК у біологічному матеріалі. Молекулярно-генетичні дослідження сьогодні виконують на основі ПЛР-досліджень. У статті подано сучасні дані щодо принципу даного методу та основних етапів проведення ПЛР-досліджень. Наведено головні вимоги, які висувають до структури та роботи в ПЛР-лабораторії. Показано основні сфери застосування ПЛР у медицині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: полімеразна ланцюгова реакція, лабораторія, медицина.

Принцип методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР, Polymerase chain reaction, PCR) розробив у 1983 році американський біохімік Кері Мюлліс. Відкриття ПЛР стало однією з найбільш визначних подій у галузі молекулярної біології за останні 30 років. За це відкриття вчений у 1993 році був удостоєний Нобелівської премії в галузі хімії [8].

Поява методу ПЛР була зумовлена значними попередніми досягненнями в галузі молекулярної генетики, насамперед розшифровкою нуклеотидної послідовності геномів ряду мікроорганізмів. ПЛР стала також можливою завдяки відкриттю унікального ферменту Таq-ДНК-полімерази, що міститься в бактеріях, які живуть у гейзерах. Особливість цього виду ферменту полягає в її винятковій термостійкості (витримує нагрівання до температури кипіння без втрати активності) й високій робочій температурі (оптимум роботи – 72 °С). Цікаво, що перша публікація про метод ПЛР з'явилася в листопаді 1985 року в журналі "Science" і мала назву Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Saiki R. K., Scharf S., Faloona F., Mullis K. B., Horn G. T., Erlich H. A., Arnheim N. *Science* 1985 Dec 20; 230 (4732): 1350-4 [7, 16].

Точність, простота виконання, високі показники чутливості й специфічності принесли цьому методу заслужену популярність. За короткий час ПЛР-аналіз швидко вийшов з науково-дослідних лабораторій у сферу практичного клінічного використання.

На сьогодні існує декілька модифікацій ПЛР, розробляють нові ампліфікаційні технології, © О. М. Олещук, А. Є. Мудра, Н. Б. Зозуляк, 2014.

основані на клонуванні як ДНК, так і РНК-фрагментів. З подібних методів, апробованих на клінічному матеріалі, можна назвати лігазну ланцюгову реакцію (ЛЛР, LCR), NASBA (Nucleic Acids Sequence-Based Amplification), метод з використанням QВ-реплікази. В останніх двох методах реакція здійснюється в ізотермічному режимі, й для її проведення не потрібно ампліфікаційного обладнання [10, 12, 15, 17, 18].

Принцип методу ПЛР.

Метод ПЛР ґрунтується на виявленні у матеріалі специфічних фрагментів ДНК (РНК) різноманітних біооб'єктів, їх вибіркового синтезу до концентрації, за якої їх легко детектувати, і подальшому визначенні продуктів реакції ампліфікації – ампліконів [1].

ДНК – унікальний носій генетичної інформації у всіх існуючих на Землі організмів, за винятком РНК-вмісних вірусів [2].

Унікальна властивість ДНК полягає в її здатності подвоюватися після розплітання спіралі та розходження ниток ДНК. Подвоєння ДНК (реплікація) здійснюється (за принципом комплементарності) ензимом – ДНК-полімеразою. Для того, щоб ензим розпочав свою роботу, потрібна наявність початкового дволанцюгового фрагмента ДНК. Такий фрагмент утворюється за взаємодії короткого одноланцюгового фрагмента ДНК – праймера з комплементарною ділянкою відповідного ланцюга батьківської ДНК. Реплікація відбувається на двох нитках ДНК, але нарощуються вони в протилежних напрямках. У результаті реплікації з однієї дволанцюгової молекули ДНК утворюється дві дволанцюгові, кожна з яких містить один ланцюг від материнської молекули ДНК та другий, дочірній, – новосинтезований. Цикл

реплікації ДНК включає три основні стадії: 1) розплетання спіралі ДНК і розходження ланцюгів (денатурацію); 2) приєднання праймерів; 3) добудову дочірнього ланцюга ДНК. У ПЛР вказані процеси здійснюються в пробірці у циклічному режимі. Перехід від однієї стадії реакції до іншої досягається зміною температури інкубованої суміші [1, 5–7].

Для проведення ПЛР необхідно мати: 1) два синтетичних олігонуклеотидних праймери (довжиною приблизно по 20 нуклеотидів), які комплементарні до ділянок ДНК із протилежних ланцюгів, що фланкують послідовність – мішень (праймери обмежують фрагмент ДНК, який буде мільйони разів скопійований ензимом Таq-ДНК-полімеразою, що приєднується до 3'-кінців праймерів для добудови їх заданої довжини (в декілька сотень пар основ)); 2) ДНК-мішень; 3) термостабільну ДНК-полімеразу, яка не втрачає активності при температурі 95 °С; 4) чотири дезоксирибонуклеотиди; 5) буферну систему для ефективної роботи ДНК-полімери, що обов'язково містить іони магнію.

Розробка праймерів для ПЛР є однією з найвідповідальніших ланок у проведенні діагностики. Потрібно підібрати такий фрагмент молекули ДНК, який би відрізнявся генетичною консервативністю і був би присутній тільки в досліджуваному гені. При цьому довжина такого фрагмента повинна становити 15–30 нуклеотидів. Виконати таку роботу допомагають спеціальні комп'ютерні програми, що використовують інформацію про нуклеотидну послідовність відомих мікроорганізмів або генів людини. Отримати цю інформацію можна з міжнародних комп'ютерних банків даних (Gen bank, EMBL) через мережу "Інтернет". Синтез праймера по заданій послідовності нуклеотидів не є технічно складним і здійснюється в автоматичних синтезаторах [7].

З основних етапів проведення ПЛР обов'язково слід виділити три: 1) підготовку проби біоматеріалу, тобто виділення ДНК або РНК; 2) власне полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР-ампліфікацію); 3) детекцію продукту ПЛР (ампліфікованої нуклеїнової кислоти) [4, 8].

Підготовка проб (виділення ДНК і РНК із біологічного матеріалу). Зразки біооб'єкта спеціально обробляють для перебігу лізису клітин, видалення білкових, полісахаридних і ліпідних компонентів. Для цього використовують різні методи, в тому числі сорбентний, за яким відбувається сорбція ДНК (РНК) на сорбенті після лізису клітин, багатократної відмивки нуклеїнових кислот (НК) і наступної елюції ДНК (РНК) буферним розчином та ін. У результаті такої

обробки отримують розчин, який містить ДНК (РНК) досліджуваного об'єкта. Комплект для виділення ДНК (РНК) вибирають залежно від виду біооб'єкта. Детально методики виділення ДНК (РНК) із біооб'єктів описані в інструкціях, які додає виробник до комплекту реагентів для виділення НК. Отриманий розчин ДНК можна зберігати протягом тижня за температури 2–8 °С та до року за температури -60 °С. Не підлягає зберіганню розчин очищеної РНК. Його необхідно відразу ж використовувати у дослідженнях. Проби можна зберігати тільки у вигляді отриманих за допомогою зворотної транскрипції розчинів комплементарної ДНК (кДНК) [7, 8].

Вимоги до ПЛР-лабораторії.

Вимоги до організації праці в ПЛР-лабораторіях узагальнені та сформульовані у нормативних документах і методичних вказівках [4, 6, 9, 12]. В останніх визначаються принципи організації лабораторії та етапи виконання аналізу з використанням ПЛР: відбір проб, первинна обробка, зберігання, умови перевезення, знезаражування біоматеріалу, виділення нуклеїнових кислот, проведення зворотної транскрипції і/або ампліфікації, облік і реєстрація результатів дослідження біоматеріалу.

Методичними вказівками регламентуються дії персоналу лабораторій при виконанні досліджень за допомогою методів ампліфікації НК, які проводять з використанням зареєстрованих у встановленому порядку комплектів реагентів та обладнання.

ПЛР – високотехнологічний метод, що вимагає дотримання найсуворіших правил оснащення лабораторії. Досить сказати, що в приміщенні повинен бути встановлений фільтр біологічної очистки зі ступенем 99,9 %, оскільки в повітрі постійно присутній неймовірний коктейль із фрагментів ДНК усіляких живих організмів, і в процесі підготовки до проведення реакції зразок може бути забруднений з навколишнього середовища. Це є, напевно, однією з найсерйозніших проблем при проведенні ПЛР-діагностики – можливість контамінації. Потрапляння в реакційну пробірку слідів позитивної ДНК (специфічних продуктів ампліфікації ДНК – амплікон; ДНК-стандарту, використовуюваного як позитивний контроль; позитивної ДНК клінічного зразка) приводить до ампліфікації в процесі ПЛР специфічного фрагмента ДНК і, як наслідок, до появи хибнопозитивних результатів.

У процесі роботи можуть зустрітися два види контамінації:

1) перехресна контамінація від проби до проби (в процесі обробки клінічних зразків або

при розкрапуванні реакційної суміші), яка призводить до появи спорадичних хибнопозитивних результатів;

2) контамінація продуктами ампліфікації (амплікону), що має найбільше значення, оскільки в процесі ПЛР амплікони накопичуються у величезній кількості та є ідеальними продуктами для реампліфікації.

Контамінація залишковою мінімальною кількістю амплікону посуду, автоматичних піпеток і лабораторного обладнання, поверхні лабораторних столів або навіть поверхні шкіри співробітників лабораторії призводить до появи систематичних хибнопозитивних результатів.

Необхідно територіально розділити різні стадії проведення аналізу, розміщуючи їх в окремих приміщеннях, таких, як:

1. Пре-ПЛР-приміщення, де проводять обробку клінічних зразків, виділяють ДНК, готують реакційну суміш для ПЛР і ставлять ПЛР (при наявності умов два останні етапи рекомендується також проводити в додатковому окремому приміщенні). У цих приміщеннях забороняється виконувати всі інші види робіт.

2. Пост-ПЛР-приміщення, де проводять детекцію продуктів ампліфікації. В цьому приміщенні допускається використовувати інші методи детекції. Бажано кімнату детекції продуктів ампліфікації розташувати якнайдалі від пре-ПЛР-приміщень.

Робочі приміщення повинні бути оснащені ультрафіолетовими лампами з максимумом випромінювання в межах 260 нм (типу ДБ-60) з розрахунку 2,5 Вт на 1 м³. Лампи потрібно розташувати так, щоб прямому опроміненню піддавалися поверхні робочих столів, обладнання та матеріали, з якими має контакт оператор під час проведення ПЛР-аналізу. Опромінення необхідно проводити протягом 1 год до початку роботи і протягом 1 год після її закінчення.

Роботу потрібно виконувати в лабораторному одязі, який необхідно змінювати при переході з одного приміщення в інше, і в одноразових рукавичках. Одяг з різних приміщень слід обробляти окремо. Бажано, щоб на різних етапах проведення ПЛР-аналізу працювали різні співробітники.

Слід використовувати окремі набори дозаторів, пластикового та скляного посуду, лабораторного обладнання, халатів і рукавичок, призначених для різних стадій аналізу, які не можна переносити з одного приміщення в інше. Обладнання, матеріали та інвентар у кожній кімнаті повинні мати відповідне маркування.

Всі етапи роботи необхідно проводити тільки з використанням одноразових витратних матеріалів: наконечників для автоматичних піпеток, пробірок, рукавичок і т. д. Обов'язково потрібно міняти наконечники при переході від проби до проби. Бажано використовувати наконечники з фільтром – аерозольним бар'єром для запобігання потраплянню мікрокрапель розчину в піпетку. Використані пробірки і наконечники треба скидати у спеціальні контейнери або посудину, що містять дезінфекційний розчин [6, 7, 9, 18].

Оснащення ПЛР-діагностичної лабораторії.

Приміщення для підготовки проб:

1. Окремий стіл або настільний бокс із бактерицидною лампою.

2. Холодильник на 2–8 °С із морозильною камерою.

3. Термостат для пробірок типу “Еппендорф” на 1,5 мл на 25–100 °С.

4. Мікроцентрифуга для пробірок типу “Еппендорф” до 16 тис. г.

5. Струшувач для пробірок типу “Еппендорф” (центрифуга / вортекс).

6. Вакуумний насос із колбою-пасткою для відсмоктування надосадової рідини.

7. Ампліфікатор.

8. Окремі набори автоматичних піпеток змінного об'єму для виділення ДНК і приготування реакційної суміші.

9. Штативи для мікропробірок, автоматичних піпеток і наконечників до автоматичних піпеток.

10. Одноразові наконечники для піпеток змінного об'єму (бажано з аерозольним бар'єром).

11. Одноразові поліпропіленові мікропробірки типу “Еппендорф” на 1,5 мл.

12. Одноразові поліпропіленові мікропробірки для ПЛР на 0,2 або 0,5 мл залежно від моделі ампліфікатора.

13. Одноразові гумові рукавички.

14. Окремий халат.

Пост-ПЛР-приміщення:

1. Окремий стіл.

2. Камера для горизонтального електрофорезу.

3. Джерело постійного струму для електрофорезу.

4. Ультрафіолетовий транслюмінатор для перегляду гелів.

5. Ваги з точністю зважування до 10 мг.

6. Посуд: мірні циліндри на 50 мл, 1 л; колба на 200 мл з термостійкого скла.

7. Електроплита або мікрохвильова піч для плавлення агарози.

8. Окремий набір автоматичних піпеток змінного об'єму.

9. Штативи для мікропробірок, автоматичних піпеток і наконечників до автоматичних піпеток.

10. Одноразові наконечники для піпеток змінного об'єму.

11. Одноразові гумові рукавички.

12. Окремий халат.

Окрім того, в ПЛР-лабораторії необхідно мати сушильну шафу, дистильовану воду, етиловий спирт, соляну і сірчану кислоти, біхромат калію для приготування хромової суміші, пергідроль, хлорамін, посуд для дезінфекційних розчинів.

За умов досліджень з використанням ампліфікації нуклеїнових кислот обов'язкове забезпечення потоковості руху матеріалу, проб НК, продуктів ампліфікації. Робота в лабораторії повинна бути організована тільки в одному напрямку від пре-ПЛР-приміщень до пост-ПЛР-приміщень [3].

У ПЛР-лабораторіях, які використовують з діагностичною метою, здійснюють регулярний внутрішньолабораторний контроль якості досліджень з періодичністю, яка залежить від обсягу роботи і визначена керівником лабораторії, але не менше одного разу на квартал.

Лабораторія повинна брати участь, у встановленому порядку, в заходах (програмах) щодо зовнішньої оцінки якості лабораторних досліджень за конкретними нозологічними формами не менше одного разу на рік.

Внутрішньолабораторний і зовнішній контроль якості лабораторних досліджень здійснюють шляхом аналізу шифрованих атестованих контрольних панелей, які містять позитивні й негативні проби. Під час внутрішньолабораторного контролю якості використовують атестовані на наявність аналізу (його кількості) панелі виробників комерційних наборів [3, 6, 7, 9, 18].

Сфери застосування ПЛР у медицині.

1. Діагностика інфекційних захворювань.

ПЛР використовують для діагностики ВІЛ, вірусних гепатитів, герпетичної інфекції, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна–Барр, папіломавірусної інфекції, хламідіозної, мікоплазмової і гелікобактерної інфекцій та ін. Основними перевагами ПЛР як методу діагностики інфекційних захворювань є його висока специфічність і чутливість, пряме визначення наявності збудника, висока швидкість отримання результату, можливість діагностики не тільки гострих, а й латентних інфекцій.

Застосування ПЛР для діагностики туберкульозу дозволяє в короткі терміни (до 48 год) виявити мікобактерії в будь-якому біологічному

матеріалі. Аналітична чутливість комерційних тест-систем дозволяє ідентифікувати поодинокі колонії (до 10 клітин). Це особливо важливо, тому що мікобактерії повільно ростуть при культивуванні на поживних середовищах [1, 11, 14].

2. Онкологічні захворювання.

ПЛР є найбільш прийнятним способом точно і швидко визначати аномальну ДНК. Висока чутливість методу дає змогу визначати аномальну ДНК у мізерно малій кількості, що дозволяє виявляти неопластичні клітини на доклінічній стадії пухлинного процесу. Основні напрямки використання ПЛР при онкологічній патології включають: ДНК-діагностику спадкових форм раку; ДНК-діагностику спорадичних форм раку; визначення мікрометастазів; ДНК-діагностику біологічних канцерогенів (HPV 16-го і 18-го типів, HBV і HCV, ретровіруси тощо); доклінічну діагностику пухлин (визначення протой антионкогенів); прогноз захворювання, успішності призначеної терапії, ефективність проведеного лікування на основі діагностики функціональної активності онкогенів; дослідження "архівних" біоптатів із встановленим клініко-гістологічним діагнозом [7, 12, 18].

3. Трансплантологія.

Сучасна трансплантаційна хірургія не можлива без використання методу ПЛР, який гарантовано показує ступінь тотожності гомотрансплантатів за антигенами головного комплексу гістосумісності (HLA) класів I і II, відповідальних за реакцію відторгнення. Застосовуючи ПЛР для зіставлення генетичної сумісності донора і реципієнта, результати дослідження можна отримати в максимально короткий час [7].

4. Судово-медична практика.

За останні кілька років метод ПЛР став основним методом експертної оцінки. Для досліджень можна використовувати висушені плями крові, шматочки органічної тканини (наприклад кісткової), змиви з носоглотки, зскрібки зі слизової геніталій і, що найдивніше, фіксовані гістологічні препарати. Генетичні відмінності й збіги визначають, досліджуючи високополіморфні ділянки молекул нуклеїнових кислот, зокрема ділянки зі змінною кількістю коротких повторів (variable number of tandem repeats, VNTR). Аналіз алельних варіантів кількох поліморфних VNTR-локусів дозволяє простежити родинні зв'язки індивідуума або встановити причетність тієї чи іншої особи до злочину. На даний час у криміналістиці й судовій медицині метод ПЛР використовують для визначення батьківства; ідентифікації особистості невідомих трупів; доказу причетності особи до вчинення злочину [7, 18].

5. Клініка внутрішніх хвороб.

Розуміння молекулярних основ низки спадкових захворювань людини стало основою вивчення молекулярно-генетичних механізмів формування складних ознак, у тому числі полігенних і мультифакторіальних захворювань. До останніх відносять метаболічний синдром, який включає вісцеральне ожиріння, дисліпідемію, артеріальну гіпертензію, порушення вуглеводного обміну і цукровий діабет, бронхіальну астму, виразкову хворобу, алергічні захворювання та ін. [7, 13].

6. Персоналізована медицина (фармакогенетика).

ПЛР застосовують для встановлення безпечності лікарських засобів, причини розвитку побічних ефектів при використанні певних ліків чи відсутності їх ефективності в індивідуальних відмінностях, що детермінуються на генетичному рівні, дії або метаболізму ліків та їх похідних. Наприклад, в одного пацієнта певний вид цитохрому може бути більш активним, в іншого – менш. Для того, щоб визначити, який різновид цитохрому проявляється у пацієнта, перед застосуванням ліків проводять ПЛР-аналіз. За його результатами можна прогнозувати ефективність чи безпечність фармакотерапії. Такий аналіз називають попереднім генотипуванням (англ. prospective genotyping) [7, 8, 12, 18].

7. Використання методу ПЛР у наукових дослідженнях.

А. Ізоляція генетичного матеріалу.

ПЛР дозволяє легко ізолювати специфічні регіони послідовності ДНК з матеріалу цілого геному з наступним їх використанням в інших генетичних методах.

В. Секвенування ДНК.

ПЛР є невід'ємною складовою методу секвенування з використанням мічених флуоресцентною міткою або радіоактивним ізотопом дидезоксинуклеотидів, оскільки в ході полімеризації в ланцюг ДНК вбудовуються похідні нуклеотидів, мічені міткою. Приєднання дидезоксинуклеотиду до ланцюга, що синтезується, призводить до припинення синтезу, дозволяючи визначити положення специфічних нуклеотидів після розділення в гелі.

Клонування гена – це процес виділення гена і, в результаті генно-інженерних маніпу-

ляцій, отримання великої кількості продукту даного гена. ПЛР використовують для того, щоб ампліфікувати ген, який потім вбудовується у вектор – фрагмент ДНК, що переносить чужорідний ген у той самий чи інший організм, зручний для вирощування. Як вектори застосовують, наприклад, плазміди або вірусну ДНК. Вставку генів у чужорідний організм зазвичай використовують для отримання продукту цього гена – РНК або, найчастіше, білка. Таким чином, у промисловій кількості отримують багато білків для застосування в сільському господарстві, медицині та ін.

С. Визначення кількості ДНК.

Деякі види ПЛР (наприклад Real-time PCR) дозволяють визначати кількість ДНК у зразку. Що особливо важливо, метод можна використовувати для аналізу невеликої кількості зразка.

Д. Визначення експресії генів.

У клітинах кожен ген експресується через виробництво матричної, рибосомної або транспортної РНК; мРНК потім використовується для трансляції – синтезу певного білка. Кількість РНК у клітині для даного гена показує, наскільки ген зараз активний. Використовуючи зворотну транскрипцію для отримання ДНК, комплементарної мРНК (кДНК), а потім ПЛР для ампліфікації цих молекул, можна визначити рівень експресії гена [7, 10, 18].

