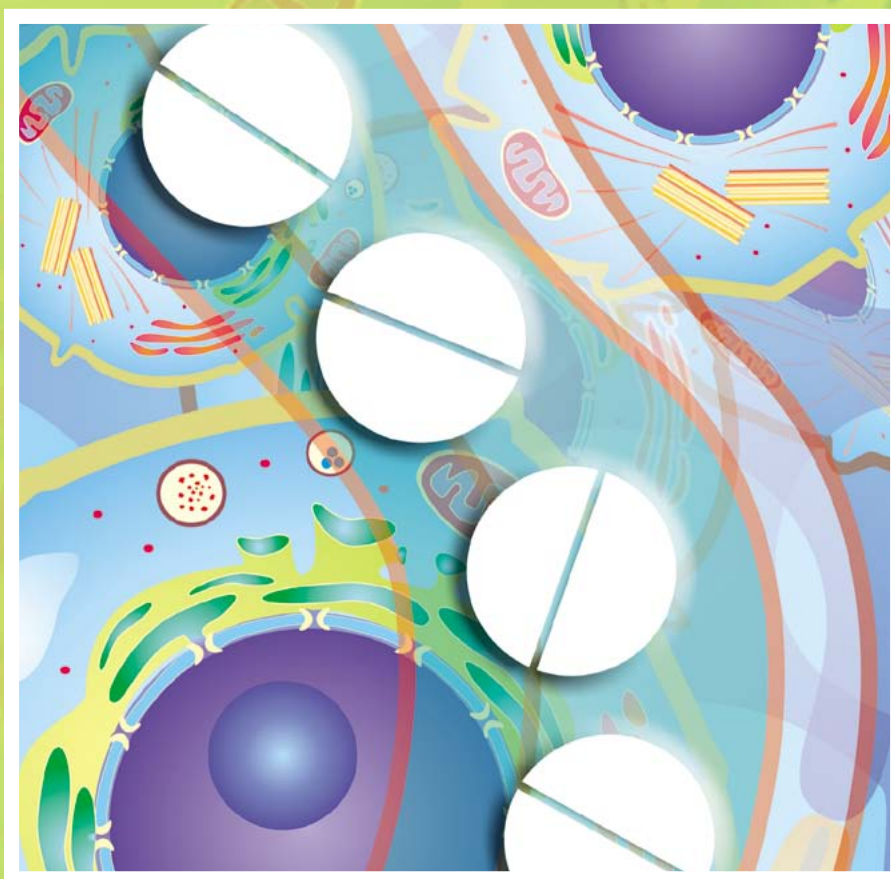


УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№4 (27)

2013



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**УКРАЇНСЬКИЙ
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
ЖУРНАЛ**

**УКРАИНСКИЙ
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

**UKRAINIAN
BIOPHARMACEUTICAL
JOURNAL**

Науковий журнал

№ 4 (27) 2013

Виходить 6 разів на рік

Заснований у лютому 2008 р.

УДК 615.015:615.3:615.31

Реєстрація у ВАК України
(протокол № 1-05/01 від 10.02.2010)

УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

ЗАСНОВНИК:
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Схвалено вченою радою НФаУ
(протокол від 30.08.2013 р, № 01)*

Головний редактор
Малоштан Л.М., д.б.н., професор

Редакційна колегія:

Бондар В.С., Березнякова А.І., Безуглий П.О., Вороніна Л.М., Галузінська Л.В. (*відповідальний секретар*), Гладченко О.М., Ковальов В.М., Гризодуб О.І., Гриценко І.С. (*науковий консультант*), Дедух Н.В., Деримедвідь Л.В., Дрогозов С.М., Загайко А.Л. (*заступник головного редактора*), Залюбовська О.І., Зупанець І.А., Кисличенко В.С., Кравченко В.М., Маслово Н.Ф., Риженко І.М., Таран Т.Г., Самура Б.А., Сахарова Т.С., Стрельніков Л.С., Філімонова Н.І., Черних В.П. (*головний науковий консультант*), Хворост О.П., Тихонов О.І., Тихонова С.О., Ярних Т.Г., Рубан О.А., Гладух Є.В., Яковлева Л.В.

Редакційна рада:

Гризодуб О.І., Гольцев А.М., Головенко М.Я. (Одеса), Германюк Т.А. (Вінниця), Дев'яткіна Т.О. (Полтава), Краснопольський Ю.М., Мамчур В.Й. (Дніпропетровськ), Петренко О.Ю., Сеннікова І.Г., Субота Н.П., Чайковський Ю.Б. (Київ), Чекман І.С. (Київ), Корольченко Л.В. (Москва), Сернов Л.М. (Москва)

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ №19397-9197 ПР від 21.09.2012 р.
Тираж 1500 пр. Зам. № 64

Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біологічної хімії»

© «НФаУ», 2013

© «Український біофармацевтичний журнал», 2013

Тези

Рецензенти рубрики:

Загайко А. Л.
д. біол. н., професор

Кононенко Н. М.
д. мед. н., професор

Штриголь С. Ю.
д. мед. н., професор

Дроговоз С. М.
д. мед. н., професор

Малоштан Л. М.
д. біол. н., професор

Філімонова Н. І.
д. мед. н., професор

Журавель І. О.
д. хім. н., професор

Набока О. І.
д. біол. н., професор

Кіресь І. В.
д. мед. н., професор

Тюпка Т. І.
д. мед. н., професор



ЗВ'ЯЗОК BSMI-ARAI-TAQI ГАПЛИТИПІВ ГЕНА VDR З ІНДЕКСОМ МАСИ ТІЛА У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ

О. В. АТАМАН, О. А. ОБУХОВА, В. В. БУДКО, В. Ю. ГАРБУЗОВА

Сумський державний університет

ВСТУП.

Сьогодні описано понад півтори тисячі ононуклеотидних поліморфізмів гена рецептора вітаміну D (VDR) у людини. Серед них BsmI і Arai, локалізовані у 8-му інтроні, і TaqI, що знаходиться у 9-му екзоні. Усі три SNP розташовані близько один від одного, неподалік від ділянки на 3'-кінці гена, яка не транскрибується і позначається як 3'-UTR (untranslated region). Близькість BsmI-Arai-TaqI-гаплотипів до 3'-UTR-ділянки VDR-гена може певним чином позначатися на регуляції його експресії, оскільки відомо, що від цієї ділянки залежить стабільність мРНК, а отже, і кількість синтезованого білкового продукту. Зважаючи на те, що вітамін D і VDR можуть бути причетними до механізмів кальцифікації артерій та тяжких ускладнень серцево-судинних недуг, ми поставили за мету з'ясувати зв'язок BsmI-Arai-TaqI-гаплотипів гена VDR з гострими порушеннями мозкового кровообігу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Для генотипування було використано венозну кров 170 хворих на ІАТІ і 124 відносно здорових осіб. ДНК виділяли, використовуючи набори «Изоген» (Росія). Визначення BsmI, Arai, TaqI поліморфізмів гена VDR проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції

(PCR) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виявленні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

РЕЗУЛЬТАТИ.

При порівнянні даних про частоту варіантів гаплотипів у осіб, що мають різне значення ІМТ, окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ одержані наступні результати. У контрольній групі з ІМТ<25кг/м² було виявлено 73,0% осіб, що мають гаплотип баТ, 8,1% — ВаТ, і 18,9% — бАТ, а серед осіб з ІМТ≥25кг/м² відповідно — 75,3%, 9,9%, 14,8%. Порівняння отриманих даних свідчить про відсутність статистично значимих відмінностей у розподілі варіантів гаплотипів BsmI-Arai-TaqI поліморфізмів між особами з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² у контрольній групі ($\chi^2=0,369$, $P=0,831$). Серед хворих з ІАТІ, що мають ІМТ<25кг/м², було 81,6% з гаплотипом баТ, 13,2% — ВаТ і 5,3% — бАТ, а серед осіб з ІМТ≥25кг/м² відповідно — 76,8%, 11,2% і 12,0%. Одержані результати свідчать про відсутність статистично значимих відмінностей серед пацієнтів з ІАТІ, що мають різне значення ІМТ ($\chi^2=1,449$, $P=0,484$).

ВИСНОВКИ.

Таким чином, і у хворих з ІАТІ, і у відносно здорових осіб варіанти гаплотипів гена VDR не впливали на ІМТ.

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ОКСАМОЇЛЬНИХ ПОХІДНИХ АМІНОЕТАНОВОЇ ТА АМІНОБУТАНОВОЇ КИСЛОТ

Н. І. БАННА, В. М. САВЧЕНКО

Національний фармацевтичний університет

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Багаторічні дослідження в галузі синтезу амідних і гідразидних похідних щавлевої кислоти показали перспективність пошуку біологічно активних речовин у цих рядах сполук.

З метою пошуку нових груп біологічно актив-

них речовин нами здійснено синтез та вивчено біологічну активність сполук, що об'єднують в своїй структурі такі активні фармакофори, як бензольне кільце, сульфамідний та оксамідний радикали, амінооцтову та амінобутанову

кислоти, які пов'язані з алкільними, арильними і гетерильними радикалами.

Було вивчено 10 груп синтезованих сполук (92 речовини).

Діуретичну, протизапальну, анальгетичну активність та гостру токсичність досліджували за стандартними методиками (Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації. / За ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.). Протисудомну активність вивчали за методикою Крушинського Л. В. (Крушинский Л. В. Формирование поведения животных в норме и патологии / Л. В. Крушинский. — М.: Изд-во МГУ. — 1960. — С.12-18).

Аналіз результатів вивчення діуретичної активності показав, що з усіх досліджених сполук виражену активність показали 13 речовин, які перевищують за дією еталонний препарат гіпотіазид. Найбільш активною виявилась 4-N-(тіазоліл-2-сульфамідо)-бензолуксамідоетанова кислота, яка через 2 години на 28% перевищує дію фуросеміду, однак через 4 години поступається останньому.

За протизапальною активністю заслуговують на увагу 5 речовин, дві з яких зменшу-

вали розвиток експериментального набряку практично на рівні препарату порівняння диклофенаку.

Анальгетичну активність на рівні препарату порівняння показали дві речовини, які зменшували больову чутливість на хімічний подразник на 49,9 та 50,1%.

Найбільша протисудомна активність, яка значно перевищує активність препарату порівняння ламотриджину, була виявлена у γ -(4-метоксикарбоніл-амінобензолсульфонілоксамідо)-бутанової кислоти, яка в дозі 50 мг/кг показала протисудомну активність через 1 годину — 46,2%; через 2 години — 75,7%; через 3 години — 76,3%; через 4 години — 68,4%.

Гостра токсичність досліджених сполук знаходиться в діапазоні 1200-3410 мг/кг.

ВИСНОВКИ

Синтезовано та вивчено нові перспективні групи хімічних сполук, серед яких виявлено речовини з вираженою діуретичною, протизапальною, анальгетичною, протисудомною активністю та низькою токсичністю.

WINE YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE FOR GRAPE POMACE FERMENTATION AND ETHANOL PRODUCTION FOR PHARMACEUTICAL INDUSTRY

V. N. BAYRAKTAR

Odessa Mechnikov National University

INTRODUCTION:

During harvesting season following grape must fermentation, there remains grape pomace in amounts between 15-25%, which is usually released on the lands as an organic fertilizer. Grape pomace is a very valuable raw material for wine ethanol production (spiritus vini). Grape pomace contains grape skins, grape seeds that contain polyphenols, anthocyanins, and natural antioxidants. We proposed, therefore, to use this valuable raw material for ethanol production. Although it is seasonal raw material, large amounts remain after grape processing. We proposed to dilute fresh grape pomace with water in a ratio of 1:1, and then to add 5% of sugar (sucrose) to this mixture for better fermentation. After thorough mixing, it is necessary to add pure yeast culture with a high level of ethanol production (12-15%). 10 days proceed the fermentation of grape pomace. Once fermentation is completed, it is necessary to distill and rec-

tificate the fermented mixture to remove other impurities such as methanol, and salts of heavy metals. As ethanol received from grape pomace will be purified and concentrated, it will be possible to use it for preparation of medicinal herbal spirituous extracts after dilution with distilled water in the necessary concentration.

MATERIALS AND METHODS:

As yeast strains with a high level of ethanol production, we used:

I. Laboratory yeast cultures isolated from fermented grape must of «Koblevo» Agricultural Company:

Yeast culture obtained from white grape varieties (Koblevo isolates):

*Y-3450; **MAFF-230112 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Rkatsiteli. The volume fraction of the ethanol production — 14,08% v/v; Y-3480; MAFF-230119; ***NRRL Y-63636 — *Saccharomyces cerevisiae*

isolated from grape must of the variety Chardonnay. The volume fraction of the ethanol production — 14,17% v/v; Y-3481; MAFF-230120; NRRL Y-63637 — *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Riesling Rhenish. The volume fraction of the ethanol production — 12,66% v/v;

Y-3484; MAFF-230123; NRRL Y-63640 — *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Riesling Rhenish. The volume fraction of the ethanol production — 12,11% v/v; Y-3491; MAFF-230130; NRRL Y-63645 — *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Muscat Ottonel. The volume fraction of the ethanol production — 12,42% v/v; Y-3488; MAFF-230127; NRRL Y-63643 — *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Irshai Oliver. The volume fraction of the ethanol production — 12,98% v/v;

Yeast culture obtained from red grape varieties (Koblevo isolates):

Y-3454; MAFF-230116 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Cabernet-Sauvignon. The volume fraction of the ethanol production — 15,45% v/v; Y-3453; MAFF-230115 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Merlot. The volume fraction of the ethanol production — 13,52% v/v;

Y-3451; MAFF-230113 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Odessa's Black. The volume fraction of the ethanol production — 12,06% v/v;

Y-3486; MAFF-230125; NRRL Y-63641 — *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Bastardo. The volume fraction of the ethanol production — 15,17% v/v;

II. Laboratory yeast cultures isolated from fermented grape must of Tairov's Research Institute:

Yeast culture obtained from white grape varieties (Tairov's isolates):

Y-3439; MAFF-230101 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Selena. The volume fraction of the ethanol production — 14,15% v/v;

Y-3440; MAFF-230102. *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Sukholimansky. The volume fraction of the ethanol production — 13,40% v/v;

Y-3441; MAFF-230103 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the

variety Opalovy (Opaline). The volume fraction of the ethanol production — 14,94% v/v; Y-3444; MAFF-230106 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Aromatic. The volume fraction of the ethanol production — 13,79% v/v;

Y-3445; MAFF-230107 *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Odessa's Muscat. The volume fraction of the ethanol production — 15,55% v/v;

Yeast culture obtained from red grape varieties (Tairov's isolates):

Y-3438; MAFF-230100. *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Charivny (Magic). The volume fraction of the ethanol production — 12,27% v/v; Y-3436; MAFF-230098. *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grape must of the variety Tairov's Ruby. The volume fraction of the ethanol production — 12,27% v/v.

Note: * University collection number;

** MAFF — Collection of Genbank in Japan;

***NRRL — Collection of National Regional Research Laboratory, ARS, USA.

RESULTS:

Grape pomace ethanol was obtained from different cultivars, which then passed stages of distillation, rectification, purification and concentration. Ethanol obtained from the grape pomace met the requirements of the Ukrainian State Standard System (DSTU) 4221-2003 — Rectified Ethanol. We used Ethanol to extract medicinal ingredients from medicinal herbs, such as: polyphenols, aetheric oils, glycosides, pentosans, organic acids and others. For the extraction of Eucalyptus leaves (*Eucalyptus globules* L.) we used an ethanol concentration of 65% v/v, dry residue in spirituous extract — 4,6%. For the extraction of Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) we used an ethanol concentration of 65% v/v, dry residue in spirituous extract — 3,0%. For Peppermint (*Menthae piperitae folia* L.) extract preparation we used an ethanol concentration of 82% v/v, Peppermint oil concentration should be not less than 5%. For Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extract preparation we used an ethanol concentration of 42% v/v, dry residue in spirituous extract — 0,5%. For Calendula (*Calendula officinalis* L.) extract preparation we used an ethanol concentration of 64% v/v, dry residue in spirituous extract — 3,2%. A comparative assessment of medicinal herbal extracts of wine ethanol (*spiritus vini*), using a control sample of ethanol «Pharmasept», showed that there is no significant difference for preparation of medicinal herbal spirituous extracts between standard ethanol obtained from potato and grain, in comparison with ethanol produced from grape pomace. It is after grape processing, however, that grape pomace, is most promising for the biotechnology of wine ethanol production. Despite this grape pomace is only a

seasonal product, which is usually thrown in wineries following processing. It is, however, a natural and valuable product for wine ethanol production for both medical and pharmaceutical use.

CONCLUSIONS:

1. Yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* with a high level of ethanol production should be used in the biotechnology of grape pomace ethanol production.

2. During fermentation of grape pomace, it is necessary to add diammonium phosphate supplement on the third day to support yeast with a nitrogen.

3. During fermentation of grape pomace, it is necessary to add an aminoacid supplement on the

fifth day of fermentation to support the amino acid balance consumption.

4. Medicinal herbal spirituous extracts during production require different concentrations of ethanol from 41% v/v up to 83% v/v, and it is necessary to take this into account.

5. Grape pomace showed that it is great seasonal product of wineries for ethanol production from wastes. It is, though, a seasonal product which should be used fresh for ethanol production. Large amounts of this product could, however, be used in those regions of Ukraine where there is grape plantation in vineyards. These Ukrainian regions include: Odessa, Crimea, Nikolaev, Cherson and Transcarpathia region (Uzhgorod).