Перспективи ПЛР. Впровадження ПЛР-діагностики показало, що розвиток медицини тісно пов'язаний з досягненнями фундаментальних наук. Основними завданнями сучасної медицини є встановлення причин виникнення і механізмів розвитку патологічного процесу, розробка адекватних методів діагностики, лікування та профілактики на молекулярному і клітинному рівнях. Удосконалення молекулярної діагностики здійснюється із застосуванням нових революційних технологій, оснований на полімеразній ланцюговій реакції і гібридизації. Створення потужної молекулярно-генетичної лабораторії в нашому університеті дозволить зробити значний крок у напрямку діагностики патогенів, спадкових захворювань, схильності до соціально значущих мультифакторіальних хвороб, онкологічних захворювань, для вивчення ефективності застосування лікарських засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів / В. О. Федоренко, Б. О. Осташ, М. В. Гончар, Ю. В. Ребець. – Л. : Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007. – 277 с.
2. Глазко В. И. Введение в генетику, биоинформатика, ДНК-технология, генная терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболика : учеб. пособ. / В. И. Глазко, Г. В. Глазко ; Ин-т агроэкологии и биотехнологии УААН. – К. : КВИЦ, 2003. – 640 с.
3. Кудрявцева Л. В. Опыт модернизации клинико-диагностической лаборатории ФГБУ "Поликлиника № 1" Управления делами Президента Российской Федерации / Л. В. Кудрявцева // Лаб. служба. – 2012. – № 1. – С. 4–8.
4. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / за ред. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
5. Лопухов Л. В. Полимеразная цепная реакция в микробиологической диагностике / Л. В. Лопухов, М. В. Эльдейнштейн // Клини. микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – 2, № 3. – С. 96–105.
6. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV группы патогенности : методические указания МУ 1.3.2569-09. – М. : Госсанэпиднадзор, 2009.
7. Романенко В. Н. Полимеразная цепная реакция: принципы, достижения, перспективы использования в диагностике инфекций / В. Н. Романенко, И. В. Свистунов, О. А. Лавриненко // Лаб. диагностика. – 1998. – № 4. – С. 45–51.
8. Стегній Б. Т. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях : наук.-метод. посіб. / Б. Т. Стегній, А. П. Герілович, О. Ю. Лиманська ; ред. Б. Т. Стегній, А. П. Герілович. – Х. : НТМТ, 2010. – 227 с.
9. Умови проведення полімеразної ланцюгової реакції у лабораторній практиці (методичні аспекти) / М. С. Калачнюк, Л. Г. Калачнюк, Д. О. Мельничук [та ін.] // Біологія тварин. – 2012. – 14, № 1. – С. 660–667.
10. Bustin S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. Review. / S. A. Bustin // J. Mol. Endocrinol. – 2000. – 25(2). – 169–193.
11. Developing Methodologies for the Use of Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis and Monitoring of Trypanosomiasis : Prepared under the Framework of an RCA Project with the Technical Support of the Joint FAO/IAEA Programme of Nuclear Techniques in Food and Agriculture / IAEA-TECDOC-1559. – IAEA, 2007. – 294 p.
12. Edwards K. Real-time PCR: An essential guide / K. Edwards, J. Logan, N. Saunders. – Wymondham : Horizon Bioscience, 2004. – 346 p.
13. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // R. K. Saiki, S. Scharf., F. Faloona [et al.] // Science. – 1985. – 230 (4732). – P. 1350–1354.
14. Kuzmak J. Wykrywanie prowirusowego DNA wirusa białaczki bydła metoda polymerase chain reaction (PCR) / J. Kuzmak, J. Gtundbolck, B. Kozaczynska // Medycyna Vet. – 1993. – 49. – P. 312–315.
15. Long PCR / D. Cheng, Sh.-Y. Chang, P. Gravitt, R. Reppas // Nature. – 1994. – 369. – P. 684–685.
16. Sambrook J. Molecular cloning / J. Sambrook, D. Russel. — N.Y. : Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001. – 2222 p.
17. Schmittgen T. D. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_t method / T. D. Schmittgen, K. J. Livak // Nature Protocols. – 2008. – № 3. – P. 1101–1108.
18. Schmittgen T. D. Real-time quantitative PCR. / T. D. Schmittgen // Methods. – 2001. – № 25(4). – P. 383–385.

А. М. Олещук, А. Е. Мудра, Н. Б. Зозуляк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПЦР-ДИАГНОСТИКА: ПРИНЦИПЫ, ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Резюме

Полимеразная цепная реакция (ПЦР, или PCR) – экспериментальный метод молекулярной биологии, способ значительного увеличения малых концентраций желаемых фрагментов ДНК в биологическом материале. Молекулярно-генетические исследования сегодня выполняют на основе ПЦР-исследований. В статье представлены современные данные о принципе данного метода и основных этапах проведения ПЦР-исследований. Приведены главные требования, предъявляемые к структуре и работе в ПЦР-лаборатории. Показаны основные области применения ПЦР в медицине.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полимеразная цепная реакция, лаборатория, медицина.

PCR DIAGNOSTICS: PRINCIPLES, ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS

Summary

Polymerase chain reaction (PCR) is a simple experimental molecular biology technique that allows a specific stretch of DNA to be copied billions of times in a few hours. Carrying out molecular genetic studies are mainly based today on PCR. The article presents current data on the principle of the method and the main stages of PCR research. The basic requirements on the structure and operation of PCR - lab are imposed. The applicability of PCR in medicine is discussed.

KEY WORDS: polymerase chain reaction, laboratory, medicine.

Отримано 14.07.14

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

ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ЗА УМОВ ПОЛІТРАВМИ

У статті наведено літературні дані стосовно змін цитокінового профілю за умов множинної та комбінованої травми. Показано, що причиною високої частоти інфекційних ускладнень при тяжких травмах є імунні порушення, які або передують травмі, або розвиваються у постраждалих внаслідок обширності пошкоджених тканин, гострої масивної крововтрати або пошкодження життєво важливих органів, що найбільш характерно для тяжких поєднаних травм – політравм.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **цитокіновий профіль, імунні порушення, політравма.**

Причиною високої частоти інфекційних ускладнень при тяжких травмах є імунні порушення, які або передують травмі, або розвиваються у постраждалих внаслідок обширності пошкоджених тканин, гострої масивної крововтрати або пошкодження життєво важливих органів, що найбільш характерно для тяжких поєднаних травм – політравм. Огляд спеціальної літератури [1, 2, 6, 12, 17, 26], на жаль, не пояснює суті проблеми, залишивши поза увагою ключове питання – роль імунних порушень у патогенезі поліорганної дисфункції при тяжкій травмі. Проблема імунних розладів, супутніх тяжкій травмі, дуже важлива й актуальна, позаяк вкрай тяжку форму органофункціональних порушень – поліорганну недостатність, компонентом якої є дисфункція імунної системи, вважають безпосередньою причиною смерті більшості постраждалих від травм. У постраждалих з множинними й обширними пошкодженнями важлива роль у збільшенні частоти виникнення посттравматичного сепсису належить порушенням процесів імунореактивності, включаючи як уроджений, так і набутий імунітет [21, 25]. При цьому ступінь пригнічення імунітету при травмі, як правило, відповідає тяжкості отриманих пошкоджень.

Викликані травмою зміни у природній імунній реакції на множинні ураження пов'язані з їх тяжкістю, ступенем пошкодження тканин та наступними наслідками хвороби. На ранній стадії травматичної хвороби виникають деякі позитивні моменти: швидке розпізнавання інвазійних агентів, імунна стимуляція і швидка активація імунного захисту, швидка іммобілізація та ліквідація інвазійних агентів [11, 19, 23].

© С. Р. Підручна, 2014.

Вагомими регулювальними чинниками імунітету на тлі травматичної хвороби є про- і протизапальні цитокіни [7, 8, 9, 13, 14, 15]. Викликана травмою гострофазова реакція і, в подальшому, цитокінова сітка керують імунними реакціями, які у стані дисбалансу можуть викликати стан або переважного гіперзапалення, або пригнічення імунітету, або їх поєднання. Як наслідок порушуються взаємодія та правильне функціонування макрофагів і Т-клітин. Серед первинних ефекторів у цьому каскаді імунофізіологічних явищ на першому місці стоїть інтерлейкін-6 (IL-6), який збільшує вироблення основних запальних білків гострої фази: С-реактивного пептиду і α -2-макроглобуліну. В разі надмірної активації медіаторів запалення і наступної дисрегуляції імунокомпетентних клітин зростає ризик розвитку посттравматичних ускладнень, які потенційно переходять у синдром системної відповіді на запалення, сепсис, синдром поліорганної дисфункції або смертельний результат [20, 24].

Відомо, що без антигенної стимуляції цитокінова сітка функціонує на мінімальному рівні, при цьому клітини імунної системи практично не виділяють цитокіни і не реагують на них. Крім того, механізми імунної системи, що нормально функціонують, перешкоджають безконтрольному виділенню цитокінів та інших запальних медіаторів, забезпечуючи адекватну реакцію організму на запалення. На початку запальної реакції (відповідь на первинне надходження мікробів та їх токсинів із гнійно-септичного вогнища) в крові починають одночасно з'являтися як про-, так і протизапальні цитокіни. Без подальшої антигенної стимуляції цитокіни цих груп зрівноважують активність один одного. Разом

з тим, значна кількість травматичних пошкоджень не підлягає описаній закономірності. При цьому створюються умови для безперервного (багаторазового) надходження в тканини організму (черевну порожнину, системний кровотік, біологічні середовища) антигенних структур (мікроорганізмів, їх екзо- та ендотоксинів). У результаті відзначають суттєве переважання прозапальної антигенної стимуляції над активацією протизапальної ланки імунітету, що обов'язково запускає патологічний механізм системної запальної реакції. Накопичення в системному кровотоку та біологічних середовищах організму надлишкової концентрації протизапальних медіаторів зумовлює суттєві альтеративні зміни органів і систем людини з розвитком поліорганної та полісистемної патології і синдрому взаємного обтяження.

Існують переконливі докази того, що цитокінова відповідь у динаміці спостереження хворих з множинною травмою має системний характер. Запуск "цитокінового каскаду", очевидно, зумовлений надходженням у кровотік з пошкоджених тканин лізосомальних ферментів, активних метаболітів кисню, тканинних антигенів і активацією клітин, що активують цитокіни. Важкомолекулярні компоненти пошкоджених тканин, поглинаючись нейтрофілами і макрофагами, активують їх, стимулюючи утворення протизапальних цитокінів [3].

Фазові зміни показників імунітету, які супроводжують розвиток вісцеральних ускладнень політравм, відображають, поряд із показниками обмінних процесів і адаптаційних реакцій, специфіку патогенезу травматичної хвороби [5].

Згідно з концентрацією системної запальної відповіді [16], реакцію імунітету у відповідь на травму можна умовно поділити на три стадії. На першій стадії системної запальної відповіді відбуваються локальне продукування цитокінів у відповідь на травму, обмеження зони запалення та активація місцевих імунокомпетентних клітин. Викид малої кількості цитокінів у системний кровотік спостерігають на другій стадії системної запальної відповіді. Виконуючи функцію хемоатрактантів, вони викликають напрямлену міграцію у вогнище запалення гранулоцитів, моноцитів, лімфоцитів, тромбоцитів, що циркулюють у крові, активуються регіональний адаптивний імунітет і системні механізми природної резистентності організму. Цитокіни вивільняються клітинами і не тільки забезпечують інтегрування елементів системи імунітету для її ефективної реакції у відповідь на пошкодження, але й викликають системну реакцію

гострої фази. На третій стадії відбувається генералізація запальної реакції. У цей час у крові виявляють достатньо високу концентрацію цитокінів і перебіг запального процесу детермінується взаємодією про- і протизапальних медіаторів. Клінічно дана стадія проявляється у формі сепсису з множинними органами і системними дисфункціями, тяжким сепсисом або септичним шоком. При тяжкій травмі відбуваються стрімка активація і швидке виснаження усіх адаптаційних механізмів, включаючи можливість імунної системи [2, 10].

Цитокіни продукуються активованими клітинами імунної системи. До класичних прозапальних цитокінів належать фактори некрозу пухлин (ФНП), інтерлейкіни ІЛ-1, ІЛ-6 [13, 22]. При генералізованій запальній реакції спостерігають також тривалу активацію системи мононуклеарних фагоцитів, яка супроводжується гіперпродукуванням активних кисневих радикалів, що слід розглядати як фактор ризику розвитку антиоксидантної недостатності. За нормальних умов активація фагоцитарних клітин, яка супроводжується генерацією механізмів супероксидного вибуху, необхідна для здійснення цих ефекторних функцій, що має захисний характер. Однак навіть за нормальних умов фагоцити потребують відновлення резервів антиоксидантного захисту, оскільки ці ж клітини можуть ставати безпосередніми винуватцями альтерації тканин.

Системна запальна відповідь запускається при дії ініціюючих факторів, до яких при травмах належить безпосереднє пошкодження з наступною ішемією тканин [18]. Першочергово системна запальна відповідь формується, а потім наростає як системна реакція організму на екстраординарну дію, якою є політравма.

При тяжкій травмі внаслідок обширних вогнищ ураження, мікробного забруднення ран, виражених антигенемії та ендотоксикозу розвиток системної запальної реакції практично неминучий. При надмірному вираженні реакцій системної запальної відповіді неминуче розвивається дисфункція багатьох органофункціональних систем, крайнім проявом якої є поліорганна недостатність.

Таким чином, у результаті тяжкої травми в імунному статусі постраждалих спостерігають виражені зміни. Ці зміни відбуваються в більшості випадків на тлі нормального функціонування імунної системи.

У більшості досліджень вивчено окремі показники імунної системи як при травмах, так і при захворюваннях. Тільки в деяких роботах проведено комплексний імуномоніторинг, який

не дозволяє прогнозувати розвиток вісцеральних ускладнень тяжкої травми.

На сьогодні можна чітко констатувати відсутність єдиного алгоритму дослідження імунного статусу в постраждалих з тяжкою травмою, тому його розробка є актуальним і важливим

напрямком у вивченні травматичної хвороби. Поглиблення знань у цій галузі дозволяє суттєво підвищити ефективність медичної допомоги постраждалим, надавши можливість більш ранньої корекції імунної дисфункції на патогенетичному рівні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян В. В. Иммунный статус больных с политравмой в периоде острой реакции и ранних клинических проявлений травматической болезни / В. В. Агаджанян, М. М. Менделенко, М. В. Семенихина // Вестн. травмат. – 2004. – № 2. – С. 32–36.
2. Гуманенко Е. К. Политравма: травматическая болезнь, дисфункция иммунной системы, современная стратегия лечения / Е. К. Гуманенко, В. К. Козлов. – М. : ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 608 с.
3. Динамика изменения активности цитокинов и функций нейтрофилов в крови крыс после термического ожога кожи / В. И. Коненков, О. П. Макарова, Н. П. Бгатова, И. Г. Ракова // Цитокины и воспаление. – 2007. – 6, № 3. – С. 57–62.
4. Козлов В. И. Дисфункция иммунной системы в патогенезе травматической болезни / В. И. Козлов // Укр. журн. екстремал. медицины. – 2005. – № 3. – С. 5–16.
5. Кузин А. А. Госпитальные инфекции, связанные с травматической болезнью / А. А. Кузин, П. И. Огарков, В. В. Бояринцев // Новые технологии в военно-полевой хирургии и хирургии поврежденных мирного времени : материалы науч. конф. – СПб., 2006. – С. 298.
6. Мониторинг состояния иммунной системы и эндотелия кровеносных сосудов в прогнозе развития тяжелого сепсиса у пострадавших при политравме / И. М. Самохвалов, А. Е. Сосюкин, Н. С. Немченко [и др.] // Вест. Рос. Воен.-мед. акад. – 2009. – № 4 (28). – С. 34–38.
7. Павлова В. И. Уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови у животных, подвергшихся действию эмоционального болевого стресса / В. И. Павлова, Н. В. Мамылина // Цитокины и воспаление. – 2012. – 11, № 1. – С. 46–48.
8. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – 3, № 2. – С. 16–21.
9. Система цитокинов при тяжелой сочетанной травме / Н. Г. Гордиенко, Т. Ф. Соколова, Т. И. Долгих [и др.] // VIII Всерос. съезд анестезиол. реаниматол. – 2003. – С. 84.
10. Системный воспалительный ответ – адаптационная реакция организма на травму / И. М. Самохвалов, А. Е. Сосюкин, Н. С. Немченко [и др.] // Вест. Рос. Воен.-мед. акад. – 2009. – № 4 (28). – С. 88–93.
11. Тарасов А. Е. Иммунологические аспекты ожоговой болезни в клинике и эксперименте : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. мед. наук / А. Е. Тарасов. – Владивосток, 2009. – 19 с.
12. Травма: воспаление и иммунитет / Н. М. Калинина, А. Е. Сосюкин, Д. А. Воложанин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2005. – 4, № 1. – С. 28–35.
13. Хабаров А. С. Цитокины в иммунном ответе в норме и патологии. Иммунокоррекция : методические рекомендации / А. С. Хабаров, П. А. Шпиготовская, В. С. Дергачев. – Барнаул, 2004. – 53 с.
14. Цитокиновая система в прогнозировании течения травматического шока у больных с политравмой / Н. В. Ярыгин, С. В. Колобов, О. В. Кузнецова [и др.] // Новые технологии в военно-полевой хирургии и хирургии поврежденных мирного времени : материалы. науч. конф. – СПб., 2006. – С. 281–282.
15. Цитокиновый ответ при синдроме диабетической стопы: возможности прогнозирования нарушения заживления ран / Э. Ф. Баринов, Ю. Е. Лях, М. Э. Баринова, В. Г. Гурьянов // Патология. – 2011. – 8, № 2. – С. 30–32.
16. Шапо В. П. Эндогенная интоксикация и синдром системного воспалительного ответа при критических состояниях / В. П. Шапо, А. Н. Несторенко, Т. В. Джоджуа // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1 (Д). – С. 75–77.
17. Bucova M. Role of cytokines in the development of local and systemic inflammation and septic shock / M. Bucova // Vnitr. Lek. – 2002. – 48. – № 8. – P. 755–762.
18. Busl K. M. Hypoxic-ischemic brain injury: Pathophysiology, neuropathology, and mechanisms / K. M. Busl, D. M. Greer // Neurorehab. – 2010. – № 26(1). – P. 5–13.
19. Does liberation of interleukin-12 correlate with the clinical course of polytraumatized patients? / M. Wick, E. Kollig, M. Walz [et al.] // Chirurg. – 2000. – 71, № 9. – P. 1126–1131.
20. Early immunological defects in comatose patients after acute brain injury / B. Wolach, L. Sazbon, R. Gavrieli [et al.] // J. Neurosurg. – 2001. – 94. – P. 706–711.
21. Epidemiology of sepsis in patients with traumatic injury / T. M. Osborn, J. K. Tracy, J. R. Dunne [et al.] // Crit. Care Med. – 2004. – № 32. – P. 2234–2240.
22. Gebhard F. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? / F. Gebhard, H. Pfetsch, G. Steinbach [et al.] // Arch. Surg. – 2000. – 135, № 3. – P. 291–295.
23. Mahasweta D. New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury / D. Mahasweta, Subhra Mohapatra, Shyam S Mohapatra // Journal of Neuroinflammation. – 2012. – № 9. – P. 236.

24. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis / D. De Backer, J. Creteur, J. C. Presiser [et al.] // Am. J. Resp. Crit. Care Med. – 2002. – **166**. – P. 98–104.

25. Wetzler R. C. Multiple trauma in children: Critical care overview / R. C. Wetzler, R. S. Burns //

Critical Care Medicine. – 2002. – **30** (11). – P. 468–477.

26. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts—rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill / R. Zahorec // Bratisl. Lek. Listy. – 2001. – **102**, №1. – P. 5–14.

С. Р. Пидручна

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В УСЛОВИЯХ ПОЛИТРАВМЫ

Резюме

В статье приведены литературные данные относительно изменений цитокинового профиля в условиях множественной и комбинированной травмы. Показано, что причиной высокой частоты инфекционных осложнений при тяжелых травмах являются иммунные нарушения, которые или предшествуют травме, или развиваются в потерпевших вследствие обширности поврежденных тканей, острой массивной кровопотери или повреждения жизненно важных органов, что наиболее характерно для тяжелых сочетанных травм – политравм.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цитокиновый профиль, иммунные нарушения, политравма.

S. R. Pidruchna

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CYTOKINE PROFILE UNDER CONDITIONS OF POLYTRAUMA

Summary

The article presents the published data on changes of cytokine profile under conditions of multiple and combined traumas. It is shown that the reason for the high frequency of infectious complications in severe injuries are immune abnormalities that precede or injury, or develop in victims due to too much damaged tissues, acute massive blood loss or damage to vital organs that is most characteristic of severe combined injuries-polytrauma.

KEY WORDS: cytokine profile, immune abnormalities, polytrauma.

Отримано 14.07.14

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

М. І. Лупак, О. П. Канюка, Г. Я. Гачкова, Я. П. Чайка, М. І. Скибіцька, Н. О. Сибірна
Львівський національний університет імені Івана Франка

ВПЛИВ БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО НА СИСТЕМУ L-АРГІНІН/NO В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

Досліджено вплив безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського на NO-синтазний шлях метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД) 1 типу. Введення його тваринам з ЕЦД чинить позитивний коригувальний вплив на організм, знижуючи надпродукцію оксиду азоту шляхом інгібування активності NO-синтази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: козлятник лікарський, цукровий діабет 1 типу, лейкоцити, L-аргінін, NO-синтаза.

ВСТУП. Цукровий діабет 1 типу є поліфакторним метаболічно-автоімунним захворюванням. Автоімунні процеси, які зумовлюють прогресуючу деструкцію β -клітин підшлункової залози, індукуються цитокінами та посилюються внутрішньоклітинними медіаторами, зокрема оксидом азоту (NO), супероксид-аніоном ($O_2^{\cdot-}$), пероксидом водню (H_2O_2). NO є унікальною сигнальною молекулою, яка виступає внутрішньоклітинним та позаклітинним месенджером, нейротрансмітером і регулятором внутрішньоклітинної секреції. В організмі людини і тварин NO утворюється двома основними шляхами: ензиматичним і неензиматичним. Ензиматичний синтез NO здійснюється з участю ензиму NO-синтази (NOS, 1.14.13.39), який за наявності молекулярного кисню та NADPH-H⁺ каталізує перетворення амінокислоти L-аргініну до NO і L-цитруліну [1].