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТА В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ОВУЛЯЦІЇ І ІМПЛАНТАЦІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ

Т. В. Блашків, Р. І. Ячний

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Незважаючи на зростаючу кількість за останні роки експериментального та клінічного матеріалу стосовно NO, його роль в регуляції репродуктивної функції залишається точно не виявленою. Відомо, що у пацієнтів з циркулюючими антиоваріальними антитілами ймовірна їх причетність до зменшення кількості і погіршення якості ооцитів в яєчнику, що може створювати проблеми при заплідненні аж до безпліддя, а також зумовлювати порушення скоротливої активності міометрію, призводити до ускладнення імплантації та не результативних циклів при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій. Оскільки вплив антитіл на жіночу репродуктивну систему вивчений недостатньо, а кількість жінок з передчасною недостатністю яєчників, що охоплює гетерогенний спектр станів з фенотипічною мінливістю серед пацієнтів, в усьому світі збільшується, тому актуальними стають дослідження на експериментальних моделях з використанням тваринних і специфічних гетерогенних імуноглобулінів, спрямовані на встановлення можливих механізмів розвитку безплідності імунного походження.

З використанням морфологічних, молекулярно-генетичних, електро-фізіологічних методів досліджена роль оксиду азоту в забезпеченні овуляції і імплантації за умов експериментального (імунного) ушкодження яєчників.

Дослідження проведені на невагітних (8 тижнів, 16-18 г.) та вагітних самках мишей лінії

СВА з дотриманням усіх вимог щодо роботи з лабораторними тваринами.

Отримані дані про те, що NO задіяний в регуляції оваріальної функції: наявність NO є необхідною умовою для здійснення мейотичного дозрівання ооцитів, тоді як надлишок NO може бути фактором пригнічення мейозу вже на стадії його відновлення. Роль iNOS зростає з розвитком фолікула й ооцита. NO регулює — скоротливість міометрію, мейотичне дозрівання ооцитів, апоптотичну загибель клітин кумулюсного оточення ооцитів — змінюючи функціональний стан їх (міометрію, ооцитів, фолікулярних клітин) мітохондрій і забезпечує овуляцію та імплантацію у ссавців.

Оксид азоту приймає участь в регуляції репродуктивної функції (в забезпеченні овуляції та імплантації), за умов експериментального імунного ураження яєчника (введенням гама-глобулінової фракції антиоваріальної цитотоксичної сироватки) відбувається наступне: NO/NOS система яєчників бере участь в механізмах дії антиоваріальних антитіл на ооцити і клітини їх кумулюсного оточення; за умов експериментального імунного ураження яєчника (введенням гомогенату алогенного яєчника) оксид азоту, регулюючи функціонування мітохондрій, може бути залученим у відновленні мейотичного дозрівання ооцитами, в індукцію апоптозу клітин кумулюсного їх оточення, а також у зміні скоротливої активності міометрію (протягом імплантації).

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ НА ГЕНОМ КЛІТИН КУМУЛЮСНОГО ОТОЧЕННЯ ООЦИТІВ У МИШЕЙ

Т. Ю. ВОЗНЕСЕНСЬКА, Т. М. БРИЗГНА, В. С. СУХІНА, К. Г. МАКСИМЧУК, Т. В. БЛАШКІВ

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Безплідність — одна з важливих проблем у пацієнтів з аутоімунним тиреоїдитом (АІТ). Нині актуальними є дослідження, спрямовані на з'ясування механізмів розвитку безплідності аутоімунного походження на експериментальних моделях з використанням тварин. Метою наших досліджень було: відтворити адекватну модель АІТ у мишей, що відповідала б окремим характерним рисам аутоімунних процесів у жінок. Оцінити вплив експериментального аутоімунного тиреоїдиту на мейотичне дозрівання ооцитів та життєздатність кумулюсних клітин мишей. За допомогою методу ДНК-комет («DNA-comet assay») оцінити вплив АІТ на геном клітин кумулюсного оточення ооцитів.

Встановлено, що в умовах експериментального АІТ відбувається uszkodження оваріальної функції у тварин. Виявлено зменшення кількості фолікулів (великих фолікулів з яйцеклітиною з вираженою прозорою оболонкою та оточеною багатьма шарами фолікулярних клітин) ($p < 0,01$), що були виділені з яєчника. Відмічено збільшення ($p < 0,01$) у порівнянні з контролем кількості ооцитів з атипичною морфологією (нерівномірно гранульованою цитоплазмою, ознаками фрагментації цитоплазми). В фолікулах мишей з АІТ спостерігалася також деградація фолікулярних клітин. У тварин при культивуванні зменшувався ($p < 0,01$) відсоток

клітин, що розчиняли зародковий пухирець (метафаза I) та здатних до формування першого полярного тільця (метафаза II). Показано, що пригнічення функції яєчників супроводжувалося змінами життєздатності та загибеллю кумулюсних клітин. АІТ спричиняє зменшення ($p < 0,01$) кількості живих кумулюсних клітин та збільшення ($p < 0,01$) апоптозу цих клітин в порівнянні з контролем.

Встановлено, що експериментальний аутоімунний тиреоїдит спричиняє загибель ~17% кумулюсних клітин, кількість клітин із пошкодженою ДНК становить 46,2%, більшість комет кумулюсних клітин із двонитковими розривами ДНК віднесено до 3 класу.

Таким чином, АІТ призводить до uszkodження яєчників у тварин (порушення мейотичного дозрівання ооцитів, спричиняє значне зменшення кількості живих кумулюсних клітин та суттєве збільшення їх апоптозу в порівнянні з контролем). Оцінка інтегральної цілісності генома, співвідношення матеріалу ДНК у «голові» і «хвості» комети, як показника функціонування геному клітин кумулюсного оточення ооцитів, дає підстави стверджувати, що імунне uszkodження яєчників може змінювати як активність експресії генів, так і процеси їх пошкодження і репарації, що відображається як двохнитковий розрив ДНК.

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕАКЦІЙ ОРГАНІЗМУ СТУДЕНТІВ ГРОМАДЯН КИТАЮ ПРИ ПОРУШЕННЯХ ПРОЦЕСУ АДАПТАЦІЇ

Е. О. ГЛАЗКОВ

ДЗ «Луганський національний університет імені Тараса Шевченка»

Процес адаптації є інтеграцією впливів різноманітних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища. При оцінці адаптаційних можливостей організму особливе значення надається визначенню функціонального стану серцево-судинної системи, яка є маркером адаптаційних процесів і перша сигналізує про стани напруги і патології.

В дослідженні використовували дані, які були отримані за результатами обстежень 120 підлітків. Основна група сформована з іноземних студентів громадян Китаю, а контрольна зі студентів України. Оцінку адаптаційних можливостей серцево-судинної системи у студентів оцінювали за величиною адаптаційного потен-

ціалу (АПБ), розрахованого за допомогою традиційної методики Баєвського Р.М.

За результатами дослідження показник АПБ в основній групі становив $2,13 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) і був достовірно вищим аналогічного показника контрольної групи у 1,1 рази. За шкалою оцінки виявлена задовільна адаптація в 38% обстежуваних основної групи (23 особи) проти 73% обстежуваних контрольної групи (44 особи). Напруження механізмів адаптації спостерігалось в 62% обстежуваних групи іноземних студентів (37 осіб) проти 27% випадків у контрольній групі (16 осіб).

Таким чином, встановлено що проблему процесу адаптації відчувають 62% всіх першоккурсників і лише 38% іноземних студентів мають високі та нормальні показники адаптації. Результати дослідження вказують на те, що в процесі навчання між показниками, які характеризують функціональний стан серцево-судинної системи іноземних студентів відбуваються певні зміни, що пов'язані з навчальним навантаженням та неадекватною адаптаційною реакцією організму на зміни навколишнього середовища.

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ ВПЛИВУ АМІНОГУАНІДИНУ НА РОЗВИТОК СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

М. Р. ХАРА¹, Н. А. ГОЛОВАЧ²

¹*Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка,*
²*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського»*

Цукровий діабет є найпоширенішою ендокринопатією. До найхарактерніших проявів його належать міокардіопатії та нейропатії, в основі патогенезу яких є порушення функціонування системи оксиду азоту. Вивчення різної активності NO при цукровому діабеті, враховуючи гендерні аспекти, дозволить вплинути на стратегію та тактику лікування пацієнтів. Метою дослідження було встановити вплив блокатора синтезу NO на метаболізм міокарда при експериментальному цукровому діабеті залежно від статі. Досліди провели на статевозрілих самцях і самках щурів зі стрептозотоциновим діабетом, який розвивався на тлі щоденного введення аміногуанідину. Встановили, що прогресування ЦД (щурів спостерігали через 1, 2 та 3 місяці після введення стрептозотоцину) викликало нагромадження в міокарді шлуночків продуктів ПОЛ, пригнічення активності АОС, нагромадження піровиноградної кислоти (ПВК), а в крові — глікозильованого гемоглобіну (HbA1C), сечовини та NO-2. Введення

впродовж всього експерименту аміногуанідину демонструвало негативні тенденції до змін усіх досліджуваних показників. Це підтверджувалося більшими значеннями в міокарді вмісту продуктів ПОЛ та ПВК, нижчою активністю ферментів АОС. За таких умов концентрація в крові HbA1C, сечовини та NO-2 була достовірною вищою, ніж у контрольній групі тварин. Ступінь метаболічних порушень в міокарді шлуночків самців був суттєвішим, ніж в самок, як без, так і за застосування аміногуанідину, що свідчить про менш інтенсивні порушення системи NO в організмі самок.

ВИСНОВОК.

Встановлені дані вказують на статеві відмінності патогенетичної участі системи оксиду азоту в розвитку діабетичної кардіоміопатії, що може стати підґрунтям для диференційованого за статтю підходу до трактування результатів наукових досліджень та іншого методичного підходу до формування принципів діагностики та лікування хронічної гіперглікемії.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ГЛУТАТІОНТРАНСФЕРАЗИ МІОКАРДА ЩУРІВ ПРИ СТРЕСІ

Є. Р. ГРАБОВЕЦЬКА

Харківський національний медичний університет

ВСТУП.

У процесі індивідуального розвитку змінюється чутливість серця до стресу. Дані літератури свідчать про те, що основою даного феномена є зміна функціонування ферментних систем, що забезпечують захист міокарда від впливу цитотоксичних карбонільних продуктів обміну, утворення яких підсилюється під дією шкідливих факторів стресу. Основним шляхом катаболізму карбонільних продуктів обміну в клітинах є їх кон'югація з глутатионом у глутатіонтрансферазній реакції. Однак дослідженню властивостей глутатіон-S-трансферази в міокарді в процесі онтогенезу за умов стресу до теперішнього часу не приділялося належної уваги. Враховуючи це, було проведено порівняльне вивчення особливостей зміни активності ферменту глутатіонтрансферази постмітохондріальної фракції серця щурів різних вікових груп під впливом різних факторів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Дослідження виконано на щурах самцях лінії Вістар трьох вікових груп: I — 1,5-місячні (ранній пубертатний період), II — 2-місячні (пізній пубертатний період), III — 12-місячні (дорослі статевозрілі). З гомогенатів серця тварин за допомогою методу диференціального центрифугування виділяли постмітохондріальну фракцію, в якій спектрофотометрично визначали сумарну глутатіонтрансферазну активність по реакції з динітрохлорбензолом. У роботі оцінювали вплив на глутатіонтрансферазну активність різних факторів, що

виникають у міокарді за умов стресорного впливу на організм — підвищення концентрації карбонільних продуктів обміну (альдегідів), зниження вмісту відновленого глутатіону та ацидозу.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Дослідження показали, що глутатіонтрансферазна активність постмітохондріальної фракції міокарда з віком поступово підвищується. При зниженні рН середовища інкубації, а також при зменшенні в ній концентрації відновленого глутатіону та внесенні до неї глутарового альдегіду, відбувається виражене зниження глутатіонтрансферазної активності міокарда. Максимальна інгібуюча дія на фермент спостерігається при внесенні в реакційну суміш глутарового альдегіду. Прояв інгібуючого ефекту має залежний від віку характер. У 2-місячних щурів він значно більш виражений, ніж у тварин інших вікових груп. Фермент з міокарда 1,5- і 12-місячних щурів є більш стійким до дії зазначених факторів у порівнянні з 2-місячними.

ВИСНОВКИ.

Отримані дані вказують на те, що в пізньому пубертатному віці збільшується чутливість глутатіонтрансферази постмітохондріальної фракції міокарда до факторів стресу. Таким чином, у цьому віці в серці виникають умови для зниження швидкості утилізації цитотоксичних карбонільних продуктів обміну шляхом їх кон'югації з глутатионом і створюються передумови для зростання чутливості серця до шкідливої дії факторів стресу.

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНА ОЦІНКА НОВОЇ СТОМАТОЛОГІЧНОЇ НАСТОЙКИ У ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ

Л. І. ШУЛЬГА, Л. В. ЯКОВЛЄВА, С. А. ГРАЩЕНКОВА, І. В. СТЕФАНІВ

Національний фармацевтичний університет,

Недостатність ефективних лікарських засобів для лікування захворювань ротової порож-

нини залишаються сучасною проблемою сучасної стоматології. Для вирішення цієї проблеми

постійно проводиться пошук нових біологічно активних засобів, які виявляють багатофункціональну дію. Застосування таких засобів дозволить підвищити ефективність та якість проведення лікувальних заходів. Об'єктом дослідження була нова композиція лікарських рослин, яка розроблена співробітниками ПКСФ НФаУ. У попередніх дослідженнях була виявлена виразна протизапальна дія на моделі гінгівіту у щурів. При розробці нових засобів невід'ємною частиною є вивчення їх безпечності, що включає виявлення можливого токсичного впливу на внутрішні органи та системи тварин, спричинених повторним застосуванням, та визначення залежності цих змін від доз.

Метою даного фрагменту роботи стало вивчення нешкідливості нової композиції щодо функції нирок щурів обох статей.

В досліді були використані щури самці та самиці масою 180-220 г. Тварин розділили на три групи по 16 у кожній (8 самців, 8 самиць): перша — інтактний контроль (ІК), друга — стоматологічна настойка у розведенні 1:1, третя — стоматологічна настойка у розведенні 1:3. Стоматологічну настойку розводили дистильованою водою, тваринам вводили орально у об'ємі 2 мл/тварину. Оцінку функціональної активності нирок вивчали в сечі через 28 діб після застосу-

вання лікарського засобу за показниками, які характеризують стан солевих (хлориди) та азотвидільної функції нирок (рівень сечовини, креатиніну), користуючись діагностичними наборами фірми «Лажема» (Чехія) та «Філісіт» (Україна). Сечу у тварин збирали під 2,5% водним навантаженням за 3 години.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica».

Як показали результати проведеного дослідження, 28 діб щоденного орального застосування стоматологічної настойки не викликало у щурів суттєвих змін з боку видільної функції нирок. Всі вивчені біохімічні показники в сечі знаходилися в межах значень групи ІК (хлориди — 9–28 ммоль/л, сечовина 62-120 ммоль/л, креатинін — 1,37–3,7 ммоль/л). Достовірних розбіжностей ні у самців, ні у самиць не зафіксовано.

Отже, можна зробити висновок, що тривале застосування стоматологічного засобу при розведенні 1:3 та 1:1 не впливають на азотвидільну функцію нирок тварин. Між групами, які отримували настойку у розведеннях статистичних відмінностей не виявлено, що свідчить про нешкідливість ЛЗ по відношенню до функціонального стану нирок.

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ІНГІБІТОРІВ ПОЛІ(ADP-РИБОЗО)ПОЛІМЕРАЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

М. М. Гузик, К. О. Дякун, Л. В. Янцька, Т. М. Кучмеровська

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

Цукровий діабет називають «епідемією XXI століття», моральний та соціальний тягар якого обумовлений, передусім, розвитком ускладнень (мікро- та макроангіопатій, нефропатій, ретинопатій, нейропатій тощо), які істотно знижують тривалість та якість життя хворих. Інтенсифікація окислювального стресу при діабеті 1 і 2 типів спричинює модифікацію протеїнів, активацію сигнальних шляхів, активацію запальних процесів, що сприяє розвитку загибелі клітин у багатьох тканинах живих організмів.

Досліджено вплив специфічних інгібіторів полі(ADP-рибозо)полімерази-1 (PARP-1), зокрема нікотинаміду та 1,5-ізохіноліндіолу на лейкоцити крові щурів за цукрового діабету (цД) із використанням флуоресцентного зонда 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетату оцінено продукування активних форм кисню в лейкоцитах.

Встановлено, що розвиток цД, індукованого стрептозотоцином, супроводжується інтенсифікацією окислювального стресу та значним зниженням життєздатності лейкоцитів порівняно

з контрольною групою тварин. Введення інгібіторів PARP-1 запобігало розвитку окислювального стресу в лейкоцитах та підвищувало їх життєздатність.

Виявлено зниження активності супероксиддисмутази в сироватці крові за цД. Досліджувані

інгібітори PARP-1 не впливали на активність супероксиддисмутази та на рівень глюкози в крові.

Одержані дані свідчать про інтенсифікацію окислювального стресу в лейкоцитах тварин з цД і здатність нікотинаміду та 1,5-ізохіноліндіолу запобігати його розвитку.

СТАН ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

Н. В. ДАВИДОВА, Н. П. ГРИГОР'ЄВА, І. М. ЯРЕМІЙ

Буковинський державний медичний університет

ВСТУП.

Одним з провідних факторів у формуванні основних метаболічних порушень за умов алкогольної інтоксикації є розвиток окиснювального стресу. Однією з основних ланок захисту клітин від згубної дії вільних радикалів є глутатіонова система, виснаження якої може призводити до серйозних цитотоксичних та деструктивних змін.

Метою роботи було встановити можливість використання мелатоніну, гормону пінеальної залози, для корекції стану показників глутатіонової системи печінки щурів за умов підгострої алкогольної інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Досліди проводили на білих щурах-самцях масою 180-230 г, яких утримували за стандартних умов віварію. Тварин розподілено на групи: 1 група — контроль (інтактні тварини); 2 група — тварини, яким викликали підгостру алкогольну інтоксикацію шляхом внутрішньошлункового введення 40% етанолу в дозі 7 мл/кг маси впродовж 7 діб; 3 група — тварини, яким впродовж моделювання алкогольної інтоксикації внутрішньошлунково вводили препарат «Віта мелатонін» (Київський вітамінний завод) в дозі 5 мг/кг маси. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом. У супернатантах 5% гомогенатів печінки щурів визначали вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансфери.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Встановлено, що підгостра алкогольна інтоксикація супроводжувалась зниженням вмісту відновленого глутатіону в печінці щурів на 38% відносно рівня контролю. Активність глутатіонпероксидази, яка знешкоджує органічні гідропероксидази, виявилась нижчою рівня контролю на 44%, що, імовірно пов'язано із активацією пер оксидного окиснення ліпідів в мембранних структурах клітин печінки. Отруєння етанолом призвело до зростання активності глутатіон-S-трансфери на 29% вище рівня контролю, що, імовірно, є наслідком посиленого знешкодження вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів та інших окиснених речовин за рахунок їх кон'югації з глутатіоном.

Мелатонін — один з найпотужніших ендогенних антиоксидантів, ефективність якого доведена для багатьох вільнорадикальних патологій. Нами встановлено, що введення препарату «Віта-мелатонін» в дозі 5 мг/кг впродовж 7 діб поряд із алкогольною інтоксикацією запобігало вірогідній зміні вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіон пероксидази, тоді як активність глутатіон-S-трансфери залишалась на 15% вище рівня контролю.

ВИСНОВОК.

За умов підгострої алкогольної інтоксикації мелатонін запобігає змінам показників глутатіонової системи, що свідчить про його потужні антиоксидантні властивості.

ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В СИСТЕМІ УПРАВЛІННЯ ДАНИМИ ПРИ КЛІНІЧНИХ ВИПРОБУВАННЯХ

К. Л. РАТУШНА, Н. С. МАЗУР, К. О. ЗУПАНЕЦЬ, В. Є. ДОВРОВА

Національний фармацевтичний університет

ВСТУП.

Біохімічний аналіз є однією з ключових ланок постановки діагностування стану пацієнта та широко використовується для оцінки ефективності та безпеки нового лікарського засобу (ЛЗ) при проведенні клінічного випробування (КВ). Так, у процесі збору даних дослідником вимірюються та фіксуються значення визначених на етапі планування біохімічних маркерів, які є відгуками організму пацієнта/добровольця на дію досліджуваного ЛЗ, та після завершення КВ включаються у склад блоку лабораторних даних до біостатистичного аналізу. З огляду на це, якість проведення біохімічного дослідження має важливе значення для правильної інтерпретації результатів КВ.

Метою дослідження було визначення ключових аспектів забезпечення якості біохімічних досліджень як складового елемента масиву лабораторних даних у системі управління даними при КВ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Під час дослідження використовувались методи логічного та системно-структурного аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Проведений аналіз літературних джерел дозволив встановити, що основними аспектами якості біохімічного дослідження є прецизійність, яка полягає у відтворюваності та збіж-

ності результатів аналізу, та правильність і точність. Особливу увагу необхідно звернути на належну організацію на місці проведення випробування системи контролю якості лабораторних досліджень, яка повинна включати процедури із виявлення та оцінки похибок біохімічних досліджень, що включають систематичні та випадкові похибки. Також важливо розробити та впровадити методологію оцінки невизначеності вимірювань при виконанні біохімічного аналізу, за допомогою якою стає можливим урахування впливу зовнішніх та внутрішніх факторів, на точність результатів проведеного аналізу. Усі ці аспекти забезпечення якості результатів біохімічних досліджень мають бути належним чином задокументовані у стандартних операційних процедурах та відображені у програмах навчання персоналу, що є важливою складовою системи управління якістю КВ.

ВИСНОВКИ.

У відповідності до сучасних вимог та стандартів з управління якістю визначено роль і місце біохімічних досліджень у процесі управління клінічними даними у КВ. Розпочато роботу з розробки процесної моделі забезпечення якості гематологічних досліджень та впровадження її на базі лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру Національного фармацевтичного університету.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТАБЛЕТОК ИЗ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ НА МОДЕЛИ ФОРМАЛИНОВОГО ВОСПАЛЕНИЯ

АНАС ФАТТАЛ, Н. В. ДЕРКАЧ, Л. Н. МАЛОШТАН

Национальный фармацевтический университет

Актуальной проблемой современной медицины и фармации является разработка эффективных противовоспалительных средств на основе растительного сырья. Ранее нами была

изучена фармакологическая активность сухого экстракта из коры осины и обоснована целесообразность создания лекарственной формы, тем более что на мировом фармацевтическом рынке

существует более 40 препаратов разных лекарственных форм из осины, на фармацевтическом рынке Украины препаратов из осины нет. Химический состав экстракта из коры осины определен под руководством профессора Ковалева В. Н. (НФаУ), лекарственная форма — таблетки создана в Тернопольском государственном медицинском университете им. И. Я. Горбачевского под руководством доктора фармацевтических наук, заведующего кафедрой управления и экономики фармации, профессора Грошова Т. А.

Целью исследования стало определение специфической противовоспалительной активности таблеток из экстракта коры осины (ТЭКО) на экспериментальной модели формалинового воспаления у крыс в сравнении с альтаном и диклофенаком натрия.

Острый воспалительный отек моделировали субплантарным введением в заднюю лапу крыс 0.1 мл 2% раствора формалина, который вызывает деструкцию мембранных белков. Опыты выполняли на 4 группах крыс по 5 животных в каждой: 1-я группа — нелеченные животные; 2-я — леченные ТЭКО в дозе 50 мг/кг; 3-я — леченная препаратом сравнения диклофенаком натрием 8 мг/кг; 4-я группа получала альтан.

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ФЕРМЕНТУРІЇ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТУ «ФЛАРОСУКЦИН» ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ОКСОНАТ-ІНДУКОВАНОЇ ГІПЕРУРИКЕМІЇ

І. А. ЗУПАНЕЦЬ, Т. І. ЄРМОЛЕНКО, І. А. ОТРИШКО

Національний фармацевтичний університет

ВСТУП.

Новою оригінальною розробкою вітчизняних науковців в напрямку вирішення проблеми покращення якості життя хворих на СКХ є препарат «Фларосукцин» у формі сиропу, склад якого забезпечує уролітітичну, нефропротекторну, спазмолітичну, діуретичну дію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Для моделювання сечокислої нефропатії щурів розподілили на 5 дослідних груп по 9 тварин у кожній: 1 група — інтактний контроль; 2 група — контрольна патологія; 3 група — тварини, що отримували «Фларосукцин» (2,0 мл/кг); 4 група — «Фітолізин» (1,3 г/кг); 5 група — «Алопуринол» (10,0 мг/кг). Досліджувані пре-

исследуемые препараты вводили за час до введения воспалительного агента. Через 3 часа после введения формалина онкометрически определяли величину отека и процент ингибиции отека.

Результаты эксперимента показали, что введение изучаемых препаратов достоверно уменьшало воспаление. Наиболее эффективным было профилактическое применение препарата ТЭКО: процент ингибиции очага воспаления составил 59%.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что выраженным противовоспалительным действием на модели формалинового отека проявляют препараты ТЭКО и альтан в дозе 50 мг/кг. Их эффект не уступает эффекту диклофенака натрия, но препарат ТЭКО превышает активность растительного препарата сравнения альтан.

Такое действие изучаемого препарата ТЭКО может быть связано с ингибированием процессов перекисного окисления липидов, сохранением структурной целостности мембраны, что способствует уменьшению сосудистой проницаемости.

По всей вероятности, антиэкссудативное действие таблеток из экстракта коры осины на данной модели связано с капилляроукрепляющей активностью, которую проявляет полифенольный комплекс, входящий в состав ТЭКО.

парати щурі отримували протягом тижня до застосування гіперурикемічної дієти та протягом 2 днів на фоні її застосування. У сечі тварин вивчали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), γ -глутаміл-трансферази (ГГТ), N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ).

РЕЗУЛЬТАТИ.

Під впливом оксонатумісної дієти, у тварин збільшувалась активність ЛДГ у 4,5 рази, ГГТ — 1,2 рази, НАГ — 2,2 рази порівняно з інтактними тваринами. Під впливом терапії відбувалося зниження рівня маркерних ферментів у сироватці крові щурів. Так, під впливом «Фларосукцину» спостерігалось зниження активності ЛДГ у сечі тварин у 1,9 рази, ГГТ — у 1,1рази, НАГ —

у 1,6 рази. «Фітолізин» також чинив позитивний вплив на перебіг оксонат-індукованої гіперурикемії у щурів, вірогідно знижуючи активність ферментів сечі порівняно з групою контрольної патології: під його впливом активність ЛДГ знижувалась у 1,4 рази, ГГТ — у 1,1 рази, НАГ — у 1,6 рази. За умов застосування «Алопуринолу» намічалася тенденція до зниження активності

ферментів, що мала вірогідний характер у випадку оцінки активності НАГ (знижувалась у 1,2 рази).

ВИСНОВКИ.

«Фларосукцин» сприяє покращенню функціонування та зменшення запально-деструктивних процесів у епітелії тубулярного апарату нирок, що обумовлено його уролітичною, нефропротекторною та протизапальною активністю.

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ УРОЛІТІАЗУ ТА СУЧАСНІ ПОДХОДИ ДО ЙОГО КОРЕКЦІЇ

І. А. ЗУПАНЕЦЬ, Т. С. ЖУЛАЙ, О. О. АНДРЕЄВА

Національний фармацевтичний університет

ВСТУП.

Питанням профілактики та лікування сечокам'яної хвороби (СКХ) відводиться вагоме місце в клінічній урології за причиною достатньо високої частоти уролітіазу — 30-40% від усієї урологічної патології.

У даний час на фармацевтичному ринку України існує небагато лікарських засобів, що можуть ефективно чинити вплив на патогенетичні ланки розвитку СКХ та покращувати якість життя хворих даного профілю. Нещодавно на ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» було розроблено новий комбінований лікарський препарат «Фларосукцин», склад якого відповідає перерахованим потребам та, завдяки комплексному впливу на патогенез СКХ, обумовлює великі перспективи застосування в терапії хворих на уролітіаз.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Експериментальні дослідження безпеки препарату «Фларосукцин» (за методом Прозоровського В.Б.) проведені на 72 білих безпородних мишах-самцях вагою 20–24 г, 116 білих безпородних щурах обох статей вагою 150–180 г та 8 безпородних кролях обох статей вагою 2,5–3,0 кг. Фармакологічні дослідження з експериментального обґрунтування застосування препарату у патогенетичній терапії СКХ (за умов закислення сечі та за допомогою моделювання експериментального кальцій-оксалатного уролітіазу) були проведені на 136 білих безпородних лабораторних щурах обох статей вагою 200-250 г.

РЕЗУЛЬТАТИ.

За токсикологічними характеристиками «Фларосукцин» є препаратом практично нетоксичним для організму людини, оскільки отримані значення ЛД₅₀ дозволяють віднести його за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності — практично нетоксичні речовини. «Фларосукцин» є оригінальним лікарським засобом, що не має аналогів на фармацевтичному ринку України, оскільки у своєму складі він містить рослинні компоненти, які чинять спазмолітичну, протизапальну, діуретичну, анальгетичну та антимікробну дії, а також буферну суміш сукцинатів натрію, калію та магнію. Застосування цих речовин для корекції рН сечі дозволяє не тільки більш фізіологічно впливати на даний показник (спричиняє зсув рН сечі в лужну сторону), а й стійко утримувати його у необхідних межах (тривала підтримка рН в області слабо лужних значень — протягом 4 годин), що, саме по собі, є оригінальним підходом, оскільки з цією метою, як правило, використовуються цитрати.

ВИСНОВКИ.

Отримані результати доклінічних досліджень препарату «Фларосукцин» свідчать про його нешкідливість і доведену уролітичну і нефропротекторну активність, що обумовлює доцільність його подальшого клінічного вивчення з перспективою впровадження в схему лікування і профілактики СКХ, як засобу патогенетичної терапії.

ПОШУК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК СЕРЕД 8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ 1-(2-ОКСОПРОПІЛ) ТЕОБРОМІНУ

Д. Г. ІВАНЧЕНКО, М. І. РОМАНЕНКО, Г. М. РОМАНЕНКО, Т. А. ШАРАПОВА

Запорізький державний медичний університет

Як відомо, метаболіти ксантинового ряду мають вплив на клітинні мембрани і беруть участь у фізіологічних регуляторних процесах. Їх участь може бути реалізована через різні механізми (активація-інгібування ферментів, рецепторний агонізм-антагонізм). Тому похідні ксантину знайшли широке застосування в якості препаратів, які вирізняються низькою токсичністю та мають антиоксидантну, протипухлинну, бронхолітичну, імунодепресивну, діуретичну, гіпотензивну активності.

Виходячи з вищевказаного, розробка сучасних фармакологічних препаратів з діуретичною, антиоксидантною дією є актуальним і перспективним напрямком сучасної фармацевтичної науки.

Метою даної роботи є розробка способів отримання неописаних в літературі 8-амінопохідних 1-(2-оксопропіл)теоброміну та вивчення їх біологічної дії. Для досягнення поставленої мети нами був здійснений синтез 8-бромо-1-(2-оксопропіл)теоброміну взаємодією 8-бромотеоброміну з хлороацетоном. Реакція вихідної речовини з первинними та вторинними амінами приводить до утворення відповідних 8-амінопохідних.

Будова синтезованих речовин доведена даними елементного аналізу, ІЧ-, ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії, індивідуальність підтверджена методом тонкошарової хроматографії.

Для доведення доцільності проведення фармакологічного скринінгу *in vivo* були використані методи дослідження *in silico*. Було встановлено, що всі одержані сполуки відповідають вимогам «правил п'яти» Ліпінські. Надалі були розрахова-

на проникність через гематоенцефалічний бар'єр та встановлені ймовірні транспортні форми крові синтезованих сполук. Встановлено, що для всіх синтезованих сполук характерна гарна проникність через гематоенцефалічний бар'єр, більшість речовин транспортуватиметься в комплексі з ліпопротеїнами плазми крові. Також віртуально була досліджена гостра токсичність синтезованих речовин. Отримані дані свідчать про те, що синтезовані амінопохідні належать до IV класу токсичності.

Гостра токсичність вивчалась за методом Кербера. Біологічний скринінг показав, що синтезовані сполуки є помірно та малотоксичними, що підтверджується розрахованими даними. Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили за методом Берхіна Є. Б. (в якості еталонів порівняння використовували гідрохлортиазид та фуросемід). Отримані дані свідчать про перспективність даного класу сполук як діуретичних засобів.

Антиоксидантна активність вивчалась *in vitro* на моделі неферментного ініціювання вільнорадикального окислення Fe²⁺. В якості еталонів порівняння використовувались тіотриазолін, мексідол та аскорбінова кислота. Встановлено, що більшість синтезованих сполук за показниками антиоксидантної дії перевищують еталони порівняння.

Отримані показники антиоксидантної, діуретичної, дії синтезованих сполук показали доцільність та перспективність подальшого пошуку біологічно активних речовин в ряді похідних ксантину. Для остаточних висновків необхідно провести додаткові дослідження. Робота в даному напрямку триває.

ВПЛИВ ПОТЕНЦІЙНОГО ІНГІБІТОРУ 11-БЕТА-ГІДРОКСИСТЕРОЇД-ДЕГІДРОГЕНАЗИ 1 ТИПУ НА ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

Н. КРАСОВА, О. ГЛАДКИХ, Ж. ЛЕЩЕНКО, Т. ЗУБАТЮК*, В. ЛІПСОН, В. ПОЛТОРАК

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», *ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України»*

Утворення активної форми глюкокортикоїдів у адипоцитах за допомогою 11-бета-гідроксистероїддегідрогенази 1 типу (11 β -HSD1)

є ваговою складовою патологій, пов'язаних з інсулінорезистентністю (ІР) — ожиріння, метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу

(ЦД2), що обґрунтовує пошук селективних інгібіторів цього ферменту. Мета роботи — оцінити вплив потенційного інгібітору 11 β -HSD1 на показники інсулінорезистентності у щурів з експериментальним ЦД2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Похідне піразоло[3,4-b]-хінолін-5-онів з шифром 2418 було відібрано після обчислення енергії взаємодії (E_{Dos}=8,9 ккал/моль) за процедурою молекулярного докінгу з використанням кристалічної структури комплексу 11 β -HSD1 людини з кофактором NADP та інгібітором тіазолонового ряду (PDB ID 3BZU) у програмі AutoDock 4.2. ЦД2 у статевозрілих (4-місячних) самців-щурів лінії Вістар моделювали шляхом введення низької дози стрептозотоцину (40 мг/кг, в/ч) після 4-тижневого утримання на високожировому раціоні харчування (40 % насичених жирів від загального калоража), з вільним доступом до води та природною зміною режиму освітлення. Контрольні тварини споживали стандартне харчування (10 % загального калоража за рахунок жирів). Сполуку 2418 застосовували перорально в дозі 50 мг/кг за допомогою зонду у вигляді водної суспензії з Твіном-80 щоденно протягом 14 днів, починаючи з тридцятої доби експерименту. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала плацебо. Препарат порівняння метформін надавали за аналогічною схемою в дозі 50 мг/кг. Тваринам проводили тести толерантності до глюкози (ВЧТТГ, 3 г/кг в/ч; 0, 30, 60

та 120 хв) та інсуліну (ТТІ, 0,1 Од/кг п/ш; 0, 15, 30 та 60 хв) з використанням аналізатору глюкози «Ексан-Г» та обчисленням площі під глікемічними кривими (ПГК), визначали рівні інсуліну та кортикостерону у плазмі крові за допомогою видоспецифічних ІФА.

РЕЗУЛЬТАТИ.

14-денне вживання сполуки 2418 покращувало у діабетичних тварин толерантність до глюкози (ПГК-ВЧТТГ: 584,7 \pm 32,9 проти 976,4 \pm 32,3 ммоль/л/хв в групі плацебо, P<0,01; 372,6 \pm 14,1 ммоль/л/хв в контролі, P<0,01; 647,2 \pm 34,9 ммоль/л/хв в групі ЦД2+метформін) та ІР (ПГК-ТТІ: 337,1 \pm 12,8 проти 518,0 \pm 26,4 ммоль/л/хв в групі плацебо, P<0,01; 166,2 \pm 10,3 ммоль/л/хв в контролі, P<0,01; 345,9 \pm 21,1 ммоль/л/хв в групі ЦД2+метформін), зменшувало базальну інсулінемію (P<0,05) та нормалізувало рівні кортикостерону в циркуляції (213,0 \pm 39,2 проти 376,1 \pm 32,5 нмоль/л в групі плацебо, P<0,01; 243,4 \pm 25,9 нмоль/л в контролі).