При цукровому діабеті 1 типу внаслідок активації прозапальними цитокінами (ФНП- α , ІЛ-1, ІЛ-6 та ін.) у багатьох типах клітин, зокрема в лейкоцитах, відбуваються експресія гена індуцибельної NO-синтази та надмірне утворення NO. Кінцеві продукти метаболізму NO посилюють цитотоксичну дію лейкоцитів периферичної крові, пошкоджують ендотелій судин, порушують гемодинаміку та спричиняють тканинну дезорганізацію [1, 2].

У комплексному лікуванні цукрового діабету актуальним є використання препаратів рослин-

ного походження. Біологічна активність лікарських рослин визначається наявністю в їх складі сполук різноспрямованої дії, які проявляють широкий спектр біологічних ефектів. До лікарських рослин, які мають виражену цукрознижувальну дію та використовуються у клінічній діабетології, належить *Galega officinalis* L. (галега лікарська, козлятник лікарський).

Метою даної роботи було дослідити вплив безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (БФЕКЛ) на NO-синтазний шлях обміну L-аргініну в лейкоцитах щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 100–150 г. Тваринам забезпечували вільний доступ до їжі та води і перебування у стандартних умовах (12-годинна зміна світла і темряви). ЕЦД індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину ("Sigma", США) в дозі 5 мг на 100 г маси тіла. Тварин було поділено на 4 групи: 1-ша – контроль; 2-га – контроль+БФЕКЛ; 3-тя – ЕЦД; 4-та – ЕЦД+БФЕКЛ. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози у крові, яку визначали через 72 год після введення стрептозотоцину глюкозооксидазним методом із застосуванням набору реактивів ("Філісіт-Діагностика", Україна). В експерименті використовували тварин із рівнем глюкози понад 14 мМ. Щурам 2-ї та 4-ї груп (на 3-й день з моменту індукції діабету) протягом 14 днів *per os* вводили БФЕКЛ.

© М. І. Лупак, О. П. Канюка, Г. Я. Гачкова, Я. П. Чайка, М. І. Скибіцька, Н. О. Сибірна, 2014.

Безалкалоїдну фракцію екстракту козлятника лікарського отримували згідно з протоколом, який описано раніше [5]. Через два тижні після індукції цукрового діабету щурам раз на добу *per os* вводили БФЕКЛ у вигляді водної суспензії, у дозі 0,6 г на 1 кг маси тіла тварини, в об'ємі 1 мл упродовж 14 діб.

Лейкоцити виділяли у градієнті густини фікол – тріомбразт ($\rho = 1,076\text{--}1,078 \text{ г/см}^3$) [6]. Вміст нітритів та нітратів визначали згідно з методикою [9], сумарну активність NO-синтази – спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією з реактивом Грісса [7], концентрацію L-аргініну – за допомогою реакції Сакагучі [11], концентрацію білка – відповідно до загальноприйнятого методу Лоурі [10]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Статистично значущими вважали дані при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У лейкоцитах щурів з ЕЦД відбувається активація окисного метаболізму L-аргініну. Зростання сумарної активності NO-синтази (в 1,6 раза) супроводжувалося збільшенням продукції оксиду азоту, про що свідчило підвищення вмісту стабільних метаболітів NO – нітрит-аніонів (у 1,6 раза) та нітрат-аніонів (у 3,83 раза) порівняно з контролем. Вміст нітрит-аніонів у плазмі крові значною мірою відображає активність NO-синтази ендотеліальних клітин, зокрема, 90 % всіх нітритів плазми є стабільними ме-

таболітами оксиду азоту NO-синтазного походження [8]. За умов ЕЦД у лейкоцитах периферичної крові щурів зростає вміст L-аргініну (у 2,8 раза щодо контролю), що може бути зумовлено посиленням розпадом протейнів в організмі як одним із проявів порушення метаболізму при інсуліновій недостатності за умов цукрового діабету [3].

У тварин контрольної групи в разі введення БФЕКЛ було виявлено вірогідне підвищення концентрації L-аргініну (в 1,3 раза) у лейкоцитах периферичної крові, а також незначне зростання сумарної активності NO-синтази та вмісту нітрит- і нітрат-аніонів.

При ЕЦД на фоні введення БФЕКЛ відмічено зниження концентрації L-аргініну в 1,5 раза та сумарної активності NO-синтази в 1,3 раза, а також сумарного вмісту стабільних метаболітів NO в 1,3 раза щодо контролю (табл.). Обмін L-аргініну в організмі може здійснюватися шляхом окисного перетворення з участю NO-синтази (до NO та L-цитруліну) і неокисного – з участю аргінази (до сечовини та орнітину). Зменшення вмісту L-аргініну в лейкоцитах щурів з ЕЦД на фоні зниження активності NO-синтази може бути наслідком порушення надходження його до клітини або активації аргінази. Співвідношення між NO-синтазним та аргіназним шляхами метаболізму L-аргініну підтримує у клітинах фізіологічний пул цієї амінокислоти і визначає інтенсивність продукування NO та його метаболітів.

Таблиця – Вплив БФЕКЛ на концентрацію L-аргініну, вміст стабільних метаболітів оксиду азоту та активність NO-синтази в лейкоцитах периферичної крові щурів у нормі та за умов ЕЦД ($M \pm m$, $n=10\text{--}15$)

Показник	Група			
	контроль	контроль+БФЕКЛ	ЕЦД	ЕЦД+БФЕКЛ
Аргінін, мкмоль/мг білка	10,01±0,87	13,19±0,56*	28,09±2,3**	17,75±1,9##
Сумарний вміст метаболітів NO, мкмоль/мг білка	18,21±3,83	25,14±3,66	68,67±5,53**	49,61±5,9
NO ²⁻ , мкмоль/мг білка	0,45±0,043	0,47±0,035	0,72±0,02*	0,54±0,059
NO ³⁻ , мкмоль/мг білка	17,76±3,75	24,66±3,56	67,94±5,5**	49,07±5,83#
NOS, нмоль NO ²⁻ /хв · мг білка	6,99±1,09	8,84±0,31	11,21±0,8*	8,45±0,48#

Примітки:

1. * – різниця вірогідна порівняно з контролем, $p < 0,05$.

2. # – різниця вірогідна порівняно з діабетом, $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ. За умов ЕЦД підвищується концентрація вільного L-аргініну та відбувається інтенсифікація шляху окисного метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів, що експериментально підтверджується зростанням активності NOS.

Введення БФЕКЛ тваринам з ЕЦД чинить позитивний коригувальний вплив на організм,

знижуючи надпродукцію NO. Встановлений біологічний ефект досліджуваного екстракту ми пояснюємо наявністю у його складі сполук, які проявляють антиоксидантну дію і, таким чином, здатні пригнічувати утворення активних форм кисню та азоту [4].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив агматину на метаболізм L-аргініну в еритроцитах крові за умов стрептозотозин-індукованого діабету в щурів / І. Ференц, І. Бродяк, М. Люта [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2012. – **84**, № 3. – С. 55–62.
2. Профіль прозапальних цитокінів при цукровому діабеті 1-го типу / Ю. Кияк, Н. Фартушок, Ю. Онищук [та ін.] // Фізіол. журн. – 2012. – № 5. – С. 65–69.
3. Старостина Е. Г. Диабетический кетоацидоз и гиперосмолярное состояние при сахарном диабете. Основные подходы к терапии / Е. Г. Старостина // В мире лекарств. – 1999. – № 3. – С. 24–28.
4. Хохла М. Дослідження компонентного складу екстракту козлятника лікарського / М. Хохла, Г. Клевета, М. Лупак // Вісник Львів. ун-ту, Серія біологічна. – 2013. – Вип. 62. – С. 55–60.
5. Цитологічна та біохімічна характеристика периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу та введення галеги лікарської / М. Хохла, Г. Клевета, Я. Чайка [та ін.] // Біологічні студії / Studia Biologica. – 2012. – № 6(1). – С. 37–46.
6. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow, with special reference to factors which influence and modify sedimentation properties of hematopoietic cells / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – **21** (Suppl.) – P. 1–109.
7. Dawson J. A microtiter-plate assay of nitric oxide synthase activity / J. Dawson, R. G. Knowles // Mol. Biotechnol. – 1999. – **12**, № 3. – P. 275–279.
8. Groves J. T. Nitric oxide synthase: models and mechanisms / J. T. Groves, C. C-Y. Wang // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2000. – **4**, № 6. – P. 687–695.
9. Miranda K. A. Rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite / K. A. Miranda // Nitric Oxide. – 2001. – **5**, № 1. – P. 62–71.
10. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, №1. – P. 265–275.
11. Weber C. A Modification of Sakaguchi's Reaction for the Quantitative Determination of Arginine / C. J. Weber // J. Biol. Chem. – 1930. – **86**. – P. 217.

М. І. Лупак, О. П. Каныка, Г. Я. Гачкова, Я. П. Чайка, М. І. Скибицкая, Н. О. Сибирная
Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ВЛИЯНИЕ БЕЗАЛКАЛОИДНОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ НА СИСТЕМУ L-АРГИНИН/NO В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

Резюме

Исследовано влияние безалкалоидной фракции экстракта галеги лекарственной на NO-синтазный путь метаболизма L-аргинина в лейкоцитах периферической крови крыс в условиях экспериментального сахарного диабета (ЭСД) 1 типа. Введение его животным с ЭСД оказывает положительное корректирующее влияние на организм, снижая сверхпроизводство оксида азота (NO) путем ингибирования активности NO-синтазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: галега лекарственная, сахарный диабет 1 типа, лейкоциты, L-аргинин, NO-синтаза.

М. І. Lupak, О. Р. Kanyuka, Н. Ya. Hachkova, Ya. P. Chaika, М. І. Skybitska, Н. О. Sybirna
IVAN FRANKO LVIV NATIONAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF ALKALOID-FREE FRACTION OF *GALEGA OFFICINALIS* EXTRACT ON L-ARGININE/NO SYSTEM OF RATS LEUKOCYTES UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1

Summary

The effects of the alkaloid-free fraction of Galega officinalis extract (AFF GOE) on NO-synthase metabolic pathway of L – arginine was investigated in peripheral blood leukocytes of rats under conditions of experimental diabetes mellitus (EDM) type 1. Application of alkaloid-free fraction of Galega officinalis extract (AFF GOE) under EDM reveals a positive corrective effect on the organism, reducing the production of nitric oxide (NO) by inhibiting the activity of NO-synthase.

KEY WORDS: *Galega officinalis*, diabetes mellitus type 1, leukocytes, L-arginine, NO-synthase.

Отримано 04.08.14

Адреса для листування: М. І. Лупак, Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

РЕАЛІЗАЦІЯ РАДІОПРОТЕКТОРНОГО ЕФЕКТУ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ У НАЩАДКІВ ДВОХ ПОКОЛІНЬ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

*Використання атомної енергії спричинило дослідження впливу радіації на організм людини та її нащадків. Серед засобів попередження наслідків впливу іонізуючої радіації на нащадків опромінених особин значну увагу приділяють препаратам рослинного походження, які мають м'яку дію та невеликі побічні ефекти на фоні широкого терапевтичного діапазону. Раніше за умов *in vitro* ми визначили радіопротекторну дію плодів розторопші плямистої на функціональну активність тонкої кишки щурів. Слід було визначити, чи підтвердиться цей ефект за умов *in vivo*.*

Показано, що у нащадків двох поколінь від щурів, які перед опроміненням отримали з їжею мелені плоди розторопші, активність систем транспорту вільної глюкози та М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози, і стабільність їх роботи вищі за відповідні показники навіть інтактних тварин – отже, радіопротекторний ефект розторопші для субстратів вуглеводного походження різного ступеня полімерності є сталим у двох поколінь нащадків від опромінених самців щурів, що робить перспективним використання препарату для попередження закріплення наслідків опромінення тварин у геномі їх нащадків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вуглеводи, тонка кишка, розторопша плямиста, радіопротекторний ефект, нащадки опромінених щурів.

ВСТУП. Водночас із розвитком атомної енергетики виникла проблема наслідків впливу опромінення на людський організм. Якщо вплив різних доз іонізуючого випромінювання на організм дорослої людини наразі досить детально досліджено, то питання реалізації наслідків опромінення батьків навіть малими дозами в їх нащадків не тільки першого, а й наступних поколінь залишається недостатньо висвітленим [1, 4, 5]. Відомо, що опромінення дорослого організму спричинює численні вади розвитку в його нащадків – від функціональних відхилень серцево-судинної та травної систем, хронічних вогнищ інфекції до уроджених вад на фоні порушення імунорегуляторних систем, дестабілізації генетичного апарату, зниження психоадаптивних можливостей [6, 10]. Це спонукає до пошуку засобів попередження наслідків впливу іонізуючої радіації на нащадків опромінених особин. Серед них значну увагу приділяють препаратам рослинного походження, які мають м'яку дію та невеликі побічні ефекти на фоні широкого терапевтичного діапазону [3, 9]. Природний комплекс біологічно активних речовин – розторопшу плямисту (*Silybummarianum* (L.) Gaertner) – понад 2 тисячі років використовують у лікуванні багатьох захворювань © О. В. Сторчило, 2014.

широкого спектра (від запальних процесів і артритів до карциноми простати та раку грудей) [12], перш за все завдяки своїм компонентам з мембранотропними властивостями, тому можна було б очікувати суттєвого репаративного ефекту розторопші на мембрани ентероцитів. Дійсно, в експериментах *in vitro* ми визначили радіопротекторний ефект екстракту плодів розторопші на транспорт глюкози в тонкій кишці нащадків першого покоління від опромінених натще щурів [7]. Постало питання, чи підтвердиться цей ефект за умов *in vivo*. Так, у нащадків першого покоління від щурів, які перед опроміненням отримали з їжею розторопшу, показано значну стимуляцію транспорту як вільної глюкози, так і М-глюкози, утвореної внаслідок гідролізу мальтози, навіть відносно інтактних тварин [8]. Тому наступним кроком стало визначення тривалості радіопротекторного ефекту розторопші в подальшій генерації нащадків опромінених тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на двомісячних щурятах-самцях лінії Вістар масою 50–65 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію і позбавили їжі впродовж 18–24 год перед експериментом. Тварин поділили на 5 груп по 5 щурят у кожній: 1-ша – ін-

тактні; 2-га – нащадки першого покоління від самців, яких було одноразово опромінено ситими, й інтактних самиць [8]; 3-тя – нащадки другого покоління від них; 4-та – нащадки першого покоління від самців, одноразово опромінених ситими, які отримали перед опроміненням 3 г мелених плодів розторопші (*Silybum marianum* (L.) Gaertner) з їжею, та інтактних самиць [8]; 5-та – нащадки другого покоління від них. Опромінювали самців на телегаммаустановці “Агат-Р-1”, потужність дози – 120 рад/хв, поле – 20x20, ВПД=75 см, доза – 0,5 Гр, час експозиції – 32 с. Акумуляючий препарат слизової оболонки тонкої кишки виготовляли за методом А. М. Уголева і співавторів [2]. Інкубували його 1 год при $t=37^{\circ}\text{C}$ в оксигенованому середовищі. Як інкубаційні середовища використовували розчини 10 ммоль/л глюкози і 5 ммоль/л мальтози, які готували на розчині Рингера (рН 7,4). В усі інкубаційні середовища додавали кролячу жовч. Концентрацію вільної глюкози і М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози, визначали за методом [11] колориметрично на

КФК-2МП ($\lambda=625$ нм). Статистичну обробку отриманих даних проводили з визначенням критерію Стьюдента за програмою “PrimerBiostatistics”.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Визначено, що показники рівня як транспортної, так і гідролітичної активності тонкої кишки в групі щурят-нащадків F_2 щурів, які отримали перед опроміненням розторопшу, є значно вищими, ніж у групі нащадків F_1 , а також в інтактній групі (табл.). Так, показники транспорту глюкози в групі F_2 були в 1,6 раза більшими, ніж у групі F_1 ($p<0,0001$), й у 2,5 раза вищими, ніж в інтактній групі ($p<0,0001$). Отже, радіопротекторний ефект розторопші щодо вільної глюкози реалізується в нащадків другого покоління навіть яскравіше, ніж у нащадків першого покоління. При цьому стабільність його у другому поколінні вдвічі вища, ніж у першому, – 2,7 проти 5 % відповідно, а порівняно з показниками інтактної групи – більш ніж чотирикратно (розкиди від середньої становили 2,7 проти 11,7 % відповідно) (табл.).

Таблиця – Акумуляція субстратів препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурят-нащадків F_1 та F_2 від опромінених дозою 0,5 гр ситими (I), і таких самців щурів, що перед опроміненням отримали з їжею розторопшу (II) ($n=5$ в кожній групі, $M\pm m$, ммоль/(л·мг) вологої маси препарату)

Група тварин	Субстрат	
	глюкоза	мальтоза
I		
1. Інтактна	47,85±5,59* 11,7 %	42,71±2,31* 5,4 %
2. Нащадки F_1	51,97±1,50* 3 %	42,62±1,94* 4,5 %
3. Нащадки F_2	33,47±2,38 7,1% $p_{2-3}<0,0001$	28,99±2,66 9,2 % $p_{2-3}=0,003$
II		
1. Інтактна	47,85±5,59* 11,7 %	42,71±2,31* 5,4 %
2. Нащадки F_1	75,66±3,89* 5 %	70,59±3,88* 5,5 %
3. Нащадки F_2	120,49±3,21 2,7 % $p_{1-3}<0,0001$ $p_{2-3}<0,0001$	84,44±1,70 2 % $p_{1-3}=0,011$ $p_{2-3}<0,0001$

Примітки:

- Дані отримано раніше, використано з метою порівняння: * – [8].
- Під показниками акумуляції наведено відсотки розкидів від середньої.

Показники транспорту М-глюкози в групі F_2 були лише в 1,2 раза вищими, ніж у групі F_1 (на 16 %, $p=0,011$), але вдвічі більшими, ніж в інтактній групі (на 49 %, $p<0,0001$). Слід зауважити, що і в цій групі показники стабільності роботи гідролітично-транспортного конвеєра були в 2,7 раза вищими, ніж у попередніх експе-

риментах (там же). Таким чином, радіопротекторний ефект значно краще реалізується у другому поколінні нащадків самців, які отримали розторопшу перед опроміненням, для субстратів вуглеводного походження різного ступеня полімерності з високим рівнем стабільності роботи – як системи транспорту вільної

глюкози, так і спряження роботи систем гідролізу мальтози і транспорту утвореної при цьому М-глюкози.

Слід зауважити, що при цьому визначається висока стабільність роботи систем гідролізу і транспорту субстратів. Привертає увагу також той факт, що рівень активності та стабільності роботи відповідних гідролітичних і транспортних систем у нащадків F_2 є навіть вищим, ніж в інтактних тварин, – вочевидь, це свідчить про оптимізацію та активацію роботи ферментів як наслідок впливу компонентів плодів розторопші на геном попередників F_1 . Отримані результати не можуть бути пояснені тільки станом ситості тварин-попередників на момент опромінення (тобто захисною дією їжі), оскільки присутність їжі в кишечнику самців-попередників сприяє стимуляції систем транспорту вуглеводів різного ступеня полімерності тільки у нащадків F_1 ,

але цього не відбувається для нащадків другого покоління – в них визначається значне зниження показників транспорту обох вуглеводних субстратів порівняно з відповідними для інтактною групи та нащадків F_1 , тим не менш, не нижче параметрів активного транспорту (табл.). Отже, радіопротекторний ефект розторопші для субстратів вуглеводного походження різного ступеня полімерності є сталим у нащадків двох поколінь від опромінених самців щурів, що робить перспективним використання препарату для попередження закріплення наслідків опромінення тварин у геномі їх нащадків.

ВИСНОВОК. Радіопротекторний ефект плодів розторопші плямистої щодо систем гідролізу та транспорту вуглеводів різного ступеня полімерності реалізується у нащадків двох поколінь від одноразово опромінених самців щурів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян А. В. Изучение трансгенерационного феномена геномной нестабильности у детей-потомков облученных родителей в результате аварии на ЧАЭС : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук / А. В. Агаджанян. – М., 2008. – 20 с.

2. Аккумулярующий препарат слизистой – новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку / А. М. Уголев, Д. Р. Жигуре, Е. Е. Нуркс // Физиол. журн. СССР. – 1970. – **56**, № 11. – С. 1638–1641.

3. Антиоксидантні властивості природних сполук в умовах впливу іонізуючого випромінювання / за ред. Ю. П. Зозулі, Л. А. Порохняк-Гановської, Л. М. Овсянникової. – К. : Чорнобильінтерінформ, 2001. – С. 85–92.

4. Влияние ионизирующей радиации в нестерилизуемых дозах на эмбриогенез и постнатальное развитие потомства двух поколений самцов крыс, половые клетки которых облучены на премейотических стадиях сперматогенеза / А. А. Дергилев, О. Ф. Чибисова, Г. Ф. Палыга [и др.] // Радиация и риск. – 2012. – **21**, № 2. – С. 39–45.

5. Гурьева В. А. Современная оценка состояния здоровья потомков лиц, находившихся в зоне радиационного воздействия (на примере Семипалатинского полигона) / В. А. Гурьева, Ю. А. Дударева // Академическая наука – проблемы и достижения : материалы 2-й Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 5–6 сентября 2013 г. – М., 2013. – 273 с.

6. Карпенко Н. О. Наслідки опромінення батька для репродуктивної функції нащадків чоловічої статі

та їх резистентність до опромінювання у малих дозах / Н. О. Карпенко // Проблеми ендокринної патології. – 2012. – № 2. – С. 65–72.

7. Сторчило О. В. Дослідження радіопротекторної дії плодів розторопші плямистої на транспорт глюкози в тонкій кишці нащадків опромінених щурів / О. В. Сторчило // Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 2 (12). – С. 33–37.

8. Сторчило О. В. Особливості функціональної активності тонкої кишки нащадків опромінених щурів за різних умов прижиттєвого впливу на батьків / О. В. Сторчило // Одес. мед. журн. – 2009. – **115**, № 5. – С. 21–27.

9. Тищенко О. В. Дія розмелених плодів розторопші плямистої на функціональний стан печінки та підшлункової залози при радіаційному токсичному ураженні : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / О. В. Тищенко. – К., 2003. – 24 с.

10. Толерантність серцево-судинної системи підлітків 16–18 років, народжених від батьків ліквідаторів аварії на ЧАЕС, до фізичного навантаження / М. М. Коренєв, Г. О. Бориско, Т. О. Костенко, О. О. Афанасьєва // Вестник Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. Серия “Медицина”. – 2008. – № 15 (797). – С. 88–92.

11. Scott T. A. The determination of hexoses with antrone / T. A. Scott, E. H. Melvin // *Analyt. Chem.* – 1953. – № 25. – P. 1656–1658.

12. Tamayo C. Review of clinical trials evaluating safety and efficacy of milk thistle (*Silybummarianum* [L.] Gaertn.) / C. Tamayo, S. Diamond // *Integrative Cancer Therapies.* – 2007. – № 6. – P. 146–157.

РЕАЛИЗАЦИЯ РАДИОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ У ПОТОМСТВА ДВУХ ПОКОЛЕНИЙ ОТ ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

Резюме

Использование атомной энергии повлекло за собой исследования влияния радиации на организм человека и его потомков. Среди средств предупреждения последствий влияния ионизирующей радиации на потомство облученных особей значительное внимание уделяют препаратам растительного происхождения, имеющим мягкое действие и небольшие побочные эффекты на фоне широкого терапевтического диапазона. Ранее в условиях *in vitro* нами было определено радиопротекторное действие плодов расторопши пятнистой на функциональную активность тонкой кишки крыс. Следовало определить, подтвердится ли этот эффект в условиях *in vivo*.

Показано, что у потомков двух поколений от крыс, перед облучением получивших с пищей молотые плоды расторопши, активность систем транспорта свободной глюкозы и М-глюкозы, образовавшейся при гидролизе мальтозы, и стабильность их работы выше соответствующих показателей даже интактных животных – значит, радиопротекторный эффект расторопши для субстратов углеводного происхождения разной степени полимерности является постоянным для двух поколений потомков от облученных самцов крыс, что представляет перспективы использования препарата для предупреждения закрепления последствий облучения животных в геноме их потомков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: углеводы, тонкая кишка, расторопша пятнистая, радиопротекторный эффект, потомство облученных крыс.

O. V. Storchylo
ODESA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

REALIZATION OF THE RADIOPROTECTIVE EFFECT OF THE MILK THISTLE IN THE POSTERITY OF TWO GENERATIONS OF THE IRRADIATED RATS

Summary

The use of atomic energy has led studies of the effect of radiation on the human body and its descendants. Among the means of preventing the effects of ionizing radiation on the offspring the plants having mild action and minor side effects on the background of a wide range of therapeutic effects pay attention on. Earlier *in vitro* conditions we have determined the radio-protective effect of milk thistle fruits on the functional activity of rat small intestine. Should determine confirmed this effect in the *in vivo*.

It is shown that in the posterity of two generations of rats, which before irradiation received food with the milk thistlefruits, the activity of the transport systems of free glucose and M-glucose, formed by the hydrolysis of maltose, and the stability of their work is higher than the corresponding figures even in intact animals –it means, radioprotective effect of milk thistle for substrates of carbohydrate origin varying degrees of polymerization is constant for a two-generation posterity of irradiated male rats. It represents the prospects of using the milk thistlefruits to prevent the fixing of the consequences of the irradiation of animals were in the genome of their posterity.

KEY WORDS: carbohydrates, small intestine, milk thistlefruits, radio-protective effect, posterity of irradiated rats.

Отримано 01.07.14

Адреса для листування: О. В. Сторчило, Одеський національний медичний університет, Валіховський пров., 2, Одеса, 65026, Україна.

Тези матеріалів
Всеукраїнської науково-практичної конференції
“АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ
БІОХІМІЇ ТА ФАРМАКОЛОГІЇ”

9–10 жовтня 2014 року
м. Тернопіль

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОХІМІЯ І МОЛЕКУЛЯРНА
БІОЛОГІЯ. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ І ЛАБОРАТОРНА
ДІАГНОСТИКА

С. М. Андрейчин, З. С. Скірак

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ
ТА ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ НА ТЛІ КОРЕКЦІЇ ГЛУТАРГІНОМ
ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ

Гострі токсичні гепатити останнім часом усе більше привертають увагу вчених. Проте значна кількість питань щодо їх патогенезу вимагає більш детального вивчення, а діагностика та лікування потребують вдосконалення.

Метою дослідження було вивчити вплив глутаргіну на показники ендогенної інтоксикації (EI) і ліпопероксидації та їх взаємозв'язок із зв'язувальною функцією сироваткового альбуміну (ЗФСА) за умов гострого токсичного тетрахлорметанового гепатиту (ГТТГ) в експерименті на білих щурах.

Експеримент виконано на нелінійних білих щурах-самцях масою 200–300 г. Усіх тварин було поділено на чотири групи. До 1-ї (контрольна група) ввійшли 20 інтактних практично здорових тварин, до 2-ї – 16 щурів з ГТТГ, яких виводили з експерименту на 2-гу добу від його початку, до 3-ї – 14 тварин з аналогічно змодельованою патологією, яких виводили на 7-му добу від початку експерименту, до 4-ї – 16 тварин з ГТТГ, яким проводили корекцію 4,0 % розчином глутаргіну з розрахунку 0,083 мг на 100 г маси. Препарат вводили піддослідним тваринам внутрішньочеревно з 1-ї до 7-ї доби експерименту, щурів виводили теж на 7-му добу від початку експерименту. ГТТГ моделювали таким чином: тетрахлорметан вводили внутрішньочеревно одноразово з розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50 % розчину на оливковій олії.

Евтаназію білих щурів здійснювали методом тотального кровопускання із серця за умов тіопентало-натрієвого наркозу.

Молекули середньої маси (МСМ) визначали спектрофотометричним методом за методикою Габріелян та співавторів (1984). Еритроцитарний індекс інтоксикації (EII) досліджували за методикою експрес-діагностики ендотоксикозу за рівнем адсорбційної здатності мембрани еритроцитів. У сироватці крові біохімічними методами визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК); ЗФСА – за методикою С. І. Чегера (1975).

Гострий токсичний тетрахлорметановий гепатит супроводжувався порушенням ЗФСА. Так, вже на 2-гу добу величина ЗФСА зменшувалася на 26,1 %, що виявилось статистично достовірним ($p < 0,05$). На 7-му добу після інтоксикації у тварин, які вижили, активність патологічного процесу почала знижуватись, що проявлялося суттєвим зростанням стосовно попереднього терміну спостереження ЗФСА – на 10,7 % ($p < 0,05$).

ГТТГ супроводжувався значним зростанням показників EI та ліпопероксидації на 2-гу добу після його моделювання з наступним їх зниженням на 7-му добу, яке не досягало рівня контролю. При цьому на 2-гу добу після моделювання ГТТГ виник позитивний кореляційний зв'язок ЗФСА з EII та МСМ₂₅₄, який на 7-му добу змінився на негативний і посилювався

завдяки появі негативних кореляцій із MCM_{280} , МДА і ДК.

Застосування глутаргіну при ГТТГ теж супроводжувалося істотним зниженням величин показників EI та ліпопероксидації. Порівняно з тваринами без корекції EI став меншим на 9,8 % ($p < 0,05$), вміст у сироватці крові фракції MCM_{254} – на 22,2 % ($p < 0,05$), MCM_{280} – на 20,6 % ($p < 0,05$), МДА – на 29,0 % ($p < 0,05$), ДК – у 3,2 раза ($p < 0,05$).

Разом із тим, ці показники в результаті застосування глутаргіну не досягали рівня контролю і продовжували залишатися істотно більшими: величина EI – на 79,4 % ($p < 0,05$), вміст у сироватці крові фракції MCM_{254} – на 32,8 % ($p < 0,05$), MCM_{280} – на 33,0 % ($p < 0,05$), МДА – у 2,2 раза ($p < 0,05$), ДК – на 63,2 % ($p < 0,05$).

Аналіз кореляційних зв'язків ЗФСА з показниками EI та ліпопероксидації у групі тварин, корегованих глутаргіном, показав, що кореляційний зв'язок ЗФСА з величиною EI ставав негативним та слабким і водночас статистично не достовірним ($p > 0,05$), тоді як у групі щурів без корекції він був негативним і сильним. Так

само зникав кореляційний зв'язок ЗФСА із вмістом у сироватці крові фракції MCM_{254} . Його величина з негативною середньої сили стала позитивною, проте статистично не достовірною. Сильним і негативним продовжував залишатися в корегованих і некорегованих тварин кореляційний зв'язок між ЗФСА та вмістом у сироватці крові фракції MCM_{280} і ДК. Разом із тим, із середнього ставав сильним кореляційний зв'язок між ЗФСА та вмістом у сироватці крові МДА.

Застосування глутаргіну для корекції ГТТГ супроводжувалося істотним зниженням показників EI та ліпопероксидації порівняно з тваринами без корекції. Водночас усі вони не досягали рівня контрольної групи. На тлі корекції глутаргіном зникали кореляційні зв'язки між ЗФСА, величиною EI та вмістом у сироватці крові фракції MCM_{254} , поглиблювався кореляційний негативний зв'язок між ЗФСА та вмістом у сироватці крові МДА, практично не змінювався кореляційний зв'язок між ЗФСА та вмістом у сироватці крові фракції MCM_{280} і ДК.

І. О. Сорока, І. Я. Демків

*ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО,
ЦЕНТРАЛЬНА НАУКОВО-ДОСЛІДНА ЛАБОРАТОРІЯ*

ІМУНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОТОКСИКОЗІ

Ендоотоксикоз – складний багатофакторний автокаталітичний процес, який з часом набуває універсального характеру і залежить від патогенетичних механізмів, які його запустили. Основними пошкоджувальними агентами є незбалансовано діючі біологічно активні речовини, які набувають властивостей ендогенних токсичних субстанцій. Утворені ендотоксини відповідають за розвиток “метаболічного імунodefекту”, тому що саме в результаті їх патогенного впливу порушуються процеси регуляції імунопоезу, проліферації і метаболізму імункомпетентних клітин, авторегуляції імунної відповіді.

Метою дослідження було з'ясувати зміни імунореактивності піддослідних тварин за умов експериментального хронічного ендоотоксикозу.

В експерименті використано 60 статевозрілих білих щурів-самців масою 180–185 г, яких утримували в стандартних умовах виварію. Тварин було поділено на групи: інтактну – 20 голів; групу тварин із змодельованим ендоотоксикозом – 40 голів. Хронічний ендоотоксикоз моделювали згідно з методикою В. В. Новачодова (2005). У сироватці крові визначали концентрацію імунoglobulinів (Ig A, M, G, E) з використанням напівавтоматичного біохімічного аналізатора “Humalyzer 2000” і наборів реактивів “Human”. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначали за реакцією преципітації з ПЕГ-6000. Фагоцитарну активність мононуклеарів (ФАЛ) визначали загальноприйнятим методом.

У групі тварин із хронічним ендоотоксикозом (ХЕ) виявлено статистично достовірне зростання

концентрації всіх досліджуваних класів імуноглобулінів (Ig A – на 18,4 %, Ig M – на 117,8 %, Ig G – на 116,5 %, Ig E – на 112,9 %), а також підвищення концентрації ЦІК у 2,5 раза порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин.

Дослідження ФАЛ у щурів із змодельованим ХЕ виявило істотне зниження двох основних параметрів даної системи: кількості фагоцитуючих лейкоцитів, яка достовірно зменшилась на 33,7 %, та їх поглинальної здатності, що знизилась на 35,0 % відносно аналогічних показників у групі інтактних тварин.

Результати експериментального дослідження вказують на напруження гуморальної ланки імунної системи піддослідних тварин з

утворенням та накопиченням значної кількості імунних комплексів, що може призвести до розвитку аутоімунних розладів.

Факт різкого зниження ФАЛ свідчить на користь того, що за умов хронічного ендотоксикозу спостерігають перевищення “порога ємності” фагоцитуючої системи, виникають дефекти в системі елімінації ЦІК, внаслідок чого поглиблюються деструктивні явища в організмі піддослідних тварин.

У подальших дослідженнях доцільним є вивчення особливостей цитокинового профілю в організмі піддослідних тварин з метою поглибленого аналізу змін імунореактивності за умов хронічної ендотоксемії.

П. О. Юрченко

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА

РІВЕНЬ НЕЙРОНСПЕЦИФІЧНОЇ ЕНОЛАЗИ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) є фактором ризику нейроваскулярних та нейродегенеративних захворювань (інсультів, деменції, хвороби Альцгеймера). В процесі обміну гомоцистеїну (ГЦ) у мозку утворюються нейромодулятор та антиоксидант гідроген сульфід (H_2S), роль якого в реалізації нейротоксичної дії ГГЦ залишається невизначеною. Чутливим маркером пошкодження нейронів є нейронспецифічна енолаза, активність якої в сироватці крові суттєво зростає при інсультах і травмах мозку. Метою роботи було вивчення впливу тривалої ГГЦ на вміст нейронспецифічної енолази та H_2S у сироватці крові щурів.

Досліди проведено на 45 білих лабораторних щурах-самцях масою 250–270 г. ГГЦ викликали шляхом годування тварин дієтою, що містила надлишок L-метіоніну (1 % до сухої маси) та була позбавлена вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} , протягом 14 діб. У сироватці крові визначали вміст нейронспецифічної енолази (NSE) за допомогою набору “NSE EIA KIT” (“DAI”, США),

вміст ГЦ – із використанням набору “Homocysteine EIA” (“Axis-Shield”, Англія), вміст H_2S – за реакцією з пара-фенілендіаміном.

На 14 добу в щурів, які отримували гіповітамінотно-метіонінову дієту, вміст ГЦ був більшим у 13 разів ($(85,3 \pm 3,21)$ проти $(7,12 \pm 0,54)$ мкМ, $p < 0,01$), вміст H_2S – нижчим у 2 рази ($(32,1 \pm 3,76)$ проти $(78,5 \pm 4,74)$ мкМ, $p < 0,01$), ніж у контролі. За цих умов рівень NSE в сироватці крові підвищився в 1,72 раза ($(2,16 \pm 0,04)$ проти $(1,25 \pm 0,03)$ нг/мл, $p < 0,05$). Рівень NSE прямо корелював із вмістом ГЦ ($r = 0,62$, $p < 0,05$) і обернено – з вмістом H_2S ($r = -0,56$, $p < 0,05$).

Таким чином, ГГЦ має виражену нейротоксичну дію, що проявляється підвищенням вмісту NSE в сироватці крові й, можливо, опосередкується через порушення ендогенної продукції H_2S . Подальше вивчення ролі H_2S у реалізації нейротоксичної дії ГГЦ може відкрити нові мішені для корекції нейродегенеративних захворювань.

РОЛЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОГО СИНУСИТУ

Метою роботи було дослідити роль активних форм кисню (АФК) в патогенезі верхньощелепного синуситу в експерименті на гвінейських свинках.

Досліди поставлено на гвінейських свинках масою 800–1200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на три групи: контрольну (інтактні тварини) і дві дослідні (з експериментальним верхньощелепним синуситом та синуситом у поєднанні з токсичним гепатитом). У тварин дослідних груп моделювали верхньощелепний синусит за розробленою нами методикою, яка полягала у здійсненні поперечного розтину верхнього шийного симпатичного ганглія зліва, що призвело до порушення трофічної функції симпатичної іннервації з подальшим розвитком запально-дистрофічних процесів, зокрема в слизовій оболонці верхньощелепного синуса. Токсичний гепатит відтворювали за допомогою тетрахлоретану. Тварин виводили з експе-

рименту на 15, 35, 70 і 90-ту доби посттравматичного періоду. Отримані порції крові використано для визначення вмісту АФК.

Для визначення рівня АФК у нейтрофілах і лімфоцитах крові використовували дихлорфлюоресцеїну діацетат ("Sigma Aldrich", США), який є барвником із заблокованою флюоресценцією, і проточний цитофлюориметр Erics XL ("Beckman Coulter", США).

Отримані дані свідчать про те, що експериментальний синусит у гвінейських свинок супроводжується підвищенням вмісту АФК у нейтрофілах і, меншою мірою, лімфоцитах. Протягом тримісячного спостереження за оперованими тваринами відзначено тенденцію до зростання концентрації АФК в обох клітинах крові. При поєднанні експериментального синуситу з токсичним гепатитом концентрація АФК у нейтрофілах і лімфоцитах була вищою, ніж у тварин лише із синуситом.

О. Ю. Кошова

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВІКОВИХ ЗМІН N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ ЗА УМОВ ПАТОСПЕРМІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ДОКСОРУБІЦИНОМ, У ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ГЛЮКОЗАМІНОМ ГІДРОХЛОРИДОМ

На сьогодні проблема дослідження фундаментальних механізмів старіння та пошуку геропротекторних засобів щодо репродуктивної системи залишається актуальною. Показано, що у процесах репродукції важливу роль відіграє аміноцукор глюкозамін, який є важливим будівельним блоком, необхідним для біосинтезу гліколіпідів, глікопротеїнів, глікозаміногліканів, гіалуронату та протеогліканів.

Метою даної роботи стали дослідження вікових змін N-ацетилглюкозаміну (N-АГ) за умов патоспермії, викликані доксорубіцином, у щурів та корекція їх глюкозаміном гідрохлоридом (ГХ).

Досліди проведено на щурах-самцях віком 6, 12, 18 і 24 місяці. Відповідно до отриманих даних, введення доксорубіцину (внутрішньом'язово, 3 мг/кг) викликало вікозалежне зростання у сироватці крові старіючих щурів вмісту

загального N-ацетилглюкозаміну за рахунок збільшення зв'язаної та зниження вільної фракції N-АГ. Найбільш виражені зміни спостерігали у 24-місячних щурів. Більшість дослідників припускає, що підвищення зв'язаної фракції N-АГ відбувається внаслідок збільшення залишків та фрагментів неутілізованих біомолекул мембран, які утворюються через пошкоджувальну дію доксорубіцину. Введення ГХ сприяло збереженню матриксу біомембран молекул, внаслідок чого у щурів різного віку спостерігали достовірно, порівняно з відповідним інтактним контролем, зниження зв'язаної і підвищення вільної фракції N-АГ, яка є пулом глікозаміногліканів та може брати активну участь у метаболічних процесах. Таким чином, введення глюкозаміну гідрохлориду як субстрату для синтезу глікозаміногліканів усуває відносний дефіцит аміноцукрів у старіючих щурів.

ВИВЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПЕЧІНЦІ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, ТА ЗА КОРЕКЦІЇ КАРНІТИНОМ

Одним із механізмів пошкодження клітин є пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ). Дія на організм токсинів викликає активацію цього процесу. Підвищення в тканинах вмісту проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ є індикатором розвитку ураження.

Зважаючи на це, метою наших досліджень було встановити коригувальний вплив карнітину хлориду на показники ПОЛ за дії плюмбум ацетату та кадмій хлориду.

Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 170–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У роботі застосовували солі важких металів – плюмбум ацетат у дозі 11 мг/кг і кадмій хлорид у дозі 3,3 мг/кг маси тіла тварин, що становить, відповідно, 0,05 LD₅₀, які вводили внутрішньо-шлунково щоденно впродовж 30 днів. Як коригувальний чинник використано 2 % водний розчин карнітину хлориду, який вводили внутрішньочеревно з розрахунку 50 мг/кг маси впродовж усього експерименту.

Піддослідних тварин було поділено на 4 групи: 1-ша – інтактні; 2-га – уражені солями важких металів; 3-тя – тварини, яким проводили корекцію карнітину хлоридом. Щурів декапітували під тіопенталовим наркозом на 3-тю, 5-ту і 7-му доби експерименту. Як контроль використовували інтактних статевозрілих тварин. Досліджували плазму крові та тканину печінки.

Вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) визначали методом, який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідропероксидації мають відповідний максимум поглинання при $\lambda=232$ нм, принцип методу з визначення основ Шиффа (ШО) полягає у здатності їх до флюоресценції при поглинанні світла з певною довжиною хвиль.

Кадмій і свинець – два важких метали, іони яких мають здатність до кумуляції. За результатами досліджень, при введенні солей кадмію та плюмбуму ми спостерігали такі зміни у плазмі крові: на 3-тю добу вміст ГПЛ зріс у 2,4 раза порівняно з інтактними тваринами, на 5-ту і 7-му доби ці показники дещо зменшувались і, відповідно, становили 205 та 178 % від рівня в

інтактних тварин. Інша залежність цих показників у тканині печінки. Так, на 3-тю добу концентрація ГПЛ зросла до 117 %, що вірогідно вище від рівня в інтактних тварин. Впродовж наступних діб показники знижувались і достовірно не відрізнялись від рівня в інтактних тварин.