ВИСНОВКИ.

Застосування сполуки 2418 — потенційного інгібітору 11 β -HSD1, у щурів з експериментальним ЦД2 на тлі ожиріння призводило до покращення інтегральних показників резистентності до інсуліну без неспецифічного інгібування синтезу глюкокортикоїдів.

ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ЕНДОГЕННИЙ БІОСИНТЕЗ ПРОСТАГЛАНДИНІВ У НИРКАХ І ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ IN VITRO

О. В. КУЗНЕЦОВА

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

В умовах загального потепління на всій планеті в наслідок екологічно обумовленого «парникового ефекту», пошук нових ланок патохімії та патофізіології розвитку гіпертермії дозволить розкрити механізми адаптації гомеостазу до теплого стресу.

Експериментальні дослідження проводилися на щурах-самцях лінії Вістар вагою 200–250г згідно Правил Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях (Страсбург, 1986). У роботі був використаний метод біосинтезу простагландинів (ПГ) з ендогенних

попередників, описаний Е.Олів (1980) у нашій модифікації. Кількість ПГЕ2 і ПГГ2а в інкубаційному середовищі вимірювали методом радіоімунологічного аналізу. Концентрацію ПГ перераховували на 1 мг білка тканини, який визначали за Лоурі (Р.Скоупс, 1985). Експериментальною моделлю був патологічний процес, який розвивався у тварин при температурі повітря +43– +45°C, відносної вологості в межах 75–85%, концентрації кисню в межах 20–20,5% в спеціальній камері на протязі години. Отримані результати обробляли за допомогою t-критерію Стьюдента і оцінювали достовірними при P<0,05.

Встановлено, що під впливом гіпертермії зросло утворення ПГЕ2 в корі нирок у 8 разів (з $5,04 \pm 0,51$ пг/мг білка до $43,9 \pm 6,22$ пг/мг білка, $P < 0,01$), тоді як у медулі нирок — в 1,3 рази (з $4877,0 \pm 590,5$ пг/мг білка до $6517,45 \pm 699,44$ пг/мг білка, $P < 0,025$). Рівень ПГФ2а в корі нирок виріс в 1,5 рази (з $16,82 \pm 2,53$ пг/мг білка до $26,7 \pm 5,53$ пг/мг білка, $P < 0,025$), а в медулі нирок — у 2 рази (з $970,25 \pm 181,56$ пг/мг білка до $1924,61 \pm 239,09$ пг/мг білка, $P < 0,025$). Після гіпертермії змінилося співвідношення досліджуваних ПГ в корі нирок у бік ПГЕ2а ($P < 0,025$). В результаті дії гіпертермії в легенях тварин також підвищилося утворення ПГ. У правій ле-

гені біосинтез ПГЕ2 і ПГФ2а виріс в 1,9 рази (з $3848,4 \pm 620,5$ пг/мг білка до $6785,1 \pm 821,1$ пг/мг білка і з $822,3 \pm 69,0$ пг/мг білка до $1594,2 \pm 99,3$ пг/мг білка, $P < 0,025$ відповідно), в лівій легені — в 1,4 рази (з $2520,0 \pm 420,0$ пг/мг білка до $3741,0 \pm 625,2$ пг/мг білка і з $728,7 \pm 84,9$ пг/мг білка до $991,2 \pm 81,6$ пг/мг білка, $P < 0,025$ відповідно).

Підсумовуючи отримані дані, слід зазначити, що дисбаланс ендogenous біосинтезу натрій- і антинатрійуретичних простаноїдів посилює гіпернатріємію з облігатною втратою осмотично вільної води, яка розвивається у тварин в умовах теплового стресу.

ВИВЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ КОМБІНОВАНИХ ПЕСАРІЇВ

Ю. В. Левачкова, Т. Г. Ярних, Л. М. Малоштан

Національний фармацевтичний університет

ВСТУП.

Інфекційно-запальні захворювання (ІЗЗ) урогенітальної системи є актуальною проблемою сучасної гінекології у зв'язку з несприятливим впливом на здоров'я жінок, репродуктивну функцію та широке розповсюдження. Актуальність проблеми піхвових інфекцій пов'язана з небезпекою висхідного інфікування органів малого тазу, невиношуванням вагітності й інфікуванням плоду.

Широкого використання у терапії різних гінекологічних захворювань набули вагінальні супозиторії (песарії), які діють безпосередньо в осередку інфекції та мають високу інтенсивність проникнення діючих речовин до оточуючих тканин.

Враховуючи етіологію і патогенез ІЗЗ, актуальним є створення низки препаратів у формі песаріїв на основі комбінації вказаних речовин, що буде сприяти раціональному вибору схеми лікування вагінітів різної етіології.

Доклінічне вивчення нешкідливості і розвитку віддалених наслідків препаратів під час застосування є невід'ємною частиною процесу створення лікарського засобу та принциповим фактором, що визначає доцільність медичного застосування. Зважаючи на це, завданням даного дослідження стало вивчення токсичних властивостей розроблених комбінованих песаріїв «Меланізол», «Клімедекс» та «Фітовагін».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Гостру токсичність розроблених лікарських препаратів вивчали за методом Пастушенко Г. В. на нелінійних статевозрілих щурах-самках масою 195–205 г при одноразовому вагінальному та ректальному введенні з використанням 5 різних доз. Спостереження та реєстрацію показників стану тварин проводили кожен день протягом 14 діб. Після виведення тварин з експерименту здійснювали макроскопічне обстеження внутрішніх органів, а також визначали їх відносні маси.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Результати проведених токсикологічних досліджень вказують на відсутність летальності тварин при введенні песаріїв «Меланізол», «Клімедекс» та «Фітовагін» як вагінально, так і ректально. Показник гострої токсичності досліджуваних песаріїв при вагінальному введенні перевищує 2810 мг/кг, а при ректальному — 1000 мг/кг, що дозволяє віднести їх за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова до IV класу токсичності.

ВИСНОВКИ.

Отримані результати фармакологічних досліджень експериментально обґрунтовують перспективність та доцільність проведення подальшого поглибленого вивчення розроблених песаріїв як перспективних комбінованих лікарських засобів для лікування вагінітів різної етіології.

МУКОЗАЛЬНЫЕ ГЕЛИ — ЭФФЕКТИВНАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА ПРИ СТОМАТОГЕННОЙ ПАТОЛОГИИ

¹А. П. Левицкий, ¹О. А. Макаренко, ²Е. П. Ступак, ³Н. Л. Хлыстун,

¹Л. Н. Хромагина, ¹И. А. Селиванская

¹ГУ «Институт стоматологии НАМН»

²ГУ «Украинская медицинская стоматологическая академия»

³Харьковский национальный медицинский университет

Развитие многочисленных стоматологических заболеваний связано с общесоматической патологией, которая, в свою очередь, в значительной мере зависит от состояния эндогенной микробной системы организма и степени системной эндотоксинемии, которую вызывает кишечный эндотоксин липополисахарид (ЛПС) условно-патогенных бактерий.

Наши экспериментальные работы подтвердили, что моделирование на лабораторных животных таких патологий как дисбиоз, токсический гепатит, сахарный диабет 2 типа, стоматит, пародонтит вызывает однотипные нарушения в тканях полости рта: снижение неспецифического иммунитета и антиоксидантной защиты, развитие воспаления, интенсификацию перекисного окисления липидов и рост условно-патогенной микрофлоры. Аналогичные изменения в тканях полости рта происходят при внутримышечном введении ЛПС или вследствие его локального нанесения на слизистые ротовой полости.

В Институте стоматологии НАМН совместно с сотрудниками других учреждений разработана технология получения мукозальных гелей с вводом биологически активных веществ (лизоцима, фито-

лизоцима, кверцетина, инулина, гиалуроновой кислоты, экстрактов из листьев винограда, сои, проростков пшеницы и др). Мукозальная форма препаратов позволяет пролонгировано сохранять лечебно-профилактическое средство на поверхности слизистой, повысить концентрацию действующего вещества, осуществить локальный эффект, снизить расход дорогостоящих препаратов, снизить побочные действия лекарственных препаратов. В эксперименте на моделях вышеперечисленных заболеваний и в клинике показано, что местное применение мукозальных гелей с биологически активными веществами оказывает позитивное влияние не только на ткани полости рта, но и на общее состояние организма: устраняет явления кишечного дисбиоза, повышает антиоксидантную защиту и уровень неспецифической резистентности.

На основании результатов проведенных исследований можно рекомендовать использование мукозальной формы препаратов для включения в схемы лечения заболеваний, вызывающих повреждение слизистых оболочек ротовой полости. На мукозальные гели имеется разрешение Минздрава Украины (Гигиеническое заключение № 05.03.02-07/50924 от 24.05.2012).

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ СИНЕРГИЗМ ФЛАВОНОИДА, ПРЕБИОТИКА И ЦИТРАТА КАЛЬЦИЯ

¹А. П. Левицкий, ¹О. А. Макаренко, ²Е. М. Левченко, ²О. Ю. Цисельская,

¹ГУ «Институт стоматологии НАМН»

²КП «Одесская областная клиническая больница»

Успехи последних лет в лечении ишемической болезни сердца, злокачественных новообразований, атеросклероза, сахарного диабета, к сожалению, не снижают тенденцию к их росту. Существует мнение, что в патогенезе большинства

заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза в качестве универсального механизма выступает эндотоксиновая агрессия (ЭА). ЭА характеризуется выделением грамотрицательными бактериями кишечного эндотоксина

липополисахарида в просвет кишечника и системный кровоток [М. Ю. Яковлев, 2003; В.А. Петухов, 2006; Б.А. Шапов, 2011]. Лечение ЭА включает нормализацию микробиоценоза и иммунной защиты, восстановление барьерной функции слизистой кишечника и функциональной активности печени.

Наши многочисленные исследования в поисках эффективного средства для лечения ЭА позволили обосновать рецептуру препарата «Квертулин», состоящего из трех компонентов: пребиотика инулина из корней цикория, флавоноида кверцетина из плодов софоры и цитрата кальция. Известно, что инулин является одним из сильных пребиотиков, способствующих росту и размножению пробиотической микрофлоры. Кверцетин обладает выраженными мукозопротекторными и гепатопротекторными свойствами за счёт способности оказывать антиоксидантное действие, ингибировать активность деструктивных ферментов (гиалуронидазы, коллагеназы, эластазы, фосфолипазы А2). Цитрат кальция — наиболее биодоступная форма кальция, обладающая мукозопротекторными и противовоспалительными свойствами. Проведенные лабораторные исследования показали выраженное лечебно-профилактическое действие «Квертулина», обеспечивающее суммацию эффектов каждого компонента препарата, ко-

торый оказывал положительный результат при экспериментальном воспроизведении многих заболеваний (ЭА, дисбиоз, атеросклероз, ожирение, сахарный диабет, гепатит, пародонтит). Применение препарата профилактически или в лечебном режиме позволяет существенно снизить уровень маркеров воспаления и степень микробной обсеменённости, повысить активность неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты, улучшить печёночные пробы и показатели липидного обмена. Преимущества «Квертулина» по сравнению с компонентами препарата, применяемых отдельно, отмечены по уровню всех исследованных параметров. Препарат выгодно отличается от синтетических лекарственных средств абсолютной безвредностью его компонентов и отсутствием противопоказаний. «Квертулин» зарегистрирован Минздравом Украины (Гигиеническое заключение № 05.03.02-06/44464 от 17.05.2012) и выпускается по ТУ У 10.8-13903778-040:2012 в четырёх формах: порошок и таблетки для перорального назначения, мукозальный гель и зубной эликсир для местного применения в полости рта.

На основании проведенных исследований нам представляется целесообразным рекомендовать широкомасштабные клинические исследования «Квертулина» для возможного включения этого препарата в схему лечения ЭА.

ПОШУК СПОЛУК З АНТИРАДИКАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ СЕРЕД ПОХІДНИХ 3-АРИЛ (АРАЛКІЛ)-8-МЕТИЛКСАНТИНІВ

С. В. ЛЕВІЧ

Запорізький державний медичний університет

ВСТУП.

Судинні ураження головного мозку посідають третє місце в світі в структурі загальної смертності населення, а щорічно кількості пацієнтів з даною патологією тільки збільшується.

Активні форми кисню (АФК) є однією із ключових ланок патогенезу гострих порушень мозкового кровообігу. Їх надмірне вироблення біоенергетичними та хімічними системами клітини в умовах антиоксидантної недостатності призводить до окислювальної модифікації ліпідів мембран, білків та ДНК. Гіперпродукція супероксидрадикалу, що є основним компонентом реакції утворення найбільш агресивних цитотоксинів (гідроксильного радикалу та перосинітритру), в умовах ішемії приводить до експресії

проапоптичних білків, прозапальних цитокінів та до активації індукцибельної NO-синтази. Тому доцільним є використання на ранніх етапах ішемії мозку препаратів з яскраво вираженими антиоксидантними властивостями в якості пас-ток вільних радикалів. Проте на теперішній час недостатньо таких засобів, що робить проблему їх розробки актуальною. Відомо, що похідні ксантину проявляють широкий спектр біологічної активності, тому в аспекті створення потенційних нейропротекторів нашу увагу привернули саме похідні цього природного гетероциклу, що мають в своїй структурі фармакофорні залишки.

Метою нашої роботи був пошук сполук з антирадикальною активністю серед похідних 3-арил(аралкіл)-8-метилксантинів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Для визначення антирадикальної активності сполук, що досліджувалися, нами був використаний метод оцінки по інгібуванню супероксидрадикалу.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Неферментативна реакція окислення адреналіну в адренохром в лужному середовищі супроводжується накопиченням супероксидрадикалу, що в хімічній системі *in vitro* може бути застосовно для кількісної оцінки антиоксидантної активності. Введення в систему досліджуваних похідних ксантину при-

зводило до зменшення кількості супероксидрадикалу.

ВИСНОВКИ.

В результаті проведених досліджень нами було встановлено, що похідні 3-арил (аралкіл)-8-метилксанін проявляють шукану активність, а деякі з них за силою дії перевищують еталонний препарат емоксипін, були визначені певні закономірності впливу замісників в 3 та 7 положеннях ксантинового біциклу на біологічну дію та залежність антиоксидантної активності від концентрації сполук. Дослідження в даному напрямку продовжуються.

ВПЛИВ МЕТАНАНДАМІДУ НА ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО ХОЛЕСТЕРИНУ В АДРЕНОКОРТИКОЦИТАХ ЩУРІВ IN VITRO

Н. І. ЛЕВЧУК, О. В. КАЛІНІЧЕНКО

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України»

ВСТУП.

N-ацилетаноламіни (NAE) — сигнальні ліпідні з високою біоактивністю та широким спектром дії, належать до групи біологічно-активних речовин нещодавно відкритого класу ендоканнабіноїдів. На сьогодні найбільш повно вивчені біологічні ефекти ненасичених NAE, переважно N-арахідонолетаноламіну (тривіальна назва анандамід). Встановлено, що дія анандаміду та інших ендоканнабіноїдів на клітину може виявлятися не лише в результаті його зв'язування з каннабіноїдними чи ванілоїдними рецепторами, а й за позарецепторними механізмами, які ще до кінця не з'ясовані. Раніше ми показали, що ефект метанандаміду — синтетичного аналогу анандаміду — на стероїдогенез у самців і самиць є різноспрямованим. Зроблено припущення, що гальмування секреції та синтезу кортикостероїдів у самців, за умов дії метанандаміду, може бути наслідком зниження рівня цАМФ і гальмування цАМФ-залежної протеїнкінази А. Протилежна і дозозалежна дія препарату у самиць, можливо, пов'язана з впливом естрогенів на синтез холестерину. Метою роботи було дослідити вплив метанандаміду на рівень загального холестерину в тканині надниркових залоз щурів різної статі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Експериментальні дослідження проводили на 12 самцях і 12 самицях щурів лінії Вістар *in vitro*. Після декапітації щурів видаляли

надниркові залози, тканину поділяли на зрізи та інкубували при 37 оС впродовж 3 год у присутності різних концентрацій метанандаміду (10⁻⁸-10⁻⁶ М). Контрольна проба містила розчинник (етиловий спирт) у відповідному об'ємі. Після інкубації зрізи тканини гомогенізували в буфері, що містив 0,05 М трис-НСІ (рН 7,4). Кількісний вміст загального холестерину визначали ензиматичним методом, використовуючи біохімічний реагент згідно рекомендації виробника («Global Scientific», США). Концентрацію холестерину виражали у мкг/мг тканини.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Метанандамід *in vitro* призводив до вірогідного зниження рівня загального холестерину в тканині надниркових залоз самців при всіх його досліджених концентраціях. В той же час, у тканині надниркових залоз самиць рівень загального холестерину зростав по відношенню до контрольної проби. Вірогідно значущими виявились зміни при концентрації препарату 10⁻⁷ і 10⁻⁶ М. Найбільш суттєвий ефект метанандаміду спостерігали при концентрації 10⁻⁷ М.

ВИСНОВКИ.

Таким чином, метанандамід виявляв різноспрямований ефект на вміст загального холестерину в адренокортикальній тканині самців і самиць щурів, що може бути однією із причин різного ефекту препарату на стероїдогенез у них.

ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВЗАЄМОДІЇ ЛЮДИНИ ТА ДЕЛЬФІНА У ПРОЦЕДУРАХ ДЕЛЬФІНОТЕРАПІЇ

Л. М. ЛУКІНА, К. К. ГОРБАЧОВА

Науково-дослідний центр «Державний океанаріум»

В останні роки широко використовують дельфінів для корекції стану здоров'я людей. Однак, відсутність уніфікованих методик проведення процедур, а також оцінки отриманих результатів приводить до втрати довіри пацієнтів до дельфінотерапії.