При дослідженні вмісту ШО було отримано такі результати: у групі щурів, яким впродовж 30-ти діб вводили кадмій хлорид і плюмбум ацетат, ми зафіксували таку тенденцію – у плазмі крові на 3-тю добу показник становив 111 % від рівня в інтактних тварин, на 5-ту – 252 %, на 7-му – 222 % від норми. У печінці відповідні показники склали 139, 150 та 134 % від рівня в інтактних тварин.

Для корекції цих порушень доцільно застосувати середники, які були б здатні заблокувати всмоктування токсичних агентів і активувати ланцюги ліпопероксидації. Саме тому ми обрали карнітину хлорид. За одержаними даними, на 3-тю добу експерименту, після введення коригувального чинника, у плазмі крові тварин концентрація ГПЛ знижувалась в 1,2 раза, а у печінці цей показник перебував майже на рівні уражених тварин. На 5-ту і 7-му доби спостерігали більш виражене зменшення ГПЛ: у плазмі крові – на 17 та 38 % відповідно, у печінці – на 11 і 9 %.

Ми зафіксували також зниження концентрації кінцевих продуктів ліпідної пероксидації, однак достовірними дані були лише на 3-тю добу експерименту.

Таким чином, введення кадмій хлориду і плюмбум ацетату спричиняє порушення обміну ліпідів. Підвищується концентрація початкових та кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові й печінці уражених тварин, що свідчить про важливу роль активації процесів ліпідної пероксидації у механізмах патогенної дії кадмій хлориду та плюмбум ацетату. Застосування карнітину призводило до часткової нормалізації показників обміну ліпідів і зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації у плазмі крові та печінці щурів, уражених солями важких металів.

ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В ОРГАНАХ ПРИ ГІПЕР- І ГІПОТИРЕОЇДИЗМІ

Відомо, що відновлений глутатіон (GSH) підтримує функціональну активність біологічних мембран, бере участь у механізмах передачі нервових імпульсів, синтезі білка та ДНК, регуляції активності ферментів, механізмах транспорту амінокислот та синтезі простагландинів. Однією з найбільш важливих функцій GSH є його участь у процесах детоксикації ксенобіотиків і органічних пероксидів.

Метою роботи було дослідити вплив гормонів щитоподібної залози на вміст GSH у печінці, нирках, серці й мозку експериментальних тварин.

Для моделювання гіпер- і гіпотиреоїдизму щурам щоденно ентерально вводили розчин L-тироксину (200 мкг/добу на 1 кг маси) або мерказолілу (10 мкг/добу на 1 кг маси) протягом 21 доби. В гомогенатах печінки, нирок, серця і мозку визначали рівень GSH.

На 14-ту добу після введення L-тироксину рівень GSH достовірно знижувався, порівняно

з інтактними тваринами, у всіх органах. Так, у печінці він становив 82 % від контролю, в нирках, серці й мозку складав, відповідно, 81, 87 і 85 % порівняно з інтактними тваринами. На 21-шу добу від початку моделювання гіпертиреозу вміст GSH в органах зменшувався ще більшою мірою і становив 75, 73, 81 та 79 % від контрольного рівня, відповідно, в печінці, нирках, серці й мозку. При моделюванні гіпотиреоїдизму за допомогою мерказолілу показники вмісту GSH в органах також мали тенденцію до зниження, проте зміни були статистично недовірними.

Отже, при гіпертиреозі зменшується вміст відновленого глутатіону в органах, що може бути зумовлено, з одного боку, активацією катаболічних реакцій під впливом тироксину, а з іншого – оксидативним стресом і, як наслідок, виснаженням антиоксидного потенціалу тканин.

І. Б. Привроцька¹, Л. Я. Федонюк¹, О. Ю. Ружицька¹, Т. М. Кучмеровська²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМЕНІ О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ², КИЇВ

ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ

Одним із ключових чинників у функціонуванні антиоксидантної системи є відновлений глутатіон (ВГ), що бере безпосередню участь у реакціях детоксикації ксенобіотиків, виступає кофактором деяких ферментів та їх ізомерів, підтримує тіоловий редокс-потенціал, зберігаючи сульфгідрильні групи цитозольних білків у відновленій формі. Глутатіонова антипероксидна система особливо важлива при окиснювальному стресі, а тому важливо було дослідити вміст ВГ у плазмі крові та печінці щурів за умов розвитку гострого панкреатиту (ГП).

Дослідження проводили на щурах з ГП, який викликали шляхом внутрішньочеревного введення аргініну гідрохлориду (4 г/кг), і тваринах з ГП, яким через 1, 3 та 7 діб після ін'єкції вводили внутрішньошлунково БАД "Альфа+омега" (0,5 мг/кг) протягом 7 діб. Визначали ВГ за

рівнем утворення тіонітрофенільного аніона в результаті взаємодії SH-груп з 5,5-дитіобіс (2-нітробензойною) кислотою.

Встановлено, що вміст ВГ достовірно знижувався у плазмі крові щурів уже через 1 та 3 доби розвитку ГП на 28 і 40 % відповідно. У печінці через добу вміст глутатіону зменшувався на 31 %, а через 3 доби – на 37 %, дещо відновлювався через 7 діб, залишаючись достовірно нижчим від контролю на 35 %. Динаміка цих змін має характер, подібний до таких у крові тварин, що, очевидно, свідчить про залучення печінки у патологічний процес. Позитивний ефект БАД "Альфа+омега" на вміст відновленого глутатіону було виявлено лише через 7 діб. Так, у крові щурів 7-ї групи цей показник знижувався на 33 %, а в печінці – на 18 % порівняно з тваринами із ГП відповідного терміну.

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ПРИ УРАЖЕННІ ЩУРІВ АДРЕНАЛІНОМ І ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Дані літератури свідчать про формування енергодефіцитних станів за токсичних уражень печінки, що проявляється підвищеними витратами субстратів гліколізу та глікогенолізу – глюкози і глікогену. В разі посиленого адренергічного впливу на вуглеводний обмін відбувається активація процесу глюконеогенезу шляхом посилення глікогенолізу. В даному дослідженні ми розглядаємо характер взаємодії вищезгаданих патологічних факторів при впливі на перебіг біоенергетичних процесів в організмі за умов експерименту. Стан вуглеводного обміну оцінювали шляхом дослідження динаміки рівня головних донаторів енергії в клітині – глюкози та глікогену.

Для дослідження обрано модель поєднаного ураження щурів адреналіном і тетрахлорметаном. Токсичне ураження печінки викликали внутрішньочеревним введенням 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 1,0 мл/кг. Гостре адреналінове пошкодження міокарда спричиняли шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) в дозі

0,5 мг/кг. Дослідження проводили через 3, 24 та 48 год після застосування адреналіну.

Встановлено, що на фоні сьомої доби гострого тетрахлорметанового гепатиту через 3 год після введення токсичної дози адреналіну посилювався глікогеноліз, про що свідчило зменшення кількості глікогену в тканині печінки на 5 % порівняно з інтактною групою. У подальшому даний процес продовжувався, і в термін 24 та 48 год адреналінового ураження кількість глікогену знизилася на 12,8 і 27,3 % відповідно. У тканині міокарда спостерігали подібну тенденцію, і в термін 3 год кількість глікогену зменшилася на 36,5 % порівняно з контролем, а в термін 24 і 48 год – на 50,6 та 56,4 % відповідно.

Паралельно при визначенні концентрації глюкози в сироватці крові відмічали її підвищення в 1,5 раза на третю годину гострого адреналінового ураження, надалі концентрація глюкози залишалася вищою від контролю у 1,8 і 1,9 раза в термін 24 та 48 год.

Така динаміка вищезгаданих показників підтверджує значне виснаження запасів енергоємних субстратів при змодельованому патологічному стані.

ОСОБЛИВОСТІ СЕРОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ ТРУПІВ-ДОНОРІВ

Сучасна медицина не можлива без застосування біоімплантатів – засобів медичного призначення, які виготовляють з анатомічних матеріалів померлих людей. Можливість їх використання перш за все залежить від наявності донорського матеріалу, який відповідає як вимогам національного законодавства, так і сучасним світовим стандартам якості. Процес донації пов'язаний з вибором донора за різними критеріями – віком, часом та місцем смерті, медико-соціальним анамнезом померлого, результатами судово-медичного (патологоанатомічного) дослідження та серологічного тестування плазми і сироватки.

Забір трупної крові для дослідження на СНІД, гепатити, сифіліс та інші інфекції здійснюють шляхом проведення пункції камер серця або великих судин, зокрема стегнової вени чи сонної артерії. Зразок сироватки/плазми крові кожного донора повинен зберігатися в архіві не менше 10 років для того, щоб у подальшому можна було б виконати відповідні повторні дослідження в разі необхідності перевірки результатів.

Вилучають анатомічні матеріали тільки в тих донорів, які мали негативний результат для:

- РНК вірусу імунодефіциту людини 1 типу (HIV-1 RNA);
- РНК вірусу гепатиту С (HCV RNA);
- ДНК вірусу гепатиту В (HBV DNA);
- антитіл до вірусу імунодефіциту людини 1 та 2 типів (HIV-1/2 Ab);
- поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg);
- антитіл до поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAb);
- антитіл до ядерного антигену вірусу гепатиту (HBc IgG/IgM Ab);
- антитіл до антигенів вірусу гепатиту С (HCVAb);
- антитіл до Т-лімфотропного вірусу людини 1 і 2 типів (HTLV-1/2 Ab);
- сифілісу (нетрепонемний – антикардіоліпіновий тест і трепонемний – специфічний аналіз на антитіла проти *Treponema pallidum*).

Згідно з даними Американської асоціації тканинних банків, число придатних донорів становить у середньому 57 %, а решта вибраковують з різних причин, у тому числі через неможливість здійснити серологічні аналізи крові у зв'язку з руйнуванням еритроцитів у трупній крові та утворенням гемолізу, що призводить до можливих “псевдопозитивних” результатів. Ступінь впливу гемолізу на лабораторні показники залежить від методу дослідження та конкретного обладнання, на якому його проводять, оскільки існують методичні та інструментальні способи зниження впливу інтерферуючих факторів.

Другою причиною, яка впливає на результати серологічного дослідження сироватки/плазми, є час, обсяг і різновид розчинів, які вводили донору під час проведення медичних процедур до моменту смерті. Переливання крові, компонентів крові (або колоїдних розчинів) та/або інфузія кристалоїдів призводять до зниження концентрації білків плазми, циркулюючих антигенів і антитіл, наслідком чого є “псевдонегативні” результати досліджень на наявність інфекційних захворювань. Якщо розведення крові більше 50 %, то такого донора вибраковують.

Оптимальним підходом при виборі донора є проведення серологічних досліджень з використанням експрес-тестів, що дозволяє знизити в майбутньому вибракування донорів на 15 %. В основі експрес-методик лежить високочутливий імуноферментний аналіз, що дає можливість виявляти вірусоспецифічні антитіла в 95–99 % інфікованих донорів. Однак проблему становлять “псевдопозитивні” результати імуноферментного аналізу, які найчастіше відзначають у людей, обтяжених такими аутоімунними захворюваннями, як розсіяний склероз, системний червоний вовчак, при інфекції, викликаній вірусом Епштейна–Барр, туберкульозі, малярії, вісцеральному лейшманіозі.

ВМІСТ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ЗА УМОВ НІТРИТНОГО ОТРУЄННЯ

Згідно з даними літератури, нітрит натрію у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення активних радикалів, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси пероксидного окиснення.

Метою дослідження було визначити вміст активних форм кисню (АФК) в органах щурів різного віку за умов ураження їх нітритом натрію.

Тварин було поділено на три вікові категорії: перша – статевонезрілі, друга – статевозрілі, третя – старечі. Щури дослідних груп інтрагастралью протягом двох днів отримували водний розчин нітриту натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла. Через 24 та 72 год після останнього введення токсиканта тварин виводили з експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

Вміст АФК вірогідно ($p < 0,05$) збільшувався в крові, печінці та нирках щурів усіх вікових груп уже через 24 год після їх ураження нітритом

натрію. Максимального значення цей показник досяг через 72 год від початку експерименту. Найбільш чутливими до дії токсиканта виявились статевонезрілі тварини, в яких вміст АФК у крові в 3,8 раза перевищував такий у групі інтактного контролю, в печінці та нирках він був у 4,3 і 3,4 раза відповідно вищим порівняно з нормою.

У щурів старечого віку найбільший вміст АФК спостерігали в печінці та нирках через 72 год після інтоксикації (у 3,2 раза перевищував рівень тварин інтактного контролю). У статевозрілих щурів спостерігали підвищення вмісту АФК у крові у 3 рази, у печінці – у 2,9 раза та в нирках – у 3,2 раза у кінці дослідження.

Відмічене зростання вмісту АФК у досліджуваних органах протягом всього експерименту свідчить про високу токсичність використаного ксенобіотика, причому найбільш виражена його дія проявляється на організм статевонезрілих тварин.

І. А. Бандас, М. М. Корда

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВЗАЄМОДІЯ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ КРЕМНІЮ З ТРАДИЦІЙНИМИ КОНТАМІНАНТАМИ – ПОТЕНЦІЙНИЙ СИНЕРГІЗМ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ

Широке використання наноматеріалів супроводжується утворенням великої кількості побічних продуктів, що містять наночастинки, які можуть забруднювати навколишнє середовище та викликати проблеми зі здоров'ям у людини. Наноструктурний діоксид кремнію (SiO_2) є одним із пріоритетних видів наноматеріалів, які широко застосовують у різних біотехнологічних галузях, зокрема у складі харчових добавок, лікарських препаратів та косметичної продукції, в генетичній терапії, для створення біосенсорів і як переносник ліків. Тому ці наночастинки повинні бути всебічно оцінені щодо їх токсичного потенціалу та можливості чинити негативний вплив на здоров'я населення, особливо враховуючи той факт, що вони можуть накопичуватися в об'єктах навколишнього середовища й, у зв'язку з цим, у продовольчій сировині, що може привести до нерегульованого їх надходження в організм людини. Крім

прямого впливу SiO_2 на клітини, висловлюються припущення про можливість взаємодії даних наночастинок з традиційними контамінантами харчових продуктів, наприклад іонами важких металів. У результаті такої взаємодії наночастинки за рахунок своєї високорозвиненої поверхні й високої адсорбційної здатності можуть посилювати проникнення токсикантів в організм людини (слугувати певною мірою суперпровідниками). З іншого боку, наночастинки SiO_2 , проникаючи в клітини і взаємодіючи з біополімерами (білками, ДНК, РНК), можуть викликати зміни активності ферментних систем детоксикації ксенобіотиків чи антиоксидантного захисту, що, у свою чергу, призведе до модифікації токсичного впливу хімічних токсикантів на клітини і тканини. На сьогодні питання про біологічні ефекти наночастинок при їх надходженні в організм разом із традиційними контамінантами залишаються недослідженими.

АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ СОЧЕТАНИИ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У ПЛОДА И ВЫСОКОЙ ВЕРОЯТНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ГЕРПЕС- ИЛИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Внутриутробные инфекции остаются одной из ведущих причин врожденных пороков развития (ВПР). Среди этиологических агентов внутриутробного инфицирования важная роль принадлежит вирусу герпеса и цитомегалии, которые представляют группу возбудителей TORCH-комплекса.

Целью работы было провести биохимическое исследование амниотической жидкости (АЖ) при сочетании ВПР у плода и герпетической или цитомегаловирусной инфекции у беременных женщин для выявления ранних признаков инфицирования, а также нарушения развития и состояния здоровья плода.

Амниотическую жидкость получали методом трансабдоминального амниоцентеза по общепринятым показаниям. Исследования проводили на биохимическом анализаторе "Cobas Mira" фирмы "Roche" (Австрия) с помощью диагностических тест-наборов фирмы "Cormay" (Польша).

Диагностика инфицирования была основана на предварительном выделении из венозной крови беременных специфических антител Ig G к HSV и CMV методом ИФА.

Биохимические исследования проведены у 23 беременных группы высокого риска по внутриутробному инфицированию плода герпетической или цитомегаловирусной инфекцией. Возраст беременных – 18–35 лет. Первую группу составили 10 женщин в сроке 16–20 недель, а вторую – остальные 13 в сроке 21–24 недели. У всех беременных диагностированы ВПР плода, в структуре которых имели преимущество пороки ЦНС, почек и мочевыводящих путей, пороки развития передней брюшной стенки, пороки костной ткани. Результаты показывают, что только у одной из 10 беременных 1-й группы выявлены в крови антитела класса Ig G к вирусу HSV. Положительные результаты по выделению Ig G-антител в крови к CMV не обнаружены ни у одной из 10 женщин в этом гестационном сроке. Однако в сроке 21–24 недели из 13 беременных на фоне 5 отрицательных результатов у 8 (61,54 %), что составляло более чем половину обследованных, определены положительные результаты

по выделению Ig G-антител к герпес-инфекции. Сочетание CMV- и HSV инфекций выявлено только у 2 беременных (15,39 %) в этом сроке.

Во время биохимических исследований установлено, что средние значения содержания билирубина и общего белка в АЖ в 16–20 недель находились в диапазоне колебаний, предусмотренных нормой, однако содержание глюкозы было достоверно снижено. Показатели активности аланин- и аспаратаминотрансферазы в 1,5 раза превышали норму. Аналогичное определение этих же показателей АЖ в 21–24 недели указывает на более глубокие биохимические изменения по сравнению с таковыми в 16–20 недель, что может свидетельствовать об углублении разбалансирования процессов обмена у плода. Содержание билирубина – 5,3 мкмоль/л против (3,29±0,14) мкмоль/л ($p<0,001$), общего белка – 9,0 г/л против (6,37±0,25) г/л ($p<0,001$), что достоверно выше нормы, при этом показатели глюкозы были резко снижены – 1,0 ммоль/л против (1,78±0,07) ммоль/л ($p<0,001$), а активность аспаратаминотрансферазы больше чем в 2 раза превышала норму.

Высокий процент (61,54 %) выявления положительных результатов относительно Ig G-антител к вирусу HSV в сроке 21–24 недели свидетельствует о более уязвимом влиянии именно герпетической инфекции, по сравнению с цитомегалией, на состояние и развитие плода, в связи с чем этот период можно рассматривать как "оптимальный" в диагностике инфицирования. Глубокие изменения биохимических показателей указывают на несостоятельность процессов обмена у плода. Комплексное исследование маркеров инфицирования и биохимических показателей как маркеров грубых нарушений развития и критического состояния здоровья плода будет способствовать предотвращению ложной интерпретации результатов, раннему выявлению патологии с целью своевременного лечения и выбора тактики проведения конкретной беременности во избежание рождения безнадежно больного ребенка.

РОЗВИТОК ІМУНОКОМПЛЕКСНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ТОКСИЧНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ

Згідно з досягненнями сучасної імунології, одним з основних передбачуваних механізмів пошкодження при патологічних ураженнях різного генезу є утворення імунних комплексів. При відкладанні таких імунних комплексів у судинах мікроциркуляторного русла активується система комплементу, що індукує комплементозалежну цитотоксичність лімфоцитів. Визначення рівня імунних комплексів корисне в моніторингу лікування ряду захворювань.

Метою даного експериментального дослідження стало з'ясування динаміки утворення імунних комплексів у білих щурів при змодельованому токсичному ураженні печінки.

Досліди проведено на 30 білих безпородних щурах-самцях масою 160–170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин було поділено на 3 групи: 1-ша складалася з 10 особин із змодельованим гострим токсичним ураженням печінки (тривалість спостереження – 2 доби); 2-га – 10 щурів із зазначеною патологією, яких виводили з експерименту через 7 діб; 3-тя – 10 білих щурів, яким проводили імітацію внутрішньошлункових введень, застосовуючи фізрозчин. Моделлю токсичного

ураження тварин слугувала інтоксикація тетрахлорметаном (CCl_4). Тетрахлорметан вводили через день внутрішньошлунково у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 2 г/кг маси тіла тварини. Виводили всіх щурів з експерименту за умов тіопентало-натрієвого знеболювання. Вміст циркулюючих імунних комплексів визначали згідно з методикою Гриневича та співавт. (1981).

Результати проведеного дослідження показали, що у крові тварин з експериментальним токсичним гепатитом встановлено істотне статистично-достовірне підвищення вмісту циркулюючих імунних комплексів порівняно з аналогічним показником у групі контрольних тварин – ($148,2 \pm 4,0$) ум. од., тобто у 2,9 раза більше від контрольного показника на 2 добу від початку експерименту, та ($261,5 \pm 37,4$) ум. од., тобто в 5,1 раза більше від контрольного показника на 7 добу експерименту при ($51,6 \pm 1,3$) ум. од. у контрольних тварин відповідно.

Наведені результати експериментального дослідження свідчать про виникнення імунокомплексного ураження судин гемомікроциркуляторного русла при експериментальному токсичному ураженні печінки.

ТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ ЗМІН ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ В АМНІОТИЧНІЙ РІДИНІ ВАГІТНИХ ЖІНОК ЗА НАЯВНОСТІ ТЯЖКИХ УРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ ПЛОДА

Молекули середньої маси (МСМ), або середні молекули (СМ), відомі як вторинні фактори ендогенної інтоксикації і розглядаються як її маркери. Основна їх частина представлена поліпептидами з молекулярною масою 300–5000 Д. Вони можуть спричиняти розлади ГЕБ, мікроциркуляторного русла, інгібувати мітохондріальне окиснення, порушувати процеси транспорту амінокислот та іонів натрію і калію через мембрани, пригнічувати імунну відповідь організму.

Метою роботи було дослідити діагностичну інформативність особливостей змін вмісту СМ в амніотичній рідині вагітних жінок за наявності тяжких уроджених вад розвитку (УВР) у плода та їх вплив на подальший розвиток і порушення стану його здоров'я.

Амніотичну рідину отримували методом трансабдомінального амніоцентезу за загальноприйнятими показаннями. Для визначення вмісту СМ застосовували скринінговий метод (модифікація способу А. Бабеля із співавт., 1974). Дослідження проведено в 45 жінок (вік – 18–35 років) у різні періоди гестаційного процесу.

У структурі УВР плода переважали вади ЦНС, нирок та сечовивідних шляхів, вади розвитку передньої черевної стінки і вади кісткової тканини.

Центрифугат, що підлягав аналізу, – це груба (неочищена) фракція СМ. Скринінговий метод визначення загальної фракції МСМ показав підвищення їх вмісту на 30 % у термін 16–20 тижнів, на 48 % – 21–24 тижні, а в міру росту плода, наприкінці II триместру (у 25–28 тижнів) – на 50 %. Останній з цих термінів збігається з періодом розвитку мозочка у плода, на-

певно, токсична дія СМ в подальшому може призвести до структурних змін у мозку.

Можливо, таке підвищення є наслідком дискоординації метаболічних процесів і модифікації генетичної програми синтезу або дефекту виділення відпрацьованих метаболітів, оскільки в літературі відомо і про участь середньомолекулярних токсинів у розвитку ниркової недостатності.

Можна допустити, що більш високий відсоток підвищення загальної фракції МСМ в амніотичній рідині у термін 25–28 тижнів, що збігається з розвитком мозку плода, напевно, пов'язаний з нейротоксичним ефектом СМ, оскільки у вибірці першочергове місце займали саме уроджені вади ЦНС плода. Пошкодження клітинних елементів тканини ЦНС у подальшому може призвести і до розбалансування нейрогуморальної регуляції, а також порушення гомеостатичних процесів.

Хоча ефективність ізольованого дослідження загальної фракції МСМ, що діють як універсальні фактори інтоксикації, є достатньо високою, однак, враховуючи факт, що СМ здатні пригнічувати активність ізоферментів лактатдегідрогенази, аденілатциклази, піруваткінази, транскетолази та ін. і спричиняти порушення біохімічних процесів, доцільно для уникнення хибної інтерпретації результатів і повноцінної характеристики стану плода провести комплексне дослідження ряду біохімічних показників з різних метаболічних шляхів та окремих ланок обміну, зокрема білкового, оскільки основним джерелом середньомолекулярних токсинів є білкові молекули, складовою яких можуть бути і вуглеводні компоненти.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ РЕМОДЕЛЮВАННЯ СЕРЦЯ У ХВОРИХ НА ПОДАГРУ

Серцево-судинна патологія незмінно лідирує в структурі смертності населення України. Однією з вагомих патогенетичних причин цього є процес ремоделювання серця, який суттєво впливає на прогноз розвитку серцевої недостатності та появу небезпечних для життя аритмій. Стромально-функціональна перебудова міокарда виникає не лише ізольовано як прояв серцево-судинного захворювання, а може зумовлюватись різноманітними екзо- та ендогенними чинниками, в тому числі й метаболічними порушеннями, зокрема гіперурикемією.

Метою роботи було з'ясувати зв'язок типів ремоделювання серця та біохімічних показників у хворих на подагру.

Для аналізу зібрали дані біохімічних досліджень крові та ЕХО-кардіоскопічних обстежень 26 хворих на подагру із супутньою артеріальною гіпертензією (АГ). Згідно з рекомендаціями Європейського товариства кардіологів (2013), критерієм гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ) серця вважали індекс маси міокарда (ІММ) > 115 г/м².

За рівнем артеріального тиску хворих з гіперурикемією поділили на 3 групи: до 1-ї ввійшли 8 пацієнтів з АГ 1-го ст., до 2-ї – 11 пацієнтів

з АГ 2-го ст., до 3-ї – 7 хворих на АГ 3-го ст. На підставі ІММ та відносної товщини стінки ЛШ (ВТС, ум. од.), що обчислювали як (ТЗСЛШ + ТМШП) / КДР, визначали тип ремоделювання лівого шлуночка. Залежно від величини ІММ ЛШ і ВТС виділяли такі типи геометрії: нормальну геометрію (НГ) ЛШ (ВТС<0,45, нормальний ІММ ЛШ), концентричне ремоделювання (КР) (ВТС≥0,45, нормальний ІММ ЛШ), концентричну гіпертрофію (КГ) (ВТС≥0,45, ІММ ЛШ понад норму), ексцентричну гіпертрофію (ЕГ) (ВТС<0,45, ІММ ЛШ понад норму). Серед хворих 1-ї групи із середнім рівнем сечової кислоти (СК) (506,88±36,07) мкмоль/л у 2-х (25 %) спостерігали КР та ще у 2-х (25 %) – ЕГ. У пацієнтів 2-ї групи гіперурикемія була на рівні (511,91±35,78) мкмоль/л і відмічено переважання КР у 4-х хворих (36,4 %) та КГ – у 3-х (27,3 %). ЕГ виявлено лише у 2-х хворих (18,2 %). Рівень СК у крові пацієнтів 3-ї групи становив (531,14±38,14) мкмоль/л. У них порівну спостерігали як КГ, так і ЕГ – по 2 хворих (по 28,6 %) та в 1 (14,3 %) – КР.

Зростання рівня СК у крові хворих на подагру із супутньою АГ супроводжується розвитком ремоделювання камер серця переважно концентричного типу.

ІНТЕНСИВНІСТЬ МЕТГЕМОГЛОБІНУТВОРЕННЯ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ЗА УМОВИ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НАТРІЮ НІТРИТОМ

Кисневмісні неорганічні сполуки азоту (азотна й азотиста кислоти, а також їх солі: нітрати, нітрити і всі окиси азоту) на даний час привертають особливу увагу. Вони надходять в організм людини в основному з продуктами харчування і питною водою у вигляді нітратів та нітритів, які вже не одне десятиліття займають пріоритетне становище серед забруднювачів довкілля, що є наслідком інтенсифікації сільського господарства, недосконалої очистки споруд, порушення технології зберігання та використання азотних добрив, забруднення повітря оксидами нітрогену тощо.

Токсичне ураження моделювали шляхом внутрішньошлункового введення натрію нітриту щодня протягом трьох тижнів у вигляді водного розчину в дозі 5 мг/кг маси тіла тварини. Контрольній групі тварин вводили внутрішньошлунково об'єм води, ідентичний об'єму водного розчину натрію нітриту, який вводили щурам експериментальної серії.

Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентало-натрієвого наркозу. Вміст метгемоглобіну в цільній крові визначали за допомогою ціанідного методу.

Одним із показників розвитку вільнорадикальних процесів в ураженому нітритом натрію організмі є вміст метгемоглобіну, оскільки відомо, що метгемоглобіноутворення – це перша реакція організму на потрапляння в нього досліджуваного нами токсиканта. Це зумовлено насамперед тим, що нітрати та нітрити як сильні окиснювачі здатні переводити двовалентне залізо гему в тривалентне, утворюючи метгемоглобін, що призводить до розвитку гіпоксичного пошкодження за гемічним типом.

При порівнянні вмісту метгемоглобіну цільної крові у тварин контрольних груп не було виявлено достовірної різниці між самками і сам-

цями ((3,60±0,15); (3,82±0,25) % відповідно). За умови токсичної дії натрію нітриту встановлено виражене збільшення вмісту метгемоглобіну в щурів обох дослідних груп: у самців даний показник зріс у 4,7 раза ($p < 0,05$), в самок – у 3,5 раза ($p < 0,05$). При порівнянні вмісту метгемоглобіну в уражених тварин виявлено його достовірне переважання у самців на 40,3 % ($p < 0,05$).

У процесі взаємодії нітритів з гемоглобіном (Hb) виділяються активні форми кисню: супероксидний аніон-радикал (O_2^-), пероксид водню (H_2O_2), нітратні (NO_3^-) й нітритні (NO_2^-) іони, NO і NO_2 , а також проміжні продукти окиснення гемоглобіну. NO легко витісняє кисень з оксигемоглобіну й утворює Hb-NO-комплекси, у процесі розпаду яких Hb окиснюється в MtHb. Накопичення Hb-NO-комплексів сприяє прогресуванню гіпоксії, тому що Hb-NO і MtHb не здатні переносити кисень. Поряд із MtHb-емією, утворення NO викликає цитотоксичні ефекти, пошкодження клітинних структур, інтенсивний апоптоз, порушення процесів регуляції гемодинаміки й нейроклітинної сигналізації, що проявляються порушенням функцій серця. Особливість патологічного процесу при гіпоксії, зумовленої введенням токсичних доз натрію нітриту, полягає в тому, що метгемоглобінізуюча дія токсиканта доповнюється окисним стресом з інгібуванням ферментів дихального ланцюга мітохондрій, що призводить до порушення їх функціонального стану та метаболічних розладів.

Отже, за умови токсичного ураження натрію нітритом спостерігають виражену інтенсифікацію метгемоглобіноутворення. При гендерному зіставленні змін метгемоглобіноутворення виявлено його достовірне переважання у щурів-самців.

СТАН ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ З АМАНІТА-ФАЛОЇДИНОВИМ ОТРУЄННЯМ

Метою дослідження було вивчити динаміку показників протеїназо-інгібіторної системи у щурів різних вікових періодів (3-, 6- і 18–24-місячного віку) за умов отруєння токсинами блідої поганки (БП).

Отруювали тварин шляхом одноразового внутрішньочеревного введення екстракту БП, отриманого за методом Wieland, у дозі 85 мг/кг маси тіла ($1/2 LD_{50}$). Евтаназію щурів проводили шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом через 6, 24 та 72 год після отруєння з подальшим забором крові.

У плазмі крові визначали рівень протеолітичної активності крові за даними лізису азоальбуміну (лізис низькомолекулярних білків), азоказеїну (лізис високомолекулярних білків), азоколу (лізис колагену) (В. М. Магаляс, А. О. Михеев); вміст білкових інгібіторів протеолізу α_2 -макроглобуліну (α_2 -М) та α_1 -інгібітора протеїназ (α_1 -ІП) – за методом К. М. Веремеєнка.

За результатами проведених нами експериментів встановлено, що при отруєнні тварин екстрактом БП протеїназна активність крові (ПАК) зростала в щурів усіх вікових груп, однак ступінь зростання був неоднаковим. Так, у молодих тварин максимальний лізис азоальбуміну спостерігався через 24 год після введення екстракту БП і становив 176 % порівняно з інтактними тваринами. Аналогічно у 3-місячних щурів зростав лізис азоказеїну й азоколу (на 94 та 92 % відповідно) порівняно з показниками групи інтактних тварин. У щурів 6-місячного віку також відбулося підвищення ПАК (на 92, 77 та 81 % відповідно) з максимумом на 24-ту годину, однак менш виражене, ніж у молодих тварин. Найбільш виражене підвищення ПАК зафіксовано у старих тварин: максимальне зростання лізису азоальбуміну (в 3,6 раза) спостерігали через 24 год після отруєння БП порівняно з інтактними тваринами, лізис азоказеїну й азоколу зріс у 2,3 та 2,1 раза відповідно.

Значних змін зазнавала активність білкових інгібіторів плазми крові. На 6-ту годину експе-

рименту встановлено достовірне підвищення інгібіторного потенціалу крові у молодих і дорослих тварин, в основному за рахунок збільшення вмісту α_1 -ІП, який зріс на 38 та 35 % відповідно в обох вікових групах. Щодо α_2 -М, то його концентрація теж підвищилась, але лише на 27 % у молодих і на 32 % у дорослих щурів порівняно з інтактними. У наступні терміни дослідження ми спостерігали зниження білкових інгібіторів протеїназ плазми крові. Зокрема, через 72 год від моменту отруєння концентрація α_1 -ІП у крові молодих щурів була нижчою, порівняно з інтактними, в 1,7 раза, а в дорослих – в 1,3 раза порівняно з інтактними тваринами відповідних вікових груп. Концентрація α_2 -М у молодих щурів була нижчою в 1,4 раза, а в дорослих – в 1,5 раза порівняно з інтактними.

Щодо старих щурів, то інгібіторний потенціал крові знижувався вже на 6-ту годину після токсичного ураження БП, а найбільші показники зафіксовано на 72-гу годину за рахунок α_2 -М, концентрація якого зменшилась на 62 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст α_1 -ІП мав аналогічну тенденцію, однак показник зниження був дещо меншим (на 53 %) відносно групи інтактних тварин.

Результати проведених досліджень свідчать про посилення протеолітичної активності крові зі зниженням антипротеазного потенціалу в усі терміни дослідження у старих тварин і його фазові зміни у дорослих та молодих.

Виражене збільшення вмісту α_1 -ІП у перші години після отруєння може бути зумовлене його підвищеною продукцією паралельно з гіперпродукцією інших гострофазових білків у відповідь на токсичне ураження печінки. Крім того, зростання активності основних білкових інгібіторів можна розцінювати як неспецифічну захисну реакцію організму на посилений протеоліз та запуск фізіологічних процесів адаптації у відповідь на надходження отрути в організм.

ВМІСТ ОМЕГА-3 ЖИРНИХ КИСЛОТ У МОЛОЦІ ТА МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ

Молоко – цінний харчовий продукт з високими біологічними якостями. Біологічна його цінність визначається вмістом повноцінних білків, поліненасичених жирних кислот, фосфатидів, мінеральних речовин, вітамінів.

Серед відомих поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) – ω -3, ω -6 і ω -9, які в незначній кількості містяться в молоці, найбільше значення для живих організмів мають такі кислоти родини ω -3, як ейкозопентаєнова, докозагексаєнова та ліноленова. Ці кислоти в організмі людини не синтезуються і надходять тільки екзогенно при споживанні окремих харчових продуктів. Роль ω -3 в живих організмах є надзвичайно великою. Результати їх лікувально-профілактичного впливу на організм людини чи тварин підтверджені численними експериментальними і клінічними дослідженнями.

Проведені українськими вченими дослідження жирнокислотного складу молока показали, що найбільший відсоток ω -3, ω -6 та ω -9 ПНЖК міститься в жіночому, коров'ячому, козячому і кобилячому молоці.

Незначний вміст ω -3 у молоці та молочних продуктах створив передумови для виготовлення збагачених ПНЖК кисломолочних продуктів. Такі продукти є дуже корисними. Над створенням молочної продукції з високим вмістом ω -3 працює багато науковців та компаній у цілому світі. Нові виробничі технології внесення в кисломолочні продукти ПНЖК ω -3 та їх цілющі властивості уможливають збільшити попит серед населення, що, у свою чергу, допоможе зміцнити імунітет та покращити психофізіологічний стан людини, а отже, сприятиме довголіттю.

А. Є. Демкович

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПОСТЕКСТРАКЦІЙНОМУ АЛЬВЕОЛІТІ

Запалення вмісту і стінок альвеоли лунки видаленого зуба (постекстракційний альвеоліт) є одним із найбільш поширених ускладнень щелепно-лицевої ділянки та залежить від стану імунологічної реактивності організму. Тому метою наших досліджень було визначення впливу тіотриазоліну на рівень у крові тварин цитокінів – медіаторів запальної реакції. Експерименти проводили на білих щурах масою 150–200 г. Тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини з експериментальним постекстракційним альвеолітом (ЕПА); 3-тя – тварини з ЕПА, які отримували тіотриазолін. Проявляючи імуномодельючий вплив на гуморальну ланку імунітету при ЕПА, тіотриазолін зменшує в сироватці крові вміст імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів, що сприяє згасанню запального процесу. Застосування антиоксиданта тіотриазоліну призвело до зниження вмісту ІЛ-1 β на 10,6 % ($p < 0,05$) у сироватці крові тварин проти групи щурів з ЕПА, які не отримували препарат, але

істотно підвищилась продукція ІЛ-6, зокрема рівень даного прозапального цитокіну при цьому збільшився (в 1,31 раза; $p < 0,05$) порівняно з тваринами з альвеолітом без корекції. Використання антиоксиданта зумовило зменшення ФНП- α у сироватці крові на 25,1 % ($p < 0,05$). З тіотриазоліном у сироватці крові знижувався вміст протизапального цитокіну ІЛ-10 (в 1,39 раза; $p < 0,01$) порівняно з тваринами, які впродовж даного періоду не отримували препарат. Безперечно, від цього цитокіну залежать перебіг і наслідок запальної реакції в процесі розвитку даного ускладнення. Таким чином, тіотриазолін, проявляючи імуномодулюючий вплив на гуморальну ланку імунітету та антиоксидантні властивості в процесі розвитку експериментального постекстракційного альвеоліту, усуває імуноцитокінову дисфункцію, впливає на продукцію цитокінів, змінюючи при цьому їх концентрацію в сироватці крові відповідно до стадії формування запалення в тканинах альвеоли видаленого зуба.

РІВЕНЬ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ І ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ НА ТЛІ ТЯЖКОЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ

За даними ВООЗ, серед причин смертності травми займають третє, а серед населення до 40 років – перше місце. Метаболічні реакції організму в постраждалих з політравмою характеризуються розвитком гіперферментемії, збільшенням рівня гліколітичних процесів, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів. Роль активності речовин ферментативної та неферментативної природи у сироватці крові при тяжкій і комбінованій травмі на даний час потребує подальшого вивчення.

Метою роботи було визначити активність каталази та відновленого глутатіону при тяжкій і комбінованій травмі й порівняти їх вміст у сироватці крові тяжкотравмованих тварин з додатковим механічним дефектом та опіком шкіри.

В експерименті використано 48 білих щурів масою 180–200 г, яких було поділено на чотири групи: 1–3 – дослідні, 4-та – контрольна. У 1-й групі тварин в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали тяжку травму; в 2-й групі додатково на депільованій поверхні спини викроювали шкірний клапоть площею 10 % поверхні шкіри; у 3-й групі моделювали

опік III ступеня за методикою, відповідно до якої в умовах ефірного наркозу до депільованої поверхні спини прикладали мідну пластинку площею 28 см² на 10 хв, попередньо занурену в киплячу воду; в 4-ту групу ввійшли інтактні тварини, яких утримували в стандартних умовах віварію. Вміст відновленого глутатіону визначали за реакцією з реактивом Елмана, активність каталази – за методикою Королюк.

За умов множинної та комбінованої травми активність каталази і відновленого глутатіону в сироватці крові зростає. Зафіксовані зміни спричиняються посиленням виходом даних речовин у кров внаслідок цитолізу гепатоцитів. Даний процес зумовлюється негативним впливом ендотоксинів на мембрани. Тяжке травмування тварин викликало підвищення активності каталази та відновленого глутатіону в сироватці крові усіх досліджуваних груп, причому найістотніше – у травмованих опечених тварин 3-ї групи на 7-му добу експерименту. Концентрація даних речовин у сироватці крові зростала у тварин з комбінованою травмою 2-ї та 3-ї груп на 1-шу добу експерименту.

БІОХІМІЯ РОСЛИН: МЕДИЧНІ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ

С. М. Марчишин¹, С. С. Козачок¹, О. В. Зарічанська², Т. І. Ющенко²
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
 ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА²

ДОСЛІДЖЕННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ КВІТОК, ЛИСТКІВ І КОРЕНЕБУЛЬБ ЛІЛІЙНИКА БУРО-ЖОВТОГО (HEMEROCALLIS FULVA L.) ТА ЛІЛІЙНИКА ГІБРИДНОГО (HEMEROCALLIS HYBRIDA VAR. 'STELLA DE ORO')

Органічні кислоти мають вплив на розвиток фармакологічного ефекту фітопрепаратів, проявляють фізіологічну активність різноманітного спрямування. Перспективними об'єктами для фармакогностичного та фармакологічного дослідження є рослини роду Лілійник (*Heemerocallis L.*).

Метою представленої роботи було дослідити якісний склад та кількісний вміст низькомолекулярних органічних кислот у квітках, листках і коренебульбах лілійника буро-жовтого (ЛБЖ) (*Heemerocallis fulva L.*) та лілійника гібридного (ЛГ) сорту 'Stella De Oro' (*Heemerocallis hybrida var. 'Stella De Oro'*), що належать до родини *Xanthorrhoeaceae*, підродин *Heemerocallidaceae*, роду *Heemerocallis L.*

Після відповідної пробопідготовки кількісний вміст органічних кислот у перерахунку на левулінову кислоту був визначений титриметрично і склав: у листках ЛБЖ – (0,89±0,08) %, у квітках ЛБЖ – (2,66±0,18) %, у коренебульбах ЛБЖ – (1,420,15) %; у листках ЛГ – (1,11±0,15) %, у квітках ЛГ – (3,28±0,14) %, у коренебульбах ЛГ – (1,67±0,22) % у перерахунку на суху сировину.

Розділення та ідентифікацію компонентів проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert ("Agilent Technologies", США). Ідентифікацію здійснювали з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Результати дослідження показали, що всі досліджувані об'єкти містять значну кількість валеріанової кислоти: у квітках лілійника гібридного її вміст становив 21,88 мг/кг, у квітках лілійника буро-жовтого – 28,35 мг/кг; у листках лілійника гібридного – 1,59 мг/кг, у листках лілійника буро-жовтого – 0,9 мг/кг; у коренебульбах лілійника гібридного – 17,21 мг/кг, у коренебульбах лілійника буро-жовтого – 17,96 мг/кг. З низькомолекулярних органічних кислот також ідентифіковано щавлеву в листках ЛГ і ЛБЖ, коренебульбах ЛГ та ЛБЖ; малонову у квітках ЛГ, листках ЛГ і ЛБЖ; фумарову та бурштинову у квітках ЛГ; бензойну у квітках ЛГ і ЛБЖ; яблучну у квітках ЛГ та ЛБЖ, листках ЛБЖ; лимонну в усіх досліджуваних об'єктах, окрім квіток ЛБЖ. Зведені результати дослідження наведено у таблиці.