У Науково-дослідному центрі «Державний океанаріум» більше 20-ти років проводять роботи з вивчення можливості використання чорноморських дельфінів афалін для відновлення здоров'я людей, що страждають психоневрологічними симптомами захворювання. Отримано дані на більш, ніж 8000 пацієнтів, що підтверджують лікувальні ефекти процедур дельфінотерапії у дітей із неврозамі, аутизмом, дитячим церебральним паралічем (ДЦП) і затримкою психомовного розвитку (ЗПР), а також у дорослих із синдромом хронічної втоми (СХУ). Основними об'єктами лікувального й профілактичного впливу за участю дельфінів є психосоматичні фактори патогенезу захворювання.

Для пацієнта невропата й особистісно акцентованого пацієнта враження від пережитого в

процедурах дельфінотерапії, а також відчуття власної перемоги й успіху надовго залишаються закріпленими в поведінці і є тим стартовим стрибком, який робить кожний пацієнт із неврозом до видужання. При аутизмі за допомогою дельфіна вдається допомогти дитині осмислено взаємодіяти з навколишнім світом, а потім на цій основі здійснювати керування навчанням і вихованням, направляючи в потрібне русло наявні й формуючи у дитини нові звички й знання. При ДЦП за допомогою дельфінів вдається нав'язати рухові стереотипи з метою досягнення оптимальної для конкретного хворого взаємодії з дельфіном, змусити дитину відчутти смак перемоги над собою й постаратися відновити нерво-рефлекторні зв'язки ЦНС із ураженими м'язами за десять днів занять із дельфінами. Таким чином, мобілізація активної поведінки пацієнта під час хвороби, переключення його уваги із хворобної домінанти на оптимістично-зцілювальні мотивації є найважливішими елементами дельфінотерапії.

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ІМІДАЗОЛІНВІСНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ

І. Г. МАКСИМОВА

Харківський національний медичний університет

Майже всі чужорідні хімічні сполуки виявляють здатність впливати на функціональний стан тих чи інших біологічних систем. Важливе значення у порушенні життєдіяльності клітин і молекулярних механізмів належить процесам перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Сучасний етап хімії органічного синтезу характеризується значними об'ємами виробництва нових комбінацій імідазолінвісних сумішей, їх широким використанням, здатністю надходити до водних об'єктів господарсько-питного та культурно-побутового призначення. Це спонукає проводити комплекс досліджень, спрямованих на вивчення

їх впливу на організм людини та тварин з метою вирішення наукової проблеми щодо охорони здоров'я населення та об'єктів довкілля від негативного впливу хімічних речовин. Метою даної роботи є оцінка вмісту діє-нових кон'югатів, ТБК-реактивів, шифових основ у сироватці крові щурів за умов тривалої дії імідазолінвісних сумішей у дозі 1/100 LD₅₀.

Експерименти проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, яких піддавали пероральній затравці розчинами сумішей імідазолінів з домішкою аміноаміду з алкільними радикалами С7-9 (СІМ7-9) та С₉₋₁₅

(СІМ9-15) щоденно одноразово протягом 30 діб у дозі 1/100 LD₅₀, що складало для СІМ7-9 — 1,8 г/кг, СІМ9-15 — 5,2 г/кг маси. Контрольним щурам вводили відповідні об'єми води. Забій тварин проводили на 30-ту добу декапітацією, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. У сироватці крові спектрофотометрично визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) при 233 нм, попередньо екстрагуючи ліпіди гептан-ізопропаноловою сумішшю; ТБК-реактивів — при 532 нм за реакцією між малоновим діальдегідом і тіобарбітуровою кислотою з утворенням забарвленого триметинового комплексу. Шифові основи екстрагували сумішшю хлороформ-метанол з наступним спектрофлюориметричним визначенням при довжині хвилі збудження 360 нм та емісії 430 нм.

У сироватці крові щурів на 30-ту добу дії СІМ7-9 і СІМ9-15 у 1/100 LD₅₀ спостерігалось статистично значуще, порівняно з контролем, збільшення ДК на 79% і 41%, ТБК-реактивів — на 63% і 19%, шифових основ — на 65% і 29% відповідно. Коефіцієнт співвідношення шифові основи/(ДК+ТБК-реактиви) для досліджуваних імідазолінвісних сумішей дорівнював в середньому (0,157±0,025) ум.од на фоні контролю (0,181±0,033) ум.од. Деяке зменшення коефіцієнта свідчить про активацію ПОЛ на рівні утворення первинних і вторинних продуктів.

Таким чином, досліджувані імідазолінвісні органічні суміші у дозі 1/100 LD₅₀ є чинниками ініціації процесів ПОЛ, що супроводжується виснаженням систем антирадикального й антиперекисного захисту, розвитком оксидативного стресу.

АКТИВНІСТЬ СИНТАЗ ОКСИДУ АЗОТУ В ТКАНИНІ ХРОНІЧНОГО ТИРЕОЇДИТУ

Т. М. МИШУНІНА, О. В. КАЛІНІЧЕНКО

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

ВСТУП.

Система генерації оксиду азоту (NO), сигнальної молекули з властивостями активного радикалу, надзвичайно чутлива до змін, що відбуваються в організмі. В мітохондріях NO діє як фізіологічний месенджер, який модулює швидкість транспорту електронів та ініціює розвиток клітинної гіпоксії. Так створюється можливість для реалізації реакції NO і активного радикалу кисню з утворенням при дії індукційної NO-синтази пероксинітриду, який є потужним оксидантом. Залежно від рівня останнього зазначені радикали можуть модулювати розвиток мітохондріальних дисфункцій, результатом яких є апоптозна загибель клітини чи некроз, що є основою для розвитку низки патологічних процесів. Проте роль NO в індукції апоптозу клітин щитоподібної залози (ЩЗ) за її патології достеменно не з'ясована.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ.

Досліджували вміст NO, активність NO-синтази та індукційної її форми в позапухлинній тканині ЩЗ з патоморфологічними ознаками хронічного тиреоїдиту. Кількісне визначення рівня NO проводили за спектрофотометричним методом по розвитку забарвлення в реакції діазотування нітридом суль-

фаніламідом, який входить до складу реактиву Гріса.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Показано, що за хронічного тиреоїдиту вміст NO та активність конститутивної NO-синтази помірно збільшена порівняно з показниками для незміненої тканини ЩЗ нормофолікулярної будови (тканина порівняння), тоді як активність індукційної NO-синтази вища за контрольну більш, ніж у 3 рази. Не відмічено суттєвої різниці між змінами рівня NO та активності ферментів у тканині у разі вогнищового, помірного чи вираженого тиреоїдиту.

ВИСНОВКИ.

Підвищення рівня NO в тканині ЩЗ хронічного тиреоїдиту вкладається у теорію про участь цієї молекули у комплексному механізмі тканинного пошкодження через модулювання NO процесів запалення. А відсутність різниці між змінами активності індукційної NO-синтази в тканині хронічного тиреоїдиту різного ступеня вираженості підтверджує попередній наш висновок, що за цих умов в ініціацію апоптозу може залучатися не стільки мітохондріальний, скільки зовнішній рецепторний механізм, за якого активація

каспази-3 відбувається переважно внаслідок дії каспази-8. Це припущення зроблено на основі аналізу даних літератури та власних результатів досліджень щодо участі мітохондрій у розвитку апоптозу за хронічного тиреоїдиту, які свідчать про нечутливість механізмів ре-

гуляції проникливості мембран мітохондрій до апоптоз-індукуючих чинників за цих патологічних умов, що супроводжується при вогнищевому тиреоїдиті гальмуванням, а при вираженому хронічному тиреоїдиті активацією каспази-3.

КОРЕКЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ МЕЛАНІНОМ ЗА УМОВ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

К. С. НЕПОРАДА¹, А. А. СУХОМЛИН¹, Т. В. БЕРЕГОВА²

¹ — ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»

² — ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ВСТУП.

Відомо, що тривале зниження шлункової секреції призводить до гіпергастринемії (Olbe L., 1989) та до розвитку патологічних змін в органах травлення, зокрема, канцерогенезу. Меланіни — поліфенольні сполуки які володіють антиоксидантними, радіо- та фотопротекторними властивостями, мають стреспротекторну дію. Доведено, що меланіни є агоністами PPAR- γ рецепторів та активує синтез eNOS в слизовій шлунка за умов стрес-синдрому, тобто має цитопротекторну дію (Савицький Я.М., 2002).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Експерименти виконані на 17 білих щурах-самцях, вагою 180-220г. Дослідним тваринам протягом 28 днів внутрішньоочеревинно вводили омепразол («Sigma», США) дозою 14 мг/кг, меланін («Sigma», США) (5 мг/кг маси тіла перорально) окремо та в поєднанні. В тканинах слинних залоз визначали активність α -амілази (Cagaweay, 1959), орнітиндекарбоксилази (Храмов В.А., 1997), NO-синтази та вміст нітритів (Hevel J.M., 1991).

РЕЗУЛЬТАТИ.

Нами встановлено, що на 28 день введення омепразолу активність орнітиндекарбоксилази в слинних залозах вірогідно знизилась в 1,1 рази порівняно з контролем ($p < 0.05$). Введення мела-

ніну на тлі омепразол-індукованої гіпергастринемії сприяє вірогідному зростанню в 1,23 рази активності орнітиндекарбоксилази порівняно з тваринами без корекції ($p < 0.05$). Активність α -амілази в тканинах слинних залоз щурів на всіх етапах експерименту вірогідно зростає порівняно з контролем, а за умов введення меланіну — була в 1,06 рази вище ($p < 0.05$), ніж у щурів без корекції. Активність NO-синтази в тканинах слинних залоз при 28-денному введенні омепразолу підвищилась у 1,45 рази ($p < 0.05$), а за умов корекції із застосуванням меланіну активність NO-синтази — знижувалась у 1,23 рази ($p < 0.05$) порівняно зі щурами без корекції. У слинних залозах за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії вміст нітритів збільшився в 1,18 рази ($p < 0.05$), а за умов корекції меланіном вміст нітритів достовірно знизився у 1,15 рази ($p < 0.05$) порівняно зі щурами без корекції.

Висновки. Таким чином, за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії в слинних залозах щурів вірогідно знижується активність орнітиндекарбоксилази та підвищується активність α -амілази і загальної NOS, що свідчить про дисбаланс білоксинтезуючої та NO-ергічної системи слинних залоз. Меланін нормалізує активність орнітиндекарбоксилази, α -амілази та загальної NO-синтази за умов тривалої гіпергастринемії.

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «ЛІПІН»

Л. Г. НЕТЮХАЙЛО, Т. А. СУХОМЛИН

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»

ВСТУП.

Опікова хвороба супроводжується утворенням активних форм кисню та розвитком оксидативного стресу. Метою дослідження було вивчення впливу препарату «Ліпін» на ферментну антиоксидантну систему легень щурів в умовах експериментальної опікової хвороби (ЕОХ) в доккладній динаміці.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Експерименти виконані на 112 білих щурах-самцях, вагою 180-200г. Для моделювання ЕОХ задню кінцівку щурів занурювали у воду температурою 75°C протягом 7 сек. Препарат «Ліпін» вводили внутрішньоочеревинно в дозі 5 мг/кг відразу після моделювання ЕОХ. В гомогенаті легеневої тканини визначали активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази.

РЕЗУЛЬТАТИ.

Спостерігалось зменшення активності СОД на 1-у добу (стадія опікового шоку) у 1,65 рази порівняно з контролем, далі по-

казник знижувався на 7-у добу в 2,03 рази та на 14-у добу — в 2,18 рази відповідно (стадія токсемії). Потім активність СОД дещо зростала, але контрольних значень не досягла. Також відзначалось зниження активності каталази у 1,47 рази на 1-у добу, після чого вона дещо підвищувалась, але залишалась нижче за контрольну. При корекції змін препаратом «Ліпін» активність СОД знижувалась максимально на 7-у добу ЕОХ — у 1,18 рази і поверталась до норми на 28-у добу. Активність каталази знижувалась у 1,14 рази на 1-у добу ЕОХ, на 7-у добу — у 1,22 рази, на 14-у добу — у 1,44 рази, досягаючи контрольних показників на 28-у добу.

ВИСНОВКИ.

Отже, опікова хвороба призводить до зниження активності ферментних антиоксидантних систем. Експериментальна корекція препаратом «Ліпін» знижує інтенсивність вільно-радикальних процесів та підвищує активність ферментних антиоксидантних систем.

МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ АЦЕТОНЕМІЧНОГО СИНДРОМУ У ДІТЕЙ З ПАТОЛОГІЄЮ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ

О. В. НИКОЛАЄВА, О. В. БАЧУРІНА

Харківський національний медичний університет

Серед дитячого населення досить часто доводиться зустрічатися з перехідними станами між здоров'ям і хворобою, до яких відноситься ацетонемічний синдром (АС). У сучасній літературі вторинному АС приділяється значно менше уваги, ніж первинному. Зокрема, залишаються недостатньо вивченими особливості обміну речовин у дітей з АС при захворюваннях травної системи (ТС) та механізми, які обумовлюють розвиток ацетонемічних станів у таких хворих. Метою даного дослідження стало вивчення патогенезу АС у дітей з патологією травної системи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Обстежено 76 дітей з АС (1 гр.) і 37 дітей без кетонемії (2 гр.) із захворюваннями ТС. Вміст катехоламінів в сироватці крові визначали методом колонкової хроматографії, рівень кортизолу, інсуліну, глюкагону — радіоімунологічними методами, рівень загального карнітину — ензиматичним методом, функціональний стан вегетативної нервової системи (ВНС) — визначенням вихідного вегетативного тону (ВВТ) за спеціальною таблицею, розробленою у Московській медичній академії ім. І.М.Сеченова.

РЕЗУЛЬТАТИ.

У більшості хворих 1-ї гр. ($66,0 \pm 7,0$, $p < 0,01$) ВВТ був симпатикотонічним, в 2-й гр. переважали пацієнти з парасимпатикотонічним ВВТ ($66,7 \pm 9,2$, $p < 0,001$). В порівнянні із групою контролю у хворих з АС у 2,5 рази ($p < 0,05$) частіше спостерігалось підвищення рівня адреналіну, у 2 рази ($p < 0,05$) частіше був підвищений вміст кортизолу, у 3 рази ($p < 0,05$) частіше мало місце підвищення вмісту глюкагону. Проте підвищений рівень інсуліну в 1,2 рази частіше виявлявся у дітей 2 гр., а у пацієнтів з АС він був здебільше в межах норми або дещо знижений. Майже у всіх дітей 1 гр. вміст загального карнітину в сироватці крові був знижений у середньому до 83,8% від нормативу ($p < 0,001$); у дітей 2 гр. переважав його нормальний рівень.

ВИСНОВКИ.

Одним із важливих механізмів розвитку АС у дітей з патологією ТС є симпатикотонія. При її наявності у хворих дія стресогенних факторів призводить до каскаду біохімічних реакцій з підвищенням рівнів катехоламінів, що стимулює синтез контрінсулярних гормонів. Активується ліполіз, глікогеноліз, протеоліз та глюконеогенез, що стимулює синтез НЕЖЖ, які вступають до реакції β -окислення. Гіпокарнітинемія свідчить про наявність порушення β -окислення жирів у хворих з АС. Ацетил-КоА, який утворюється після β -окислення жирних кислот, при дефіциті вуглеводів не може повністю вступити до каскаду реакцій циклу Кребса і залишається один шлях метаболізму його «надлишку» — кетогенез.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЫ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭКЗОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА.

О. В. НИКОЛАЕВА, М. В. КОВАЛЬЦОВА, С. В. ТАТАРКО

Харьковский национальный медицинский университет

Актуальной проблемой современной медицины является патология поджелудочной железы (ПЖ). Недостаточно исследовано влияние экзогенных патогенных факторов на развитие дисфункции ПЖ. Целью исследования явилось изучение морфофункциональных особенностей ПЖ у крысят в возрастной динамике при действии алиментарного фактора на систему мать-плод.

Материалы и методы. Изучено состояние ПЖ у 30 крысят рожденных от самок, находившихся на гиперкалорийной диете (1 гр.) и 30 крысят от самок, получавших нормальное питание. Исследована ПЖ новорожденных крысят (группы 1.1. и 2.1), месячных (группы 1.2 и 2.2) и двухмесячных (группы 1.3 и 2.3) крысят. Осуществлялось морфометрическое, гистологическое и гистохимическое исследование по общепринятым методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

У новорожденных крысят группы 1.1 умеренно (на 4,5%) увеличен объем паренхимы

ПЖ по сравнению с контролем. По мере роста животных он отчетливо уменьшается на 14,3% ($p < 0,05$) в группе 1.2 и на 19,3% ($p < 0,001$) в группе 1.3. У 30% новорожденных животных выявлен липоматоз паренхимы, который у месячных крысят наблюдался реже (у 20%), а у двухмесячных — отсутствовал. У 70% новорожденных крысят (группа 1.1) имелись очаги атрофии ацинарной паренхимы и в динамике (в группе 1.2) количество животных с такими изменениями увеличилось на 10%. Кроме того, установлена негативная динамика изменений в ПЖ у животных в течение последующих 2-х месяцев жизни; появление очагов воспалительных лимфогистиоцитарных инфильтратов (у 40%), сочетание незрелости стромы с усилением склеротических процессов в ней (у 50%). Выявлена тенденция к снижению средней площади ацинусов: если у новорожденных крысят (группа 1.1) она на 27,8% ($p < 0,001$) превышала показатель животных группы сравнения, то через месяц (группа 1.2) снизилась от исходного значения на

32,6% ($p < 0,001$), а к двум месяцам — на 38,5% ($p < 0,001$). Кроме того, в динамике выявлено нарастание частоты и степени выраженности повреждения цитоплазмы и ядер экзокриноцитов. У месячных и двухмесячных крысят наблюдалось усиление апоптоза ациноцитов, явления 2-ядерности и ядерного полимофизма, митозы, свидетельствующие о включении механизмов внутриклеточной регенерации.