Таблиця – Вміст органічних кислот у надземних і підземних органах лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного

Назва кислоти	Вміст у % від загальної кількості					
	квітки ЛГ	квітки ЛБЖ	листки ЛГ	листки ЛБЖ	коренебульби ЛГ	коренебульби ЛБЖ
Щавлева	–	–	1,95	1,76	0,62	0,42
Малонова	0,14	–	1,41	1,2	–	–
Валеріанова	7,14	10,30	7,32	10,40	31,20	31,18
Фумарова	0,09	–	–	–	–	–
Бурштинова	0,20	–	–	–	–	–
Бензойна	0,71	0,87	–	–	–	–
Яблучна	0,29	0,50	–	1,65	–	–
Лимонна	0,56	–	2,32	1,41	0,42	0,32

Таким чином, було проведено порівняльне дослідження якісного складу та кількісного вмісту низькомолекулярних органічних кислот у трьох видах сировини двох видів лілійників. Результати досліджень свідчать про деякі

відмінності в накопиченні органічних кислот у різних органах та видах рослин роду Лілійник (*Heemerocallis L.*), а також про доцільність і необхідність подальшого фітохімічного аналізу зазначених об'єктів.

DETERMINATION OF PHENOLIC ACIDS IN CALAMINTHA OFFICINALIS BY LC-MS/MS ANALYSIS

Creation of effective pharmaceuticals is one of the priorities of the Ukrainian and Polish health care. Drugs of natural origin have a priority application in prevention and therapy of several diseases. There is some information about cytotoxic impact of phenolics from various plant species on human cancer cells.

Moench. is an aromatic plant extensively applied on Mediterranean, and introduced, and cultivated in Western Ukraine. The potential of this plant as a therapeutic agent only recently became accepted. The purpose of this study was to investigate the phenolic acids both qualitatively and quantitatively in the extract from the aerial parts of *C.officinalis*.

The plant material was harvested during July-August 2012–2013, shade-dried at room temperature. The extractions were performed using an

accelerated solvent extraction system, and extracts were lyophilized. Liquid chromatography–mass spectrometry technique was used for detection of phenolic acids: UHPLC apparatus (Agilent), QTRAP 3200 (ABSciex), Column RP 18, analysis MRM detection.

There were identified ten phenolic acids in herb of *Calamintha officinalis* Moench. The most important constituents are Rosmarinic (7596,67), Caffeic (165.50), Protocatechuic (114.50), Syringic (101.50) ng/mg of dry extract; Vanilic, Ferulic, Salicylic, p-Coumaric, Gentisic (between 9.48–28.80ng/mg of dry extract), and trace amount of 4-OH-benzoic acid. These compounds have antioxidant effect.

Conclusion. This study increases our knowledge on the effective compound in *C.officinalis* Moench. and supports its use in medicine.

I. I. Мілян, С. М. Марчишин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ ВЕРОНІКИ ЛЕЖАЧОЇ МЕТОДОМ ВЕРХ

Лікувальна дія лікарських рослин зумовлена наявністю в їх складі біологічно активних речовин, що впливають на ті чи інші органи і системи організму. Найбільше значення серед них мають речовини вторинного синтезу, зокрема фенольні сполуки, які проявляють капіляростромувальну дію і Р-вітамінну активність, підвищують резистентність стінок кровоносних судин і сприяють засвоєнню аскорбінової кислоти, проявляють антимікробну й антиоксидантну активність.

Враховуючи те, що у наукових публікаціях відомостей про вміст біологічно активних речовин у траві вероніки лежачої недостатньо, метою наших досліджень стало визначення вмісту фенольних сполук у траві даної рослини.

Для розділення суми фенольних сполук на окремі компоненти використовували метод

ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США). Здійснювали обернено-фазну хроматографію, використовували хроматографічну колонку SupelcoDiscovery C₁₈. Рухомо фаза: сольвент А – 0,005 N ортофосфорна кислота та сольвент В – ацетонітрил. Час сканування – 0,6 с, діапазон детектування – 190–400 нм, довжина хвилі – 320, 330 нм.

Результати досліджень показали, що у траві вероніки лежачої наявні складові дубильних речовин, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди. Встановлено, що у значній кількості містяться епікатехін (0,058 %), елагова кислота (0,058 %), катехін галат (0,039 %), епікатехін галат (0,035 %), галова (0,013 %), розмаринова (0,405 %), кофейна (0,036 %), п-кумарова (0,01 %), ферулова (0,045 %) кислоти, гіперозид (0,012 %), лутеонін (0,007 %) та апігенін (0,345 %).

АНАЛІЗ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ З НАСІННЯ *NIGELLA ARVENSIS* L.

Види роду Чорнушка (*Nigella* L.) – однорічні культивовані рослини родини жовтецеві, насіння яких використовують у народній медицині як жовчогінний, сечогінний, вітрогінний, лактогенний засіб під назвою “Чорний кмин” [1]. Науковці вивчають антиоксидантні, антимікробні та протиракові властивості цих рослин [2]. В Україні культивують два види роду – *Nigella sativa* та *Nigella damascena*.

Мета наших досліджень – аналіз ефірної олії з насіння малопоширеної та недостатньо вивченої в науковому відношенні чорнушки польової (*Nigella arvensis*).

Рослини для досліджень було вирощено в умовах Тернопільської обл. Ефірну олію отримали з висушеного стиглого насіння чорнушки

польової шляхом перегонки з водяною парою. Хромато-мас-спектрометричний аналіз зразків ефірної олії здійснено на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890 N.

Встановлено, що в насінні *Nigella arvensis* накопичується (0,42±0,13) % ефірної олії з пряно-пекучим смаком. ВЕГХ-аналіз показав наявність 53 сполук в ефірній олії рослини, серед яких домінує моноциклічний монотерпеноїд карвон (46,60 %). У меншій кількості в ефірній олії рослини виявлено карвакрол, метилкарвакрол, ліналоол тощо. Відомо, що карвон є головним компонентом ефірної олії ммину звичайного, тому в перспективі вважаємо доцільним дослідження антимікробних та вітрогінних властивостей ефірної олії з насіння *Nigella arvensis*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Сербін А. Г. Фармацевтична ботаніка / А. Г. Сербін, Л. М. Сіра, Т. О. Слободянюк. – Вінниця : Нова книга, 2007. – С. 153.

2. Burits M. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil / M. Burits, F. Bucar // *Phytother. Res.* – 2000. – 14 (5). – P. 323–328.

О. І. Лебідь, С. М. Марчишин, В. В. Шманько

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ЗБОРІ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ

Захворювання пародонта в структурі стоматологічних хвороб на сьогодні займають друге місце після карієсу і залишаються однією з актуальних проблем сучасної дитячої стоматології.

Беручи до уваги патогенетичні механізми розвитку захворювання пародонта на фоні аліментарно-конституційного ожиріння та провівши огляд існуючих на даний час схем лікування гінгівіту і генералізованого пародонтиту, ми застосували, поряд зі стандартними методами лікування, препарат місцевої дії та фітозбір, що спрямовані на ліквідацію запальних і запально-дистрофічних процесів у тканинах пародонта та відновлення місцевого імунного захисту в дітей з аліментарно-конституційним ожирінням. Це дозволяє досягти підвищення ефективності лікування гінгівіту та генералізованого пародонтиту, продовжити ремісію та уникнути можливих ускладнень лікування.

До складу розробленого нами фітозбору входять: насіння льону, квітки цмину, трава хво-

ща польового, плоди чорниці, кора крушини, листки шавлії лікарської. Враховуючи те, що досліджуваний фітозбір має виражені протизапальні й антисептичні властивості, метою наших досліджень було встановити, за рахунок яких біологічно активних речовин проявляється даний фармакологічний ефект.

Дослідження проводили на спектрофотометрі Lambda 25 UV (“Perkin Elmer”, США). Вміст флавоноїдів визначали у перерахунку на рутин при довжині хвилі 410 нм, суми фенольних сполук – у перерахунку на галову кислоту при 270 нм, гідроксикоричних кислот – у перерахунку на хлорогенову кислоту при 327 нм. Дубильні речовини визначали перманганатометричним методом. За результатами проведених досліджень, встановлено, що вміст фенольних сполук становив (5,75±0,01) %, флавоноїдів – (4,07±0,001) %, гідроксикоричних кислот – (2,69±0,003) %, дубильних речовин – (12,78±0,01) %.

ВИДІЛЕННЯ І ДОСЛІДЖЕННЯ ФРАКЦІЇ БІЛКІВ-ФІТОГЕМАГЛЮТИНІНІВ СОЇ ЗВИЧАЙНОЇ ТА ГЕННО-МОДИФІКОВАНОЇ

Для суттєвого зменшення затрат на вирощування сої фірма "Монсанто" (США) запропонувала сою генно-модифіковану (ГМ), в яку за допомогою методу "генної гармати" було введено ген ферменту 5-енолпірувілшікімат-3-фосфат синтази (ЕПШФС) з ґрунтової бактерії *Agrobacterium tumefaciens*. Цей ген забезпечує стійкість сої до гербіциду гліфосфату (раундапу).

З часом почали з'являтися експериментальні роботи щодо негативного впливу сої ГМ на організм тварин, у тому числі підвищення кількості злоякісних пухлин. Було показано, що після обробки посівів сої раундапом у рослинах та насінні з'являються гліфосфат (в концентрації до 0,002 %) та продукти його деградації, які, можливо, і спричиняють негативну дію. У Вінницькому інституті кормів встановлено негативний вплив сої ГМ на репродуктивну функцію свиноматок. Можливо, негативна дія сої генно-модифікованої на організм тварин пов'язана зі зміною вмісту в ній біологічно активних речовин, у тому числі антихарчових факторів, до яких належать фітогемаглютиніни (ФГА).

Метою дослідження було розробити метод отримання освітленого (прозорого) екстракту білків сої звичайної та генно-модифікованої, придатного для кількісного визначення в ньому білка і ФГА.

Поставлено завдання: отримати фракції білка сої; випробувати різні методи його освітлення; визначити в освітленій фракції кількість білка, загальних та специфічних до груп крові людини ФГА.

Використано один зразок насіння сої ГМ та два зразки сої звичайної, районованої на Поділлі (сорти Діона й Артеміда).

Фракцію білків, що містила ФГА, виділяли за методом J. Tobiska (1964), титри ФГА виявляли реакцією гемаглютинації в лунках з використанням еритроцитів барана і людини I, II та III груп крові.

Наводимо розроблений нами метод отримання освітленого екстракту сої, який складається з таких етапів:

- 1) отримання муки сої шляхом розмелювання подрібнювачем тканини (марка) протягом 5 хв;
- 2) змішування муки з десятикратною кількістю фізіологічного (0,9 % розчину NaCl) розчину та інкубація в холодильнику протягом ночі;
- 3) центрифугування при 6000 г протягом 15 хв;
- 4) фільтрування через паперовий фільтр.

Встановлено, що отриманий екстракт сої звичайної містить достовірно більшу кількість білка, ніж отриманий із сої генно-модифікованої. Вміст ФГА значно коливається залежно від використаних еритроцитів.

На основі вищевикладеного зроблено такі висновки:

1. Розроблено простий метод отримання освітленого (прозорого) екстракту білків сої звичайної та генно-модифікованої. Екстракт придатний для кількісного визначення в ньому білків та ФГА.

2. У всіх досліджуваних зразках сої виявлено галактозоспецифічні ФГА, що зумовило аглютинацію ними еритроцитів барана та людини всіх груп крові за системою антигенів АВ0.

ВИЗНАЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ У ТРАВІ ЧИСТЕЦЮ ЗІБОЛЬДА (*STACHYS SIEBOLDII* MIQ.)

Stachis, або чистець (*Stachys sieboldii* Miq.), відносять до ботанічної родини губоцвіті (Lamiaceae). До роду Чистець належать понад 200 видів, серед яких – лікарські, медоносні та декоративні. Харчовим є тільки чистець Зібольда, який ще називають китайським артишоком. Його вирощують заради бульб, які за смаком схожі з артишоком чи спаржею. Бульбочки мають овально-видовжену форму, білий із кремовим відтінком колір. Їх споживають у свіжому і відвареному вигляді, обсмаженими чи тушкованими в олії. Стaxis застосовують у китайській і тибетській народній медицині при лікуванні туберкульозу, гіпертонії і як заспокійливий засіб. Біологічно активні речовини, які містяться в бульбах, позитивно впливають на вуглеводний і ліпідний обмін, знижують артеріальний тиск, вміст холестерину. Актуальним є дослідження біологічно активних речовин *Stachys sieboldii* Miq., які зумовлюють його фармакологічну активність.

Метою даної роботи було визначити якісний склад та кількісний вміст гідроксикоричних кислот у траві чистецю Зібольда.

Для виявлення гідроксикоричних кислот використовували реакцію з 1 % розчином ферум (III) хлориду. Спостерігали зелено-сіре забарвлення. Результати спостережень підтвердили наявність у траві чистецю Зібольда гідроксикоричних кислот. Кількісне визначення гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Lambda 25 за довжини хвилі 327 нм. Результати досліджень показали, що вміст гідроксикоричних кислот у траві чистецю Зібольда, вирощеного в Київській області, становив $(6,74 \pm 0,003) \%$, а у траві чистецю з Полтавської області – $(5,16 \pm 0,002) \%$.

Експериментально одержані дані вказують на перспективність використання трави чистецю Зібольда для одержання нових лікарських препаратів.

О. Л. Демидяк, М. І. Луканюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДОСЛІДЖЕННЯ ТАНІДІВ У КВІТКАХ ТА ЛИСТКАХ ХРИЗАНТЕМИ САДОВОЇ БАГАТОРІЧНОЇ СОРТУ АРГО

Таніди (дубильні речовини) проявляють дубильний та в'язучий ефекти. Комплекси танідів з біометалами і деякими макромолекулами зумовлюють їх антиоксидантну дію, а також властивість впливати на функцію ферментів.

Науковий інтерес становить хризантема садова багаторічна сорту Арго, квітки і листки якої використовують для лікування очних хвороб, малярії, алкоголізму, мігрені, шлункових захворювань, а корені – як проносний засіб.

З огляду на широкий спектр фармакологічних властивостей дубильних речовин та відсутність даної інформації про хризантему садову в доступних джерелах наукової літератури, метою цієї роботи було визначити кількісний вміст та якісний склад танідів у квітках та листках хризантеми садової сорту Арго. Даний сорт вирощено на дослідних ділянках ботанічного

саду “Червона калина” ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”.

Для аналізу дубильних речовин використовували метод ВЕРХ. Дослідження проводили на хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США). За результатами ВЕРХ-аналізу, в квітках хризантеми садової сорту Арго ідентифіковано: епігалокатехін, вміст якого становив 0,19 %, епікатехін – 0,08 %, катехін галат – 0,18 %, епікатехін галат – 0,58 %. У листках ідентифіковано: епігалокатехін, вміст якого складав 0,63 %, катехін – 0,21 %, епікатехін – 0,20 %, катехін галат – 2,16 % та епікатехін галат – 1,02 %

Дані експериментального дослідження вказують на перспективність використання у подальшому квіток та листків хризантеми низькорослої сорту Арго.

ВМІСТ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН У НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНАХ ПЕРВОЦВІТУ ВЕСНЯНОГО (*PRIMULA VERIS L.*).

Дубильні речовини – важливі біологічно активні речовини фенольного характеру, які проявляють в'язучу, протизапальну, знеболювальну, обволікальну, бактерицидну, кровоспинну та протипухлинну активність.

У доступних джерелах літератури недостатньо інформації про хімічний склад первоцвіту весняного, тому метою наших досліджень було вивчити вміст дубильних речовин у надземних і підземних органах рослини. Об'єктами досліджень були листки і квітки первоцвіту, які заготовляли у квітні–травні під час цвітіння рослини, кореневища з коренями – восени після відмирання надземної частини, на території Тернопільської області.

Якісний аналіз (реакція з розчином ферум (III) амоній сульфату) показав наявність у досліджуваній сировині первоцвіту весняного конденсованих дубильних речовин. Для розділення дубильних речовин на окремі компоненти використовували метод ВЕРХ. Дослідження проводили на хроматографі Agilent 1200 3 D

LC System Technologies (США). Рухомі фази: (А) 0,1 % трифлуороцтової кислоти, 5 % ацетонітрилу та (В) 0,1 % трифлуороцтової кислоти та ацетонітрилу. Складові дубильних речовин із досліджуваного об'єкта екстрагували на водяній бані зі зворотним холодильником 50 мл води очищеної Р протягом 30 хв. Екстракт охолоджували і фільтрували. Перед хроматографуванням одержані витяги фільтрували через фільтр одноразового використання з діаметром пор 0,45 мкм. Об'єм введеної проби – 5–20 мкл. УФ-спектри фрагментів дубильних речовин показали 2 максимуми поглинання – при 255 та 280 нм. За результатом ВЕРХ-аналізу, в листках первоцвіту весняного ідентифіковано такі складові дубильних речовин: галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, катехін галат та епікатехін галат; у квітках – катехін, епікатехін, катехін галат; у кореневищах з коренями – галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат і галову та елагову кислоти.

Л. І. Стойко, Т. Я. Ярошенко

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У ТРАВІ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО

Амінокислоти – високоактивні у фармакологічному відношенні органічні кислоти, які є структурними елементами всіх білків, ферментів та деяких гормонів і, звичайно, кінцевим продуктом ферментативного гідролізу білків. Розрізняють замінні амінокислоти та незамінні, які організмом людини не синтезуються і отримуються ззовні, з їжею (в тому числі рослинного походження).

Метою досліджень було вивчити амінокислотний склад трави золототисячника звичайного.

Якісний склад і кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот визначали методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 ("Agilent Technologies", США).

У результаті досліджень виявлено 16 вільних амінокислот (переважали глутамінова кислота (1,56 мкг/мг; 1,29 %), аргінін (1,16 мкг/мг;

0,96 %), аспарагінова кислота (0,92 мкг/мг; 0,76 %) та 17 зв'язаних амінокислот (переважали цистин (17,30 мкг/мг; 14,29 %), глутамінова (16,00 мкг/мг; 13,22 %) та аспарагінова (12,99 мкг/мг; 10,73 %) кислоти).

Відомо, що глутамінова кислота бере участь у біосинтезі ДНК та РНК, стимулює процеси окиснення, покращує білковий та вуглеводний обмін; цистин має сильні антиоксидантні властивості, проявляє антиканцерогенну дію; аргінін бере участь у біосинтезі білків, амінокислот, йому належить провідна роль у первинному накопиченні клітинної енергії. Тому вищенаведені дослідження є актуальними. Отримані результати підтверджують перспективність подальших досліджень біологічно активних речовин золототисячника звичайного та встановлення нових фармакологічних активностей.

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ЗБОРІ АНТИДІАБЕТИЧНОМУ

Цукровий діабет є глобальною медико-соціальною проблемою. Кількість хворих на земній кулі щороку зростає. Ступінь поширеності цього захворювання потребує подальшого пошуку додаткових методів традиційного і нетрадиційного лікування. Протягом багатьох років саме фітотерапія була єдиним методом підтримки хворих, тому й на сучасному етапі лікарська рослинна сировина може бути джерелом для отримання нових препаратів для боротьби з даною недугою. Фітотерапія здатна суттєво підтримати стандартний спосіб лікування на всіх стадіях захворювання. Саме з цієї причини важливе значення має дослідження збору антидіабетичного. Жирні кислоти відіграють важливу роль в енергетичному обміні клітин організму, підвищують еластичність і зменшують проникність кровоносних судин, стимулюють імунно-захисні функції організму, сприяють виведенню надлишку холестерину – все

це важливі фактори при лікуванні цукрового діабету.

Метою роботи було визначити вміст жирних кислот у зборі антидіабетичному. Якісний та кількісний аналіз жирнокислотного складу ліпофільної фракції проводили методом ГРХ після метилування жирних кислот. У результаті дослідження було виявлено, що збір антидіабетичний містить 17 жирних кислот, з них 11 насичених (44,24 %), 3 мононенасичених (44,56 %) та 3 поліненасичених (11,18 %). Серед мононенасичених жирних кислот найбільший вміст олеїнової (9,35 %) кислоти, серед поліненасичених – ліноленової (22,27 %) і лінолевої (20,97 %).

Таким чином, результати експерименту дають підставу вважати, що досліджуваний збір є багатим джерелом жирних кислот і тому може позитивно впливати на метаболічні процеси у хворих на цукровий діабет.

Р. Ю. Грицьк¹, С. М. Марчишин²

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹, ЧЕРНІВЦІ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО²

КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК У ТРАВІ КОТЯЧИХ ЛАПОК ДВОДОМНИХ (ANTENNARIA DIOICA (L.))

Котячі лапки дводомні (*Antennaria dioica* L., народна назва – білий безсмертник) – багаторічна трав'яниста рослина родини айстрових. Трава котячих лапок рекомендується народною медициною як ранозагоювальний, кровоспинний і жовчогінний засіб. За кровоспинною дією рослина перевершує адреналін і хлористий кальцій, а за жовчогінною – не поступається цминові пісковому. Також траву застосовують при хворобах горла, туберкульозі легень, як заспокійливий засіб, при гіпертонії, зовнішньо – при дитячих екземах, туберкульозі шкіри, пошкодженні із трави присипають рани.

Враховуючи те, що у науково-популярних джерелах дані про хімічний склад трави котячих лапок дводомних відсутні, метою наших досліджень було визначити кількісний вміст біологічно активних речовин у траві даної рослини.

Сировину заготовляли в період масового цвітіння на території Чернівецької області.

Дослідження проводили на спектрофотометрі Lambda 25 UV ("Perkin Elmer", США), суму флавоноїдів визначали при 410 нм, перерахунок вели на рутин; суму фенольних сполук – при 270 нм, перерахунок вели на галову кислоту; суму гідроксикоричних кислот – при 327 нм, перерахунок вели на хлорогенову кислоту. Результати досліджень показали, що вміст флавоноїдів становив $(0,92 \pm 0,0003)$ %, фенольних сполук – $(2,11 \pm 0,001)$ %, гідроксикоричних кислот – $(9,26 \pm 0,003)$ %.

Враховуючи високий вміст гідроксикоричних кислот у досліджуваній сировині, можна припустити наявність виражених протизапальних, антиоксидантних, гепатопротекторних та жовчогінних властивостей у даної рослини.

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У КОРЕНЕВИЩАХ І КОРЕНЯХ ДЯГЕЛЯ ЛІКАРСЬКОГО І ДУДНИКА ЛІСОВОГО

Поглиблене вивчення рослинного різноманіття території України є необхідним фактором для розвитку та вдосконалення фармакологічної бази сучасних медикаментів. Перспективними об'єктами для вивчення і встановлення можливих фармакологічних ефектів є представники роду Дягель (*Angelica L.*), зокрема дягель лікарський (*Angelica arhangelica L.*) та дудник лісовий (*Angelica silvestris L.*). Дягель лікарський у народній медицині знають як протизапальний, сечогінний, потогінний і заспокійливий засіб. Насіння дягеля використовують для ароматизації настоянок. Дудник лісовий застосовують у народній медицині як сечогінний і вітрогінний засіб.

Метою роботи було кількісне визначення вмісту фенольних сполук у підземних органах дягеля лікарського та дудника лісового. Кореневища та корені дягеля лікарського заготовляли після відмирання надземної частини на

Бережанщині Тернопільської області у 2013 році, дудника лісового – на території Гусятинського району Тернопільської області у 2012 році. Фенольні сполуки визначали на спектрофотометрі Lambda 25 UV (“Perkin Elmer”, США); суму фенольних сполук – у перерахунку на галову кислоту при 270 нм, гідроксикоричних кислот – у перерахунку на хлорогенову кислоту при 327 нм. Результати досліджень показали, що кількісний вміст фенольних сполук у кореневищах та коренях дягеля лікарського становить $(3,34 \pm 0,001) \%$, дудника лісового – $(4,92 \pm 0,01) \%$; вміст гідроксикоричних кислот у кореневищах та коренях дягеля лікарського – $(6,08 \pm 0,001) \%$, дудника лісового – $(4,49 \pm 0,004) \%$.

Таким чином, отримані нами результати досліджень вмісту фенольних сполук підтвердили перспективність подальших досліджень БАР даних видів та встановлення нових можливих фармакологічних активностей.

С. С. Козачок, С. М. Марчишин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ ОСТУДНИКА ГОЛОГО (*HERNIARIA GLABRA L.*)

Інфекції сечостатевої системи є найбільш поширеними серед бактеріальних інфекцій населення. *Escherichia coli* є основним патогеном, що зумовлює 80–90 % позалікарняних та 30–50 % лікарняних інфекційних захворювань сечовивідних шляхів. Учені з Вроцлавського медичного університету дослідили антибактерійну та бактеріостатичну дію водних екстрактів з *Betula pendula*, *Equisetum arvense*, *Herniaria glabra*, *Galium odoratum*, *Urtica dioica* та *Vaccinium vitisidaea* на *Escherichia coli* при урологічних інфекціях. Встановлено, що найвищу активність проявляли водні екстракти з *Herniaria glabra* та *Vaccinium vitisidaea*.

Оскільки остудник голий є неофіційною рослиною, хімічний склад його маловивчений, метою нашого дослідження було спектрофотометричним методом встановити вміст фенольних сполук у траві даної рослини. Сировину

заготовляли у період цвітіння рослини на території Тернопільської області. Дослідження проводили на спектрофотометрі Lambda 25 UV (“Perkin Elmer”, США). Сумарний вміст флавоноїдів визначали у перерахунку на рутин при довжині хвилі 410 нм, суми фенольних сполук – у перерахунку на галову кислоту при 270 нм, гідроксикоричних кислот – у перерахунку на хлорогенову кислоту при 327 нм.

За результатами проведених досліджень, встановлено вміст фенольних сполук остудника голого у перерахунку на його абсолютно суху сировину: флавоноїдів – $(2,40 \pm 0,002) \%$, фенольних сполук – $(2,33 \pm 0,001) \%$ та гідроксикоричних кислот – $(1,43 \pm 0,001) \%$.

Враховуючи те, що фенольні сполуки проявляють виражену протизапальну, сечогінну, протимікробну та противірусну активність, вважаємо наші дослідження актуальними.

ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ ДВОХ ПРЕПАРАТІВ КОЛОНІЄСТИМУЛЮВАЛЬНОГО ФАКТОРА НА МОДЕЛІ ЦИТОСТАТИЧНОЇ МІЕЛОДЕПРЕСІЇ У ЩУРІВ

Можливості патогенетичного лікування агресивної мієлодепресії, в тому числі на фоні проведення поліхіміо- та променевої терапії онкологічних хворих, значно розширились з появою принципово нових фармакологічних агентів – цитокінів, які ініціюють проліферацію та диференціювання гемопоетичних клітин-попередниць у кістковому мозку. З цією метою сьогодні найчастіше використовують рекомбінантний гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор (rГ-КСФ) – філграстим, пегфілграстим. Враховуючи високу вартість оригінальних брендів препаратів, актуальними є синтез та розробка їх менш вартісних біосимілярів – відтворених біологічно активних лікарських засобів, які повинні демонструвати порівнянність (високу подібність) з їх еталонними зареєстрованими препаратами-аналогами та мати високоподібну структуру, аналогічну якість, безпеку й ефективність.

Метою дослідження було вивчити порівняльну мієлопротекторну активність вітчизняного rГ-КСФ розробки ІЕПОР порівняно з еталонним офіційним препаратом філ-

грастимом Hoffmann-La RocheLtd на моделі цитостатичної мієлодепресії, викликаній однократним внутрішньовенним введенням алкілуючого цитостатика мелфалану (L-PAM) в дозі 4 мг/кг. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою (200±20) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Їх поділили на такі групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини, які отримували L-PAM; 3-тя – тварини, які, крім цитостатика, отримували rГ-КСФ розробки ІЕПОР; 4-та – нейпоген. Основні гематологічні показники вивчали на автоматичному гематологічному аналізаторі BC-3000Plus Mindray. Отримані нами результати показують, що L-PAM у дозі 4 мг/кг викликав виражене зниження кількості лейкоцитів на 75,6 %. Вміст лейкоцитів під впливом нейпогену зростав на 57,0, rГ-КСФ – на 53,9 %.

Таким чином, вітчизняна версія рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулювального фактора за своєю експериментально лікувальною мієлопротекторною дією не поступається офіційному препарату “Нейпоген” швейцарської фірми “Roche”.

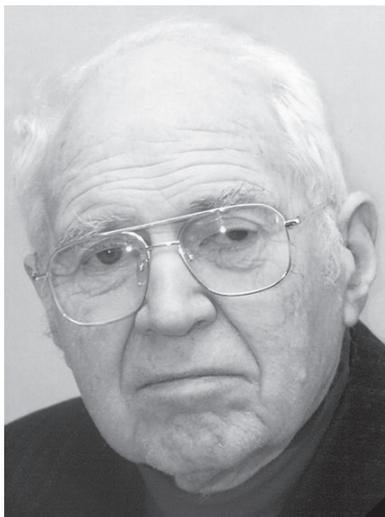
СВІТЛІЙ ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА ЮРІЯ ВОЛОДИМИРОВИЧА ХМЕЛЕВСЬКОГО

9 вересня 2014 р. після тяжкої тривалої хвороби пішов з життя відомий український біохімік – учений та педагог вищої медичної школи, доктор медичних наук, професор, лауреат премії імені О. В. Палладіна АН УРСР (1986 р.) Юрій Володимирович Хмелевський.

Ю. В. Хмелевський народився в м. Києві 8 квітня 1930 р. у родині відомого київського лікаря – професора Володимира Миколайовича Хмелевського. У 1952 р. закінчив Київський медичний інститут імені О. О. Богомольця (тепер – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця). Відтоді його науковий та педагогічний шлях був безперервно пов'язаний із цим славетним вищим медичним закладом нашої держави, в якому Ю. В. Хмелевський після закінчення аспірантури працював асистентом, доцентом, професором, з 1976 до 1997 р. – завідувачем кафедри біохімії, з 1985 до 1988 р. – деканом 2-го лікувального факультету, а з 1997 р. до кінця життя – професором створеної в той період кафедри біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії.

За своєю науковою біографією Ю. В. Хмелевський є учнем і послідовником учених із школи академіка О. В. Палладіна – відомих вітчизняних учених-вітамінологів професора С. Й. Винокурова та Є. Ф. Шамрая. У 1968 р. він захистив докторську дисертацію на тему “Обмін тіаміну та активність тіамінових ферментів при гіпоксичних станах”. Є автором понад 200 наукових праць, у тому числі 6 монографій, науково-практичних довідників та навчальних посібників для студентів вищих медичних навчальних закладів.

Головні наукові дослідження професора Ю. В. Хмелевського присвячені питанням патобіохімії обміну речовин за моделювання різноманітних гіпоксичних станів, біохімії коферментних вітамінів, зокрема тіаміну та піридоксину, а також вітаміну Е і коротколанцюгових токоферолів, при експериментальному ураженні мікарда та променевої хворобі. Значне місце в наукових дослідженнях Юрія Володимировича та очолюваної ним кафедри займали питання клінічної біохімії. Експериментальні та клініко-біохімічні дослідження, виконані професором Ю. В. Хмелевським і його учнями на кафедрі біохімії та в



керуваній ним проблемній науково-дослідній лабораторії “Вітамінологія”, дозволили впровадити в медичну практику науково обґрунтовані методи застосування вітамінних і коферментних препаратів для профілактики й лікування багатьох захворювань. Під науковим консультуванням та керівництвом Ю. В. Хмелевського було підготовлено та захищено 12 докторських і кандидатських дисертацій.

Основними науковими працями професора Ю. В. Хмелевського є: “Обмен витаминов при сердечно-сосудистых заболеваниях” (1975), “Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях” (1975), науково-практичний довідник “Основные биохимические константы человека в норме и при патологии” (1987).

Юрій Володимирович проводив значну науково-організаційну роботу як заступник голови вченої медичної ради МОЗ УРСР, голова Республіканської проблемної комісії МОЗ УРСР “Біологічна та медична хімія”, член Правління Українського біохімічного товариства, член редакційної колегії “Українського біохімічного журналу” та член спеціалізованої вченої ради із захисту докторських і кандидатських дисертацій при Інституті біохімії імені О. В. Палладіна НАН України.

Професор Ю. В. Хмелевський постійно працював над удосконаленням педагогічного процесу, викладання біохімії студентам вищих медичних навчальних закладів України. Розроблені працівниками очолюваної ним кафедри навчальні програми “Біологічна хімія”, “Біоорганічна хімія”, програма з елективного курсу “Клінічна біохімія” і відповідні методичні матеріали для студентів різних факультетів було широко впроваджено в педагогічний процес. Як висококваліфікований педагог та лектор, чуйна, доброзичлива і високоінтелегентна людина Юрій Володимирович Хмелевський користувався великою повагою серед студентів та викладачів Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, профільних кафедр України і широкого кола фахівців.

Колеги та учні професора Ю. В. Хмелевського щиро сумують з приводу важкої втрати і висловлюють глибоке співчуття його родині.

Голова Проблемної комісії МОЗ і НАМН України “Біологічна та медична хімія” член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор Ю. І. Губський, відповідальний секретар журналу “Медична хімія” доктор медичних наук, професор М. М. Корда

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ

1. Надсилати для друку статті, в яких публікуються результати оригінальних досліджень, якщо кількість авторів не перевищує трьох осіб. Якщо в дослідженні, яке висвітлюється, брало участь більше науковців, рекомендувати їм оформляти за отриманими результатами декілька статей з меншою кількістю авторів.

2. Стаття повинна мати відношення до установи з рекомендацією до друку та підписом керівника установи і експертний висновок про можливість відкритої публікації, які завірені печаткою. Під текстом статті обов'язкові підписи всіх авторів та наукового керівника роботи. Окремо необхідно вказати науковий ступінь і вчене звання кожного автора, а також прізвище, ім'я, по батькові, адресу (в тому числі електронну), телефон і факс автора, з яким можна вести листування і переговори.

3. Статтю треба друкувати на одному боці аркуша формату А4 (210×297 мм), 1800–2000 друківаних знаків на сторінці, українською мовою. Надсилати необхідно 2 примірники статті.

4. Обсяг оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, список літератури, резюме, не повинен перевищувати 8 сторінок, обсяг проблемної статті, огляду літератури, лекції – 12 сторінок, короткого повідомлення, рецензії – 5 сторінок.

5. Електронний варіант статті надсилати на оптичному диску (CD чи DVD). Таблиці, рисунки та інший ілюстративний матеріал подаються кожний окремим файлом. Формат файлів для тексту і таблиць – документ MS Word (doc, docx або rtf), для рисунків та іншого ілюстративного матеріалу – jpg, tif, bmp, gif, або pdf. Для формул бажано використовувати редактор формул Microsoft Equation.

6. Статті треба писати за такою схемою: УДК, ініціали і прізвища авторів, повна назва установи (великими літерами), назва роботи (великими літерами), резюме українською мовою, ключові слова українською мовою, вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки, список літератури, ініціали і прізвища авторів російською мовою, повна назва установи російською мовою (великими літерами), назва статті російською мовою (великими літерами), резюме російською мовою, ключові слова російською мовою, ініціали і прізвища авторів англійською мовою, повна назва установи англійською мовою (великими літерами), назва статті англійською мовою (великими літерами), резюме англійською мовою, ключові слова англійською мовою.

Текст статті (опис оригінальних та експериментальних досліджень) має бути побудований таким чином:

- постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
- аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор; виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття;
- формулювання цілей статті (постановка завдання);
- виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;
- висновки з даного дослідження і перспективи подальших досліджень у даному напрямку.

Кожен із цих розділів потрібно виділити.

7. Ілюстрації до статті (діаграми, графіки, фотографії) треба надсилати у двох примірниках. На звороті кожної ілюстрації необхідно вказати номер, прізвища авторів і відмітки "Верх", "Низ". У підписах до мікрофотографій вказувати збільшення і метод фарбування матеріалу. Фотографії повинні бути контрастними, рисунки – чіткими. Таблиці повинні мати короткі заголовки і власну нумерацію. Відтворення одного і того ж матеріалу у вигляді таблиць і рисунків не допускається.

8. Усі позначення мір (одиниці різних величин, цифрові дані клінічних і лабораторних досліджень) необхідно подавати відповідно до Міжнародної системи одиниць (СІ) згідно з вимогами групи стандартів ДСТУ 3651-97 "Одиниці фізичних величин". Назви фірм, реактивів і препаратів наводити в оригінальній транскрипції.

9. В описі експериментальних досліджень слід вказувати вид, стать, кількість тварин, методи анестезії при маніпуляціях, пов'язаних із завданням тваринам болю, метод умертвіння їх. Обов'язковою умовою є гуманне ставлення до тварин при проведенні експериментів.

10. У тексті статті при посиланні на публікацію слід зазначити її номер згідно зі списком літератури у квадратних дужках.

11. До статті необхідно додати список літератури, надрукований на окремому аркуші. Джерела друкувати за алфавітом.

Приклади бібліографічних посилань.

– посилання на книги:

1. Мосіященко В. А. Українська етнопедагогіка : навч. посіб. / В. А. Мосіященко. – Суми : Унів. кн., 2005. – 174 с.
2. Методика нормування ресурсів для виробництва продукції рослинництва / [Вітвіцький В. В., Кисляченко М. Ф., Лобастов І. В., Нечипорук А. А.]. – К. : НДІ "Укראгропромпродуктивність", 2006. – 106 с.
3. Механізація переробної галузі агропромислового комплексу / О. В. Гвоздев, Ф. Ю. Ялпачик, Ю. П. Рогач, М. М. Сердюк. – К. : Вища освіта, 2006. – 478 с.
4. Теоретичні основи державного земельного кадастру : навч. посіб. / [Ступень М. Г., Гулько Р. Й., Микула О. Я. та ін.] ; за заг. ред. М. Г. Ступеня. – Львів : Апріорі, 2003. – 341 с.

– посилання на статті:

1. Ма Шуїн. Проблеми психологічної підготовки в системі фізкультурної освіти / Ма Шуїн // Теорія та методика фізичного виховання. – 2007. – № 5. – С. 12–14.
2. Регіональні особливості смертності населення України / Л. А. Чепелевська, Р. О. Моїсеєнко, Г. І. Баторшина [та ін.] // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2007. – № 1. – С. 25–29.

– посилання на тези доповідей:

1. Бай Г. Вплив виробничої діяльності АТ "Галичфарм" на атмосферне повітря / Г. Бай // Студентська молодь і науковий прогрес в АПК : Міжнар. студент. наук. форум, 24–25 вер. 2008 р. : тези доп. – Львів, 2008. – С. 3.

– посилання на патенти, авторські свідоцтва:

1. Пат. 2187888 Російська Федерация, МПК' Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00. Приемопередающее устройство / Чугаева В. И. ; заявитель и патентообладатель Воронеж. науч.-исслед. ин-т связи. – № 2000131736/09 ; заявл. 18.12.00 ; опубл. 20.08.02, Бюл. № 23 (II ч.).
2. А. с. 1007970 СССР, МКИ^В В 25 J 15/00. Устройства для захвата неориентированных деталей типа валов / В. С. Ваулин, В. Г. Кемайкин (СССР). – № 3360585/25-08 ; заявл. 23.11.81 ; опубл. 30.03.83, Бюл. № 12.

– посилання на дисертації і автореферати дисертацій:

1. Петров П. П. Активність молодих зірок сонячної маси : дис. ... доктора фіз.-мат. наук : 01.03.02 / Петров Петро Петрович. – К., 2005. – 276 с.
2. Новосад І. Я. Технологічне забезпечення виготовлення секцій робочих органів гнучких гвинтових конвеєрів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук / І. Я. Новосад. – Тернопіль, 2007. – 20 с.

12. **Окремим електронним файлом (для розміщення на сайті журналу) потрібно надсилати розширене резюме англійською мовою об'ємом до 2 сторінок, яке повинно містити ті ж структурні елементи, що й стаття (вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки).**

13. Редакція виправляє термінологічні та стилістичні помилки, усуває зайві ілюстрації, при потребі скорочує текст.

14. Статті, оформлені без дотримання наведених правил, не реєструються. У першу чергу друкуються статті переддруків журналу, а також матеріали, що замовлені редакцією.

15. Автор несе повну відповідальність за достовірність даних, наведених у статті й списку літератури.

16. Публікація статей платна. Вартість – 72 грн за 2000 знаків без ПДВ. Оплата здійснюється після рецензування статті.

17. Статті треба надсилати на адресу: Журнал "Медицина хімія", видавництво ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України", майдан Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

**Головний редактор – Губський Ю. І.
Заступник головного редактора – Гонський Я. І.
Відповідальний секретар – Корда М. М.**

Андрейчин М. А.
Бухтіарова Т. А.
Верхратський Н. С.
Великий М. М.
Головенко М. Я.
Гула Н. М.
Ковальчук Л. Я.
Костерін С. О.
Курський М. Д.
Мардашко О. О.
Хмелевський Ю. В.
Черних В. П.

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

Ангельський С. (Гданськ, Польща)
Бурлакова О. Б. (Москва, Росія)
Волков К. С. (Тернопіль)
Виноградова Р. П. (Київ)
Гоженко А. І. (Одеса)
Грошовий Т. А. (Тернопіль)
Дубініна О. Ю. (Санкт-Петербург, Росія)
Ерстенюк Г. М. (Івано-Франківськ)
Каліман П. О. (Харків)
Калинський М. І. (Кент, США)
Кліщ І. М. (Тернопіль)
Коваленко В. М. (Київ)
Комаревцева І. О. (Луганськ)
Кульчицький О. К. (Київ)
Кусень С. Й. (Львів)
Луцюк М. Б. (Вінниця)
Марчизин С. М. (Тернопіль)
Мешишен І. Ф. (Чернівці)
Мисула І. Р. (Тернопіль)
Мхітарян Л. С. (Київ)
Саатов Т. С. (Ташкент, Узбекистан)
Снітинський В. В. (Львів)
Федоров Ю. І. (Москва, Росія)
Цуркан О. О. (Київ)
Штіпек С. (Прага, Чехія)

**Видавництво ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, УКРАЇНА
Тел.: (0352) 43-49-56, 52-80-09; Факс: (0352) 52-41-83**

Редагування і коректура
Технічний редактор
Комп'ютерна верстка
Художник

*Ситар Віта
Демчишин Світлана
Левченко Світлана
Кушик Павло*

Підписано до друку 01.09.2014. Формат 60×84/8. Гарнітура Pragmatica.
Друк офсетний. Ум. др. арк. 16,51. Обл.-вид. арк. 14,36. Тираж 600. Зам. № 205.

**Надруковано в друкарні
ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, УКРАЇНА**