ВЫВОДЫ.

Гиперкалорийная диета в период беременности крыс негативно влияет на морфологию и функцию ПЖ потомства. Признаки морфофункциональных нарушений ПЖ имеются уже у новорожденных крысят и по мере роста животных усугубляются, (несмотря на нормальный режим питания), являясь фактором риска развития хронической панкреатической недостаточности.

ИБС-АССОЦИИРОВАННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ

Н. А. КЛИМЕНКО, Е. А. ПАВЛОВА

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьковский национальный медицинский университет

Последние исследования указывают на важную роль воспаления в широком разнообразии болезней, не являющихся собственно воспалительными, в том числе в ишемической болезни сердца (ИБС). Такое воспаление называют ассоциированным. Оно развивается как реакция организма на повреждение тканей, возникающее при соответствующих патологических процессах, и усугубляет дальнейшее развитие патологии. При этом показателем выраженности воспаления является появление или увеличение уровня маркеров воспаления в крови, то есть, выраженность реакций острой фазы, или синдрома системного воспалительного ответа. К таким маркерам относятся белки острой фазы, цитокины, продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и др. Наши данные показывают, что ИБС, возникающая на фоне атеросклероза, и хроническая сердечная недостаточность (ХСН) различной степени тяжести, развивающаяся на фоне ИБС, характеризуются выражен-

ным воспалительным компонентом, проявляющимся повышением уровней продуктов ПОЛ, С-реактивного белка, провоспалительных (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6) и противовоспалительных (ИЛ-4) цитокинов в крови, количества клеток-продуктов этих цитокинов в тканях. Воспалительные проявления прогрессируют по мере усугубления патологического процесса, а применение противовоспалительной терапии (противовоспалительных иммуномодуляторов и антиоксидантов) производит положительный эффект, как клинический, так и в отношении исследуемых маркеров. Полученные данные позволяют рекомендовать определение маркеров воспаления у больных ИБС и ХСН для характеристики тяжести заболевания, прогнозирования его дальнейшего течения и оценки эффективности терапии. Они также являются основанием для применения иммуномодуляторов и антиоксидантов дополнительно к стандартной терапии при ХСН различной степени тяжести.

ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА МАССЫ ТЕЛА СЛЕПЫХ И СЛАБОВИДЯЩИХ ДЕТЕЙ СРЕДНЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Н. Б. ПИЛЬКЕВИЧ

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

Физическое развитие характеризуется совокупностью показателей, отражающими возрастные особенности, антропометрический профиль, функциональное состояние разных сторон. Особое место в этом перечне занимает компонентный состав массы тела.

Целью работы, является изучение компонентного состава массы тела у детей с дефектами зрения в возрасте 11–14 лет.

Основную группу исследуемых составили 58 детей с дефектами зрения, из них 30 мальчиков

и 28 девочек. Контрольную группу составили 55 практически здоровых детей. По результатам полученных данных установлено, что мальчики и девочки основной группы отстают от практически здоровых сверстников по: росту стоя на 3,40%, и 3,46%, массе тела на 8,19% и 8,24% соответственно. Безжировая масса тела (по Бенке) у детей основной группы меньше на 7,32% и 15,79% в сравнении с контрольной группой. У детей с дефектами зрения уменьшено абсолютное количество жирового компонента (по Матейко): у мальчиков на 3,37%, а у девочек — на 18,57%.

Снижение абсолютного количества мышечного компонента у мальчиков выявлено на 3,43%, а

у девочек — на 19,23%. У мальчиков с дефектами зрения, оно меньше на 5,27%, а у девочек — на 12,78%. Абсолютное количество костного компонента у мальчиков с дефектами зрения уменьшено на 3,95%, а у девочек на 18,98%. Изменения относительного количества костного компонента практически одинаковы: у мальчиков он снижен на 14,74% и у девочек — на 14,97%. Мальчики и девочки основной группы, отстают от своих практически здоровых сверстников на 16,67%.

Таким образом нами установлено, что дети с дефектами зрения, в возрасте 11-14 лет, отстают от практически здоровых детей по всем показателям, компонентного состава массы тела.

BIOCHEMICAL PROPERTIES GREEN AND RED MACROPHYTE SPECIES FROM LITTORAL WATERS OF ESTUARY

V. N. BAYRAKTAR¹, L. A. POLUKAROVA²

¹*Odessa Mechnikov National University,*

²*University Clinic of Odessa National Medical University*

INTRODUCTION:

Algae can be an interesting natural source of novel compounds with biological activity. Some algae are organisms that live in complex habitats subjected to extreme environmental conditions (salinity, temperature, and nutrients). The diversity of macrophyte species plays a significant role, since some species belong to the green or red macrophyte species. Both species grow in the coastal waters along the estuary and in different areas grow different species of algae with a different amount of biomass per square meter of littoral waters. We have interest mainly in the five recreation areas of the Tiligul estuary. It includes: Tashinskaya, Atamanskaya Kosa (Chieftain Spit), Anatolevskaya, Chervono-Ukrainka and Koblevo recreation areas.

Algae possess antifungal, anti-inflammatory, and anticancer properties. Some remedies produced from algae in the preclinical trials, include: Alpidine dehydro didemin (anticancer), Bryostatin (anticancer), Contignasterol (anti-inflammatory), Curacin A (anticancer), Cyclomarin A (antiviral, anti-inflammatory), Discodermalide (anticancer), Eleutherobin (anticancer), Halichondrin B (anticancer), Dolastatin (anticancer), Ecteinascidin-743 (anticancer).

This research was carried out in the summer season, around the Tiligul estuary, when macrophytes grow well following the spring period.

In the littoral waters, benthic and deep soils were found concentrations of such macro- and micro-elements as: Sodium, Potassium, Calcium, Phosphorus, Magnesium, Iron, Chlorides. The enzyme activity of macrophytes was investigated in homogenates for such cellular enzymes as: Lactate Dehydrogenase, Aspartate Aminotransferase, Amylase, Alkaline Phosphatase, Alanine Aminotransferase, Cholinesterase. We identified the following species of macrophytes. The biochemical parameters of macrophytes play an important role in the assessment of the ecological status of the littoral waters throughout the shore of the estuary in the recreational areas. In different areas, biochemical parameters may vary depending on the depend on the nutrient substrate to which are attached macrophytes, the content of calcium, phosphorus, magnesium, the number of rain, solar activity, the duration of daylight, and other factors.

MATERIALS AND METHODS:

Green and red macrophyte species were collected from littoral waters of different recreational areas of the Tiligul estuary. After identification, we prepared tissue homogenates from each species of macrophytes and tested for their enzymatic activity, parameters of nitrogenic, lipidic, carbohydrate and proteinic metabolism. Enzymatic activity, concentration of macro- and micro-elements were tested using methods of spectroscopy

in a biochemical analyzer, Respons-920 (DyaSys GmbH, Germany). The reagent kits were made by the BioSystems Company S.A., Costa Brava, Spain. Concentration of Sodium and Potassium were tested by an ion-selective electrode measurement analyzer (Instrumentation Laboratory Company, Bedford, MA, USA).

RESULTS:

Biodiversity of macrophytes in waters of littoral aquatories the Tiligul estuary represents the following species of green algae: Bryopsis plumosa (Hudson) C.Agardh; Cladophora laetevirens (Dillwin) Kutzing; Cladophora sericea (Hudson)

Kutzing; Rhizoclonium tortuosum (Dillwyn) Kutzing; Ulva rigida (C.Agardh); Enteromorpha compressa (Linnaeus) Nees; Enteromorpha clathrata (Roth) Greville; Enteromorpha plumosa Kutzing; Enteromorpha intestinalis f. longissima (Areschoug); Enteromorpha flexuosa (Wulfen) J.Agardh. Members of red algae represented by the following macrophyte species: Polysiphonia violacea (Roth) Sprengel; Polysiphonia nigrescens (Hudson) Greville ex Harvey; Polysiphonia sanguinea (C.Agardh) Zanardini, and Chondria capillaris (Hudson) M.J. Wynne.

In different recreational areas different species of green and red algae were found.

A particularly rich biodiversity and biomass

for algae was observed in the Atamanskaya Kosa (Chieftain Spit) whereas the littoral waters of Tashinskaya recreational area was most lacking in algae biodiversity and biomass in comparison. In the Koblevo recreational area, macrophyte attachment to the bottom substrate was seen to be uneven. In many investigated areas they didn't grow at all, and in some areas they they were seen to grow very densely. The predominant species observed were: Ulva rigida and Polysiphonia sanguinea, and Polysiphonia violacea. Tashinskaya — 42g/m², Atamanskaya Kosa — 425 g/m², Anatolevskaya — 126 g/m², Chervono-Ukrainka — 317 g/m², Koblevo — 238 g/m².

CONCLUSIONS:

1. We specified green and red species of algae in littoral waters of each recreation area of the Tiligul estuary.
2. We determined macrophytes enzymatic activity in homogenates.
3. We delineated biochemical parameters of metabolism in algae.
4. We determined the concentration of macro- and micro- elements in homogenates of green and red macrophytes.
5. We found that macrophytes can be used as indicators of the underlying ecological situation in those areas where they grow.

БІОХІМІЧНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ АНТИЛІПОКСИГЕНАЗНОГО КОМПОНЕНТУ У МЕХАНІЗМІ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ МІГРЕПІНА

Г. О. СИРОВА

Харківський національний медичний університет

ВСТУП.

В експериментальних дослідженнях на лабораторних щурах встановлено політропність нового комбінованого вітчизняного лікарського засобу «Мігрепін». На моделі зимозанового набряку зафіксовано значний ефект антиексудативний ефект «Мігрепін» (12,5 мг/кг — щурам) на рівні нордигідрогваяретової кислоти (НДГК) (400 мг/кг — щурам), яку обрали за модельну речовину (протягом 1 та 2 годин спостережень), і стероїдного протизапального засобу дексаметазону дозою 0,06 мг/кг — щурам (упродовж 1, 2 та 3 годин спостережень). Значний антиексудативний вплив «Мігрепін» на моделі зимозанового набряку свідчить про наявність антиліпоксигеназного компоненту в механізмі його дії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Для об'єктивізації одержаних даних проведено біохімічне дослідження з визначення антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії «Мігрепін». Для визначення антиліпоксигеназного механізму дії використано модель асептичного ексудативного зимозанового запалення у щурів у зв'язку з тим, що зимозан сприяє утворенню і виділенню лейкотрієнів (ЛТ), тому провокує локальну гостру запальну реакцію. Його вводили субплантарно з розрахунку 0,1 мл на тварину у вигляді 2% суспензії (Sigma). Об'єм стоп вимірювали онкометром за О.С. Захаревським до і через 0,5, 1, 2, 3 години після введення флогогену. Визначення вмісту ЛТВ4 у сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка та головного мозку

проводили імуноферментним методом за допомогою комерційного набору виробництва фірми NEOGEN (США/Канада) на імуноферментному аналізаторі «Лаблайн-90» (Австрія). Для гомогенізації тканин використовували 96% етиловий спирт (1 : 5).

РЕЗУЛЬТАТИ.

Отримані результати показали, що найбільшу пригнічувальну дію на утворення ЛТВ4 справляли «Мігрепін» та НДГК, які у 2–2,5 рази знижували рівень ЛТВ4 у дослідних тканинах порівняно з групою «запалення». Вони пригнічували продукцію ЛТВ4 нейтрофілами

та еозинофілами, завдяки чому зменшувалася роль ексудативного компонента гострої запальної реакції.

ВИСНОВКИ.

Одержані дані свідчать про те, що «Мігрепін» пригнічував ліпоксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти і тому суттєво знижував рівень ЛТВ4 у тканинах організму при запаленні. Вважаємо, що в механізмі антиексудативної дії «Мігрепіну» має місце антиліпоксигеназний компонент, що підтверджено біохімічними дослідженнями.

ВПЛИВ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ НА ЖИВІ ОРГАНІЗМИ

С. М. Смірнов, Г. А. Дубова, Ю. М. Дубова, Д. П. Татаренко

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

В наш час додавання в більшість продуктів харчування консервантів та харчових барвників є важливою проблемою, тим більше, що багато з них ще не ідентифіковано. Нашу увагу привернуло вплив бензоату натрію на живі організми.

Бензоат натрію — натрієва сіль бензойної кислоти, що зареєстрована як харчова добавка з кодом Е 211, являє собою білий порошок без запаху чи з незначним запахом бензальдегіду. Має властивості антибіотика та підсилювача кольору. Зустрічається в соусах для барбекю, консервах, соєвих соусах, фруктових драже та ін. Як консервант використовується в косметичній та фармацевтичній промисловості.

У великих дозах бензоат натрію здатний завдавати значну шкоду здоров'ю людини. У дан-

ній роботі представлено огляд проведених досліджень, присвячених впливу доз бензоата натрію на метаболізм та поведінку живих організмів.

На даний час проведено велика кількість досліджень, присвячених вивченню механізмів впливу бензоату натрію на показники життєдіяльності. Значна їх частина показує, що ін'єкції досліджуваної речовини в великих дозах має нейротоксичні властивості та може призводити до порушень нейрогуморальної регуляції та роботи систем органів. Але питання про наслідки довготривалого вживання бензоату натрію з їжею до сих пір залишаються предметом дискусії. Причиною цьому є обмежена кількість робіт та клінічних досліджень, присвячених даній темі.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПОКАЗНИКІВ ЛЕПТИНУ І С-РЕАКТИВНОГО БІЛКУ У ВАГІТНИХ ЖІНОК З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ОЖИРІННЯ

К. В. Тарасенко

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

Ожиріння є фактором ризику ускладнень вагітності і пологів. Вагітність супроводжується фізіологічно інсулінорезистентністю (ІР). В патогенезі ожиріння і метаболічного синдрому важливу роль відводять інсулінорезистентності, яка обумовлена впливом ряду факторів, зокрема,

надмірною продукцією адипокінів, прозапальних цитокінів, розвитком оксидативного стресу та інших. Одним із гормонів жирової тканини, який бере активну участь у регуляції енергетичного метаболізму, є лептин. Даний адипокін вважають мірою маси жирової тканини [Беловол А.Н.,

Школьник В.В., 2012]. Йому відводять фундаментальну роль у системному запаленні у осіб з надмірною масою тіла [Мокина Н.А. и соавт., 2012].

Мета даного дослідження — оцінити взаємозв'язок показників лептину і С-реактивного білку у вагітних жінок з різним ступенем ожиріння.

Обстежено 57 вагітних жінок з ожирінням різного ступеня: 22 жінки з ожирінням І ступеня, 14 — з ожирінням ІІ ступеня у відповідності з індексом маси тіла. Контрольну групу склали 21 вагітна з нормальною масою тіла. У сироватці крові натщесерце досліджували вміст інсуліну, лептину, високочутливого С-реактивного білку та глюкози.

За нашими даними, прогресування інсуліно-резистентності у вагітних за наявності ожиріння

супроводжується достовірним підвищенням вмісту лептину в сироватці крові в залежності від маси тіла. У жінок з ожирінням ІІ ступеня вміст лептину в середньому в два рази був більший порівняно з показником контрольної групи (17,2±2,6 та 8,5±2,1 нмоль/л; p<0,001). У вагітних за наявності ожиріння спостерігався чіткий паралелізм зростання рівня сироваткового лептину та вмісту С-реактивного білку, який вважають маркером запальних змін. Отже, є підстави стверджувати, що лептин бере участь в патогенезі системного запалення у вагітних за наявності ожиріння.

Таким чином, дослідження лептину у вагітних з ожирінням характеризує розвиток системного запалення.

СПОСІБ ПРЕПАРУВАННЯ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

Д. П. Татаренко, К. П. Харченко

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

На сьогоднішній день щурі дуже часто використовуються в багатьох експериментах медицини, фізіології та біології. Досить важливим органом для дослідження є печінка, спосіб препарування у щурів якої нами не знайдено.

Метою роботи було описання способу препарування печінки у щурів за допомогою відпрепарування її від оточуючих органів задля оптимізації препарування даного органу та проведення експериментальних досліджень над ним.

Дослідження проводилось на білих лабораторних щурах з віварію нашого університету. Суть роботи полягала у розрізі черевної порожнини, відсіканні всіх зв'язок печінки, пересіканні ворітної вени та витяганні печінки цілком назовні. Відпрепарування печінки у щурів здійснювалося наступним чином: піддослідну твари-

ну вводили у ефірний наркоз та зручно фіксували на препарувальній дошці за допомогою ремнів. Після фіксування робили поперечний розріз черевної порожнини вздовж реберних дуг. Потім анатомічним пінцетом піднімали передню грудну стінку догори за мечоподібний відросток та відсікали вінцеву зв'язку. Після цього анатомічним пінцетом захватували печінку та гострим скальпелем пересікали печінково-шлункову, печінково-дванадцятипалу та печінково-ниркову зв'язки. Після цього анатомічним пінцетом відтягували печінку вниз та ножицями пересікали ворітну вену та відділяли печінку назовні.

Розроблений спосіб дозволяє раціонально препарувати печінку, відпрепарувуючи її від сусідніх органів, що дозволяє відділити її цілою, без пошкодження оточуючих органів.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ МАЗЕЙ НА УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КРОВИ

О. В. Ткачева, Л. В. Яковлева

Национальный фармацевтический университет

ВВЕДЕНИЕ.

Ожоговая травма III степени относится к распространенным повреждениям кожи с развитием неспецифической воспалительной реакции с переходом в структурно-метаболические наруше-

ния органов, тканей и систем. В реализации воспаления важное место занимают провоспалительные цитокины: ИЛ-1 и фактор некроза опухоли (ФНОα), которые стимулируют развитие воспалительной реакции. Местная консервативная

терапия ожоговых ран — одна из составляющих фармакотерапии обожженных. Поскольку не все мази, применяющие в комбустиологии и хирургии, отвечают современным требованиям по эффективности, составу и особенностям технологии, актуальным является разработка новых средств на гидрофильной основе с комплексным и разносторонним влиянием на раневой процесс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Эксперимент проводили на 84 белых беспородных крысах самцах массой 200-240 г. Животным под тиопенталовым наркозом на депилированном участке кожи спины, отступив от позвоночника 1,5 см моделировали ожог. Для этого использовали прибор с установленной температурной шкалой и электропаяльником, на конце которого крепится круглая металлическая пластина диаметром 2,5 см. Время экспозиции нагретой до 2000С контактной пластинки составляло 10 сек, что позволило получить ожоги стандартные по площади и глубине поражения кожи, отвечающие III степени. Экспериментальные животные были разделены на 5 групп: I — интактный контроль (ИК), II — положительный контроль (ПК), III и IV группы лечили мазями «Пролиддоксид» и «Биофлорин», а V группу — препаратом сравнения мазью «Альгофин»

(«Красная звезда»). Определение уровня провоспалительных цитокинов в крови крыс проводили на анализаторе «Libline-90» (Австрия) на 2-й, 9-й и 18-й дни.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Развитие раневого процесса на 2-й день сопровождалось многократным повышением уровня цитокинов: ИЛ1а в 32–35 раз, а ФНОа в 15 раз. Лечение ожогов мазями «Биофлорин» и «Пролиддоксид» способствовало положительной динамике цитокинов, достоверному снижению их значений по отношению к ПК и препарату сравнения на 18-й день. Восстановление уровня цитокинов и угнетение воспаления повлияли на ускорение заживления ожогов сравнительно с мазью «Альгофин». При лечении мазью «Биофлорин» заживление произошло на 21-й день, при лечении мазью «Пролиддоксид» — на 23-й день, под влиянием мази «Альгофин» — на 24-й день, в группе ПК — на 26 день.

ВЫВОДЫ.

Достоверное снижение уровня ИЛ1а и ФНОа под влиянием мазей «Биофлорин» и «Пролиддоксид» свидетельствует об эффективности местного лечения. По выраженности ранозаживляющего действия новые препараты превышают эффективность препарата сравнения.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ НА ПЕРЕБІГ АЛЬТЕРАТИВНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ФУРАЗОЛІДОН-ІЗАДРИНОВОГО МІОКАРДИТУ

К. М. Ткаченко

Національний фармацевтичний університет

Метою дослідження стало експериментальне вивчення антиальтеративних властивостей комбінації «Доксициклін з глюкозаміном» за умов розвитку фуразолідон-ізадринового міокардиту (ФІМ) у щурів. Дана експериментальна модель дозволяє також оцінити і кардіопротекторні властивості об'єкта дослідження.

Матеріали та методи. У дослідженні було використано 50 білих нелінійних щурів обох статей масою 170–180 г, що утримувались у віварії Національного фармацевтичного університету згідно зі стандартними санітарними вимогами. Всі тварини розподілялись на 5 дослідних груп по

10 тварин: 1 група — інтактний контроль; 2 група — контрольна патологія; 3 група — тварини, які отримували комбінацію доксицикліну з глюкозаміном в дозі 81,9 мг/кг; 4 група — тварини, що отримували глюкозамін в дозі 61,4 мг/кг; 5 група — тварини, яким вводили доксициклін у дозі 20,5 мг/кг.

Альтеративне ураження міокарду викликали сумісним введенням фуразолідону в дозі 200 мг/кг внутрішньоочеревинно та ізадрину 40 мг/кг внутрішньом'язово. Введення досліджуваних речовин проводили щоденно внутрішньошлунково на протязі 5 днів, починаючи з першого дня

відтворення патології. По закінченні експерименту у сироватці крові щурів визначали рівень АсАТ, у гомогенаті міокарду — вміст ТБК-реактивних. Дослідження електрофізіологічного стану міокарду включало визначення та аналіз таких показників ЕКГ, як частота серцевих скорочень (ЧСС), амплітуда зубця R, розташування сегменту ST. Для оцінки ступеню набряклості міокарду визначався ваговий коефіцієнт серця (ВКС). Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Ст'юдента та непараметричних методів аналізу.

За результатами дослідження комбінація доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом за ефективністю перевершувала ступінь активності її монокомпонентів, що було пов'язане із антиоксидантною (вплив на рівень ферментів, та інтенсивність процесів ПОЛ) і мембраностабілізуючою (динаміка показників ЕКГ) видами дії.

Висновки. Кардіопротекторна дія комбінації доксицикліну з глюкозаміну гідрохлоридом обумовлена кардіотропними властивостями глюкозаміну та протизапальною активністю доксицикліну і глюкозаміну гідрохлориду.

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ НА РОЗВИТОК НЕКРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ В СЕРЦІ

М. Р. Хара¹, О. В. Шкумбатюк²

¹*Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка,*

²*Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського*

Патологія серцево-судинної системи залишається головною причиною захворюваності та смертності працездатного населення. За різними даними видно, що кількість жінок, що страждають на ішемічну хворобу серця є більшою, ніж чоловіків. Значна кількість дослідників доводять важливу роль статевих гормонів у функціонуванні серця та розвитку його патології, що свідчить про необхідність дослідження ефективності різних лікувальних середників та встановлення подібної закономірності на рівні експериментальної терапії. Серед речовин з кардіопротекторною ефективністю активно вивчається гормон мелатонін, який не лише не виявляє токсичного впливу на організм, але й має антиоксидантні властивості, що свідчить про перспективність його більш широкого використання. Проте, статеві особливості його кардіопротекторної ефективності не досліджені.

Метою дослідження було встановити вплив мелатоніну на характер метаболічних та функціональних змін в серці при пошкодженні адреналіном залежно від статі. Досліди провели на статевозрілих самцях і самках щурів, некротичний процес у серці яких відтворювали введенням

адреналіну (1 мг/кг). Мелатонін вводили впродовж 7 днів експерименту (щоденно 1-разово).

Встановили, що розвиток некротичного процесу в серці на тлі мелатоніну відбувався при менш інтенсивному, ніж без такої корекції, накопиченні первинних та вторинних продуктів ПОЛ, чому сприяла вища активність СОД, каталази, ферментів системи глутатіону — глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. Окрім метаболічного, мелатонін виявляв і функціональний вплив. За результатами дослідження варіабельності серцевого ритму було встановлено зростання активності парасимпатичної та зменшення симпатичної ланок автономної нервової системи у формуванні ритму серця. Динаміка чутливості холінорецепторів свідчила про збалансування центральних та периферичних впливів за їх участі. Метаболічні ефекти мелатоніну були суттєвішими в самців, а функціональні — в самок. Усе це сприяло кращому збереженню структури міокарда шлуночків.

ВИСНОВОК.

Мелатонін виявляє кардіопротекторний вплив, інтенсивність якого на метаболічному, функціональному та структурному рівнях залежить від статі.

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА РОЗВИТОК НЕКРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ В СЕРЦІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

М. Р. ХАРА¹, З. С. ГОЛОВЕЦЬКА²

*Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка¹,
Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського²*

Загальновідомим є факт зростання ризику захворюваності на ішемічну хворобу серця зі збільшенням віку людини. При різкому зростанні частки старих людей у світі та особливостях маніфестації серцево-судинних захворювань в осіб похилого віку, особливо в жінок, виникає потреба глибшого вивчення гендерної складової у патогенезі даної групи захворювань та дослідження ефективності лікувальних середників із мінімальними побічними ефектами. Останнім часом активно вивчається мелатонін — гормон, якому притаманні антиоксидантні властивості. Метою даного дослідження було вивчити статеві особливості перебігу некротичного процесу в серці старих щурів на тлі мелатоніну. У досліді на старих самцях і самках щурів було встановлено, що попереднє введення мелатоніну сприяло зростанню участі блукаючого нерва у функціонуванні серця та зменшенню ролі

адренергічних механізмів. Менша, ніж без такої корекції, частота серцевих скорочень не забезпечувала відповідного захисту міокарда в умовах токсичного впливу адреналіну на нього. Про це свідчив вищий вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у міокарді шлуночків, активність СОД та каталази, дефіцит активності ферментів групи глутатіону. Ступінь таких змін був суттєвішим в самок щурів, що підтверджувало значну залежність перебігу патології серця та формування адаптаційно-компенсаторних реакцій від рівня жіночих статевих гормонів.

ВИСНОВОК.

Застосування мелатоніну з метою корекції розвитку некротичного процесу в серці старих щурів сприяє більш інтенсивному метаболічному та регуляторному дисбалансу. Ступінь таких порушень є суттєвішим у самок.

РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ЗДАТНОСТІ МЕЛАТОНІНУ РЕАЛІЗУВАТИ КАРДІОПРОТЕКТОРНІ ЕФЕКТИ

М. Р. ХАРА¹, Л. І. КУЧИРКА²

*¹Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка,
²Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського*

Встановлено, що частота виникнення ішемічної хвороби серця суттєво зростає в умовах гормонального дисбалансу, зокрема внаслідок дефіциту статевих гормонів. Ймовірність останнього з кожним роком збільшується, адже видалення статевих залоз іноді залишається безальтернативним методом порятунку життя при пухлинах. Це доводить актуальність наукових досліджень відповідного спрямування, перспективою яких є формування гендерного принципу в підході до лікування кардіоміопатій гормонального генезу. Останнім часом все більша увага приділяється препаратам, лікувальні ефекти яких не мають негативних ефектів завдяки природ-

ному походженню. Серед таких — мелатонін, який досліджується як перспективний кардіопротектор.

Метою дослідження було визначення кардіопротекторної ефективності мелатоніну на моделі адреналінового некрозу міокарда в гонадектомованих щурів залежно від статі. У досліді на статовозрілих самцях і самках щурів було встановлено, що попереднє введення мелатоніну сприяє зменшенню пошкодження міокарда шлуночків, що підтверджувалося менш інтенсивним нагромадження продуктів ПОЛ. Дефіцит статевих гормонів, викликаний двобічною гонадектомією, зменшував кардіопротекторну ефективність мелатоніну. За таких

умов уміст в міокарді шлуночків продуктів ПОЛ був більшим, ніж у тварин зі збереженими гонадами. За відсутності гормонопродукуючої активності гонад, розвиток некротичного процесу в серці на тлі мелатоніну супроводжується суттєвим зростанням ролі блукаючого нерва в регуляції ритму серця, що на тлі суттєвішого метаболічного дисбалансу свідчило про регуляторну дисфункцію. Ступінь таких порушень був суттєвішим у самок.

ВИСНОВОК.

Інтенсивність впливу мелатоніну на метаболічні та функціональні порушення в серці при пошкодженні його адреналіном залежать від статі тварин і, незважаючи на відсутність гонад, є більшими в самок, що свідчить про можливість гормону реалізувати свої ефекти як за участі статевих гормонів, так і незалежно від них.

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ СТРЕСРЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ЗМІШАНОЇ СЛИНИ

В. Ю. ЦУБЕР, Л. М. ТАРАСЕНКО

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»

Зростання ролі емоційного стресу у розвитку найбільш поширених неінфекційних захворювань людства ставить задачу удосконалення методів оцінки стресреактивності організму з урахуванням статевих відмінностей.

Мета даної роботи — дослідити біохімічні зміни змішаної слини у молодих осіб залежно від статі за умов психоемоційного напруження.

Обстежено 103 молодих людей — 45 чоловіків, 58 жінок віком 18–22 роки. Використана природна модель емоційного напруження (складання іспиту). Визначення біохімічних показників слини проведено у стані відносного спокою (контрольна група) та безпосередньо перед складанням іспиту (дослідна група). В нестимульованій слині, зібраній натщесерце, досліджували вміст загального білку, сіалових кислот та молекул середньої маси. Ступінь психоемоційного напруження обстежених осіб визначали на підставі оцінки ситуативної та особистісної тривожності (СТ, ОТ) за шкалою Спілбергера-Ханіна та вмісту кортизолу в слині

(метод ІФА). Установлене достовірне більш виражене зростання рівня СТ та ОТ у осіб жіночої статі під впливом емоційного стресу порівняно з особами чоловічої статі. При цьому вміст сіалових кислот у слині жінок достовірно збільшився на 190%, а у чоловіків — на 70% відносно контрольних значень. За цих умов вміст загального білку в слині осіб обох статей суттєво не відрізнявся. Отже, сіаломуцини слини реагують на дію стресорних чинників підвищенням розпаду, який більше виражений у осіб жіночої статі. Психоемоційне напруження у жінок супроводжувалося достовірним збільшенням на 18,4% вмісту молекул середньої маси, тоді як у чоловіків даний показник значимо не відрізнявся від контрольних величин.

Таким чином, емоційний стрес посилює деградацію білків слини, яка більш виражена у жінок порівняно з чоловіками, що дозволяє використовувати показники слини як інформативні критерії стресреактивності організму в залежності від статі.

ПОШУК АНТИАГРЕГАНТНИХ СПЛУК СЕРЕД ПОХІДНИХ 7-β-ГІДРОКСИ-γ-(4'-ХЛОРОФЕНОКСИ)ПРОПІЛКСАНТИНУ

О. Ю. ЧЕРЧЕСОВА, І. М. РОМАНЕНКО, М. І. РОМАНЕНКО, І. М. БЛАЙ, А. О. ОСТАПЕНКО

Запорізький державний медичний університет

Відомо, що проблема артеріальних тромбозів є одним з важливих факторів, що визначають результат захворювань серцево-судинної системи. Саме тромбози служать причиною раптової смерті, інфаркту міокарда, ішемічного мозкового інсульту, судинних ускладнень цукрового діа-

бету, інших порушень кровопостачання органів і тканин.

Незважаючи на те, що за останній час досягнуто значного прогресу в вивченні механізмів гемореологічних порушень арсенал засобів фармакологічної корекції незначний. До найбільш

ефективних препаратів належать: пентоксифілін, клопидогрель, тиклопідин, антагоністи кальцію, аспірин, гіполіпідемічні засоби. Однак, недостатня ефективність і наявність небажаних ефектів (диспепсичні явища, кишкові кровотечі, шкірні геморагії, лейкопенія, тромбоцитопенія, агранулоцитоз) обмежують їх застосування.

З даних літератури відомо, про наявність у похідних ксантину периферичної вазодилаторної, антиагрегантної, кардіопротекторної, гіполіпідемічної дії, що робить даний клас перспективним у створенні нових сполук з антитромбогенної і одночасно антиагрегантної активностями.

З цією метою нами був здійснений синтез неописаних раніше 8-амінозаміщених 7-β-гідроксигу-(4'-хлорофенокси)пропілксантинів при короткочасному кип'ятінні 8-бромопохідних ксантину з первинними аліфатичними та вторинними гетероциклічними амінами.

ВЛИЯНИЕ НАТРИЯ НУКЛЕИНАТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

А. Н. ШЕВЧЕНКО, Л. И. КОВАЛЕНКО

Харьковский национальный медицинский университет

АКТУАЛЬНОСТЬ.

Острое воспаление является защитно-приспособительной реакцией, а хроническое воспаление отличается утратой защитно-приспособительного значения. Лечение хронического воспаления чрезвычайно затруднено.

Важнейшим направлением в исследованиях воспаления является выяснение механизмов хронизации процесса, разработка принципов и методов предупреждения и лечения хронического воспаления.

Принципиальная возможность профилактики и лечения хронического воспаления является стимуляция гемопоза, увеличение продукции функционально активных лейкоцитов.

Одним из перспективных средств в этом направлении может быть натрия нуклеинат. В то же время возможность применения натрия нуклеината для профилактики хронического воспаления не изучалась.

Цель исследования — оценить влияние натрия нуклеината на функциональную актив-

Для підтвердження будови синтезованих речовин використані методи елементного аналізу, ІЧ-спектрофотометрії, ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Гостра токсичність (ЛД₅₀) була вивчена за методом Кербера при внутрішньошлунковому введенні синтезованих сполук. За результатами дослідження було встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова одержані речовини відносяться до IV класу токсичності — малотоксичні сполуки.

Антиагрегантну активність вивчали на фоні експериментальної гіперліпідемії. Дослідження агрегації тромбоцитів проводили за гемолізат-агрегаційним тестом з бідною та багатою тромбоцитами плазмою. В якості еталонів порівняння використовували аторвастатин, аспірин та пентоксифілін. Були знайдені сполуки, що виявляють значно сильнішу антиагрегантну дію ніж еталони порівняння.

ность лейкоцитов периферической крови при вторично хроническом воспалении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Вторично хроническое воспаление у 132 крыс-самцов линии Вистар массой 180-200г вызывали подкожным введением в область бедра 10мг λ-карагинена («Sigma», США). Натрия нуклеинат вводили под кожу спины в дозе 12 мг ежедневно в течение всего эксперимента. Животных забивали декапитацией под наркозом на 6-й час, 1-е, 2-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки воспаления. О функциональном состоянии лейкоцитов крови судили на основании активности их маркерных ферментов в клетках (нейтрофилов — миелопероксидаза и кислая фосфатаза, моноцитов — α-нафтилацетат-эстераза, лимфоцитов — кислая фосфатаза и α-нафтилацетат-эстераза), которые определяли цитохимически по методам Грехема-Кнолля, Леффлера и Берстона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Показано, что при воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса функциональная активность лейкоцитов выше в ранние сроки вторично хронического воспаления, а в более поздние сроки — ниже. Усиленная против естественного течения воспаления функциональная активность лейкоцитов обеспечивает более эффективную элиминацию флогогена, в связи с чем хронизация воспаления уменьшается, что проявляется в снижении дальнейшего вовлечения лейкоцитов в процесс. Применение натрия нуклеината больше сказывается на функцио-

нальной активности нейтрофилов и лимфоцитов и меньше — моноцитов. Повышение функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов во многом связано с активацией лейкопоза, миграции лимфоцитов и поступлением в кровь новых лейкоцитов.

ВЫВОД.

По данным функциональной активности лейкоцитов периферической крови в динамике вторично хронического воспаления, применение натрия нуклеината приводит к уменьшению хронизации процесса, что свидетельствует о возможности использования препарата для профилактики хронического воспаления.

МЕХАНІЗМ ДІЇ ІНТЕРФЕРОНУ-А НА КУМУЛЮСНІ КЛІТИНИ ФОЛІКУЛІВ МИШЕЙ В УМОВАХ ІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ

О. А. ШЕПЕЛЬ¹, С. А. ЦИГАНКОВ², Р. І. ЯНЧІЙ¹

¹*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України*

²*Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя*

Відомо, що активація фосфатидилінозитол 3-кіназа (PI3K) залежного шляху в кумулюсних клітинах необхідна для мейотичного дозрівання ооцитів. Раніше нами встановлено, що при імунному ушкодженні яєчників відбувається посилення апоптотичної і некротичної загибелі фолікулярних клітин, і, як наслідок, пригнічення процесу мейозу. Додавання інтерферону α (IFNα) до середовища культивування кумулюсно-ооцитарних клітинних комплексів зменшувало загибель фолікулярних клітин і призводило до збільшення кількості ооцитів на стадії метафази II. Оскільки PI3K є ланкою однієї із сигнальних систем, яка опосередковує вплив IFNα на гранулярні клітини у інтактних мишей, метою роботи було дослідити залучення PI3K-залежного шляху в механізм дії IFNα на життєздатність та загибель клітин кумулюсного оточення ооцитів за

умов імунного ушкодження яєчників, індукованого введенням аlogenного антигену. В експериментах було використано специфічний інгібітор PI3K — LY294002 у концентрації 10 μM.

Встановлено, що порівняно з показниками, отриманими в результаті імунізації, додавання LY294002 до середовища культивування, що містить IFNα (100 нг/мл), нівелює стимулюючу дію IFNα і викликає зменшення кількості живих та збільшення числа апоптотичних клітин. Некротичний показник вірогідно не змінюється.

Отримані дані свідчать, що у результаті введення аlogenного антигену в кумулюсних клітинах відбувається порушення PI3K-залежного сигнального шляху. IFNα викликає активацію PI3K і таким чином знижує показник клітинної загибелі за умов імунного ушкодження яєчників.

КАРДІОПРОТЕКТОРНА ДІЯ ОМЕГА-3 ПНЖК ПРИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОМУ УРАЖЕННІ СЕРЦЯ ТА ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

А. М. ШИШ, А. С. ЖУКОВСЬКА, О. О. МОЙБЕНКО

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Останнім часом особливу увагу приділяють вивченню дії препаратів, що містять ω -3 ПНЖК та можуть застосовуватися в профілактичних цілях при серцево-судинних захворюваннях. Метою нашої роботи було дослідження механізмів кардіопротекторної дії ω -3 ПНЖК при ішемічно-реперфузійному ураженні серця та цукровому діабеті.

Тварини були розподілені на 2 групи: 1) контрольні; 2) тварини, яким попередньо вводили препарат ω -3 ПНЖК (0,1 мл на 100 г маси щура, 4 тиж). Ізольовані серця щурів перфузували за методом Лангендорфа (ішемія — 20 хв., реперфузія — 40 хв.). Також тваринам цих груп моделювали експериментальний цукровий діабет. Експресію Сх-43 визначали методом Western-blotting та імунофлуоресцентного аналізу.

Було показано, що введення в раціон препарату ω -3 ПНЖК зменшує вміст ω -6 ПНЖК (зокрема арахідонової кислоти — на 19%) та збіль-

шує вміст ω -3 ПНЖК. Виявлено стимулюючий вплив омега-3 ПНЖК на експресію білка Сх-43 як в умовах контролю, так і після ішемії-реперфузії міокарда. За умов експериментального цукрового діабету застосування ω -3 ПНЖК відновлює рівень експресії білка Сх-43 до контрольного рівню, що є суттєвим для функціонування каналів. Результати імунофлуоресцентного дослідження свідчать, що за впливу ω -3 ПНЖК нормалізується розподіл та відновлення взаєморозташування субклітинних структур і експресії білка Сх-43. Нами показано, що попереднє застосування ω -3 ПНЖК впливає на експресію генів, що приймають участь у патогенезі ішемії-реперфузії та цукровому діабеті.

Таким чином, ω -3 ПНЖК модулюють експресію білка, нормалізують розподіл та структурні зміни Сх-43, як за умов ішемії-реперфузії, так і за умов цукрового діабету, тим самим підсилюючи міжклітинний взаємозв'язок, що є необхідним для запобігання аритмій.

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ІНТОКСИКОВАНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

І. М. ЯРЕМІЙ, Н. В. ДАВИДОВА, Н. П. ГРИГОР'ЄВА

Буковинський державний медичний університет

Мелатонін забезпечує хроноритмологічну організацію фізіологічних функцій, регулює обмін речовин, імунний та антиоксидантний статус організму (Барабой В.А., 2000). Інтوكсикація щурів CCl_4 супроводжується метаболічними порушеннями аналогічними до таких у людей, що хворіють на гепатит (Губський Ю.І., 2000). Метою дослідження було вивчити вплив мелатоніну на біохімічні показники печінки CCl_4 -інтоксикованих щурів.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 30 білих нелінійних щурах-самцях (*Ratus ratus*

L.) масою 180 ± 10 г, яких було розділено на три групи 1 — інтактні; 2 — щурі, яким повторно (через день) перорально у вигляді 50% олійного розчину вводили CCl_4 в дозі 0,25 мл/100 г маси щура; 3 — щурі, яким після останнього введення CCl_4 , щоденно (о 8-й годині ранку) перорально вводили «Мелатонін» («Sigma», США) в дозі 3 мг/кг маси щура. Впродовж експерименту тварини знаходилися в умовах рівнодення. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією на 7-му добу від початку введення мелатоніну. У гомогенатах печінки

щурів визначали вміст малонового альдегіду, активності глюкозо-6-фосфатази й аргінази.

Результати. На 7-му добу після інтоксикації в печінці гепатитних щурів на 42%, порівняно з інтактними, зріс уміст малонового альдегіду та на 32 і 37% відповідно знизилася активності глюкозо-6-фосфатази й аргінази. Показники CCl_4 -інтоксикованих щурів, яким упродовж 7 днів поспіль вводили мелатонін,

не відрізнялися вірогідно від показників інтактних щурів.

ВИСНОВОК.

Щоденне, впродовж тижня, пероральне введення CCl_4 -інтоксикованим щурам «Мелатоніну» («Sigma», США) в дозі 3 мг/кг маси щура сприяє стабілізації в печінці тварин процесів вільнорадикального окислення ліпідів, глюкогенезу та сечовиноутворення.

СПОСОБЫ ОПТИМИЗАЦИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА СОВРЕМЕННЫХ КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

С. В. МИСЮРЕВА, В. В. ПРОПИСНОВА, Н. С. МАЗУР

Национальный фармацевтический университет

ВВЕДЕНИЕ.

С каждым годом в практику клинико-диагностических лабораторий внедряется все больше коагулологических тестов и растет число данного вида анализов. Вопросы качества преаналитического этапа исследования гемостаза недостаточно отражены в справочной и методической литературе. Это связано с разнообразием факторов, влияющих на результат, и со сложной организацией исследуемой системы, включающей как клеточные, так и молекулярные компоненты.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

При коагулологических исследованиях система для взятия проб должна обеспечивать точное соотношение крови и раствора цитрата натрия (1:9). В сравнительных исследованиях было показано, что избыток цитрата натрия может вызывать изменения в результатах скрининговых тестов на определение протромбинового индекса и активированного частичного тромбопластинового времени с удлинением времени теста. Поэтому оптимальным вариантом является закрытая вакуумная система, позволяющая провести точное дозирование порции крови.

Взятие венозной крови должно минимально травмировать клетки крови и ткани. Система должна иметь особую заточку иглы для венепункции. Время наложения жгута на руку пациента — менее 1 мин. После взятия крови следует провести медленное и осторожное ее перемешивание в пробирке переворачиванием на 180° не более 4–5 раз. Категорически нельзя взбалтывать про-

бу. Сразу после взятия крови следует поместить ее в штатив термokonтейнера или провести центрифугирование. Нельзя открывать пробирки до начала аналитической стадии исследования.

Необходимо соблюдать правильный температурный режим хранения, транспортировки и обработки проб. Пробы крови для коагулологических исследований следует хранить с использованием термokonтейнеров при постоянной температуре в пределах $22-24^\circ\text{C}$. Исключение составляют отдельные тесты для определения очень нестабильных аналитов (например фактор VIII), для которых преаналитический этап следует проводить в условиях низких температур.

Время доставки пробы для исследования в лабораторию не должно превышать 45 мин. При необходимости более длительной транспортировки и хранения следует использовать специальную систему стабилизаторов или получить свободную от тромбоцитов плазму и провести ее замораживание во второй пробирке для более длительного хранения.

На всех стадиях преаналитического этапа следует избегать резкого изменения температуры, длительного контакта с атмосферным воздухом, прямого воздействия солнечного света, механических воздействий и вибрации.

ВЫВОД.

Таким образом, выполняя все выше перечисленные рекомендации, можно обеспечить высокое качество коагулологических тестов на всех этапах исследования.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ АНТАЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В. А. МОРОЗ, Е. Ф. ГРИНЦОВ, Т. С. САХАРОВА

Национальный фармацевтический университет

ВВЕДЕНИЕ.

По данным литературы, в промышленно развитых странах симптомы изжоги и связанные с ней расстройства здоровья отмечают с разной периодичностью 10–50% населения. А постоянно нуждающихся в антацидных препаратах (АП) пациентов в мире, по разным оценкам, — от 12 до 280 млн. Изжога наиболее часто наблюдается при ГЭРБ, при хроническом гастрите типа В, при хроническом холецистите, грыже пищеводного отверстия диафрагмы, дискинезиях ЖКТ и др. В то же время для АП характерен целый ряд побочных эффектов, напрямую связанных с физиологией их механизма действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Для оптимизации лечения состояний и заболеваний с использованием АП были проанализированы публикации Национального института здоровья США по побочным эффектам АП (сообщения, мета-анализы и др.) за последние 10 лет сообразно групп препаратов, используемых без рецепта.

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Традиционно безрецептурные АП подразделяются по основному механизму действия на всасывающиеся и невсасывающиеся. Деление обосновано наличием побочных эффектов, определяющихся физиологией подавления кислотности желудка. Для первой группы, где значимые побочные реакции отмечаются на уровне 4–9%, характерны: а) «феномен рикошета» — увеличение кислотопродукции по окончании действия АП физиологической ре-

акцией на ощелачивание среды. Это вынуждает к приему сравнительно больших доз антацида, что увеличивает частоту побочных эффектов; б) Изменение кислотно-щелочного баланса в сторону метаболического и системного алкалоза, что опасно при патологии сердца, дыхательной системы, нефротическом синдроме и др.; в) Замедление эвакуации содержимого желудка, нежелательное у пожилых пациентов и беременных со склонностью к запорам. Для невсасывающихся антацидов побочные эффекты более редки (около 1,5%), однако их разновидностей заметно больше: а) Накопление ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и Al^{3+} , нежелательное при почечной недостаточности и опасное для всех паренхиматозных органов; б) Возможность развития энцефалопатии и артропатии при приеме алюминийсодержащих АП; в) Камнеобразование в почках из-за трисиликата магния; г) Карбонат кальция в сочетании с молочными продуктами обуславливает гиперкальциемию и молочно-щелочной синдром; д) Дефицит фосфатов за счет снижения их абсорбции в ЖКТ; е) Усиление моторики гладкомышечных органов солями Mg^{2+} (особенно опасно у беременных); ж) Развитие гипохлоргидрии и хронического панкреатита на фоне ингибиторов протонной помпы, а также вторичный дисбактериоз и очаги вторичной инфекции.

Выводы. Побочные эффекты АП в большинстве случаев неотделимы от механизма их действия. Несмотря на то, что все они предназначены для эпизодического приема, использование всасывающихся АП, помимо этого, ограничено при беременности, сердечной недостаточности, гипертензии и др.

Статті

Рецензенти рубрики:

Загайко А. Л.
д. біол. н., професор

Кононенко Н. М.
д. мед. н., професор

Штриголь С. Ю.
д. мед. н., професор

Дроговоз С. М.
д. мед. н., професор

Малоштан Л. М.
д. біол. н., професор

Філімонова Н. І.
д. мед. н., професор

Журавель І. О.
д. хім. н., професор

Набока О. І.
д. біол. н., професор

Кіресь І. В.
д. мед. н., професор

Тюпка Т. І.
д. мед. н., професор



AREZKI BITAM¹⁻², BELKIS ABDESSEMED²

¹ Département de Nutrition Humaine. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach, Algérie.

² Département de Biologie. Université de Blida, Algérie.

ANTAGONISTIC EFFECT OF THE LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE CAMEL MILK ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN YOGHOURT MANUFACTURING

This paper deals with the lactic bacteria found in the raw camel milk producing antibacterial substances. Samples of milk were obtained from female camels of herds from nomads living in the south of Algeria. The antibacterial activity of the bacteria was tested on Staphylococcus aureus strains and their role as natural bio-preservatives in the yoghurt was assessed.

Among the seven (07) strains of lactic bacteria which were isolated from camel milk Lb. fermentum (Lc17) presented the highest antagonistic effect on S. aureus. It was verified that there was no interaction between the lactic ferments of yoghurt and Lb. fermentum and no modification of the acidity of the yoghurt. The inhibition of Staphylococcus aureus by yoghurt containing a charge of 5.87 log cfu of Lb. fermentum was compared with that of yoghurt constituted exclusively by lactic ferments, after 4 hours of incubation in a mixed culture.

Key words: antagonism, lactic bacteria, biologic preservatives, camel, *Staphylococcus aureus*, yoghurt.

INTRODUCTION

The lactic acid bacteria enjoy considerable interest because their antagonistic properties make them particularly useful as biological preservatives (Yousef et al., 2003). The microflora of bovine milk has been extensively studied, that of camel milk, instead, has attracted a much restricted attention and just a limited number of studies have been published (Siboukeur 2006).

Many strains of lactic bacteria are currently being studied to evaluate their utility in the prevention or cure of diseases associated with the consumption of yoghurt. Beneficial effects have been detected regarding: digestion of lactose (De Vrese et al., 2001), symptoms of diarrhea (Heyman et al., 2000), inflammatory bowel diseases (Meydani et al., 2000) and, possibly, gastric ulcers (Wang et al., 2004) and the regulation of the blood lipid level (Jacqmain et al., 2003).

OBJECTIVES

The aim of this work was isolating new strains of bacteria from camel milk capable of inhibiting pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* and highlighting their antagonistic activities so that they can be applied as biological preservatives in a dairy product: the yoghurt.

MATERIAL AND METHODS

Milk collection

Samples of raw camel milk coming from the Djelfa region (south of Algeria) were collected. Each one was constituted by 150 ml of milk collected directly from the breast of the animal.

Decimal dilutions were prepared using sterile Ringer solution. A volume of 0.1 ml of each dilution was used for double layer surface plating on MRS medium, which was then incubated at 30°C and in the dark for 72h (International Federation of Milk). The reference bacterial strain was *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Culture media and growth conditions

- MRS agar medium marketed by the Pasteur Institute of Algeria. It was incubated at 30°C during 48 to 72 hours for the growth of lactobacillus.

- Medium Chapman, agar or broth, incubated at 37°C during 24 hours for *Staphylococcus aureus*.

- TSA medium incubated at 37°C during 24 hours.

Purification and identification of lactic acid bacteria

The purification of the isolated bacteria was performed according to the method described by Karam and Karam (1994). Bacteria that showed a Gram positive stain and lacked catalase activity were separated

for identification. They were submitted to a series of simple tests for preliminary identification: growth in MRS medium with addition of NaCl, growth at different temperatures and search of the homo- or hetero-fermenting type by the classical method (Petraux et al. 1981; Guiraud et al., 1998).

Demonstration of the antagonistic effect of isolates against *Staphylococcus aureus*

The lactobacillus species were inoculated in tubes containing 9 ml of MRS medium, which were incubated during 18h at 30°C.

Staphylococcus aureus ATCC 29213 was grown in Chapman broth and incubated for 18h at 37°C.

The surface of Petri dishes containing TSA medium was covered with a few milliliters of preliminary culture of *Staphylococcus aureus* strain and allowed to dry for 30 minutes at 37°C.

Discs of blotting paper were soaked with the preliminary culture of lactic acid bacteria. They were left to dry and then placed on TSA media plates which, in turn, were allowed to dry for 30 minutes. Then they were left at 4°C for 4 hours to ensure the diffusion of the substances responsible for the interaction and finally incubated at 37°C for 24 hours.

The inhibition of the indicator strain results in the formation of clear zones around the disks, whose diameter (in mm) is measured from the periphery of the disc (Tadesse et al., 2004).

Effect of the camel milk isolates on the yoghurt ferments

Two flasks with a volume of 110 ml of reconstituted milk, which had been sterilized in the autoclave at 120°C for 20 minutes, were inoculated with the strains of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, approximately 0.1023 g / l of milk (AFNOR). A volume of 1 ml of camel milk isolates that showed strong inhibitory activity (approximately 5.87 log CFU / ml) against *Staphylococcus aureus* was added to one of the two bottles (bottle 1). Both flasks were incubated at 44°C for 4h.

Growth kinetics

Sampling at increasing time intervals (1h, 2h, 3h, 4h) was followed by the preparation of decimal dilutions in Ringer solution. Then 0.1 ml of the appropriate dilution was plated on MRS medium for enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* ferment and M17 for *Streptococcus thermophilus* ferment count.

After studying the characteristics that differentiate the species of lactic acid bacteria (isolates of camel milk and yoghurt ferment *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus*) belonging to the same genus *Lactobacillus*, growth in the presence of 6.5% NaCl was shown specific for the isolate but not for the lactic ferment of the yoghurt.

In order to eliminate any confusion, the count of camel milk isolate was performed on MRS medium with addition of 6.5% NaCl. The acidity produced by pure strains was assessed by titration, sampling 10 ml from each bottle (Mom et al., 2010).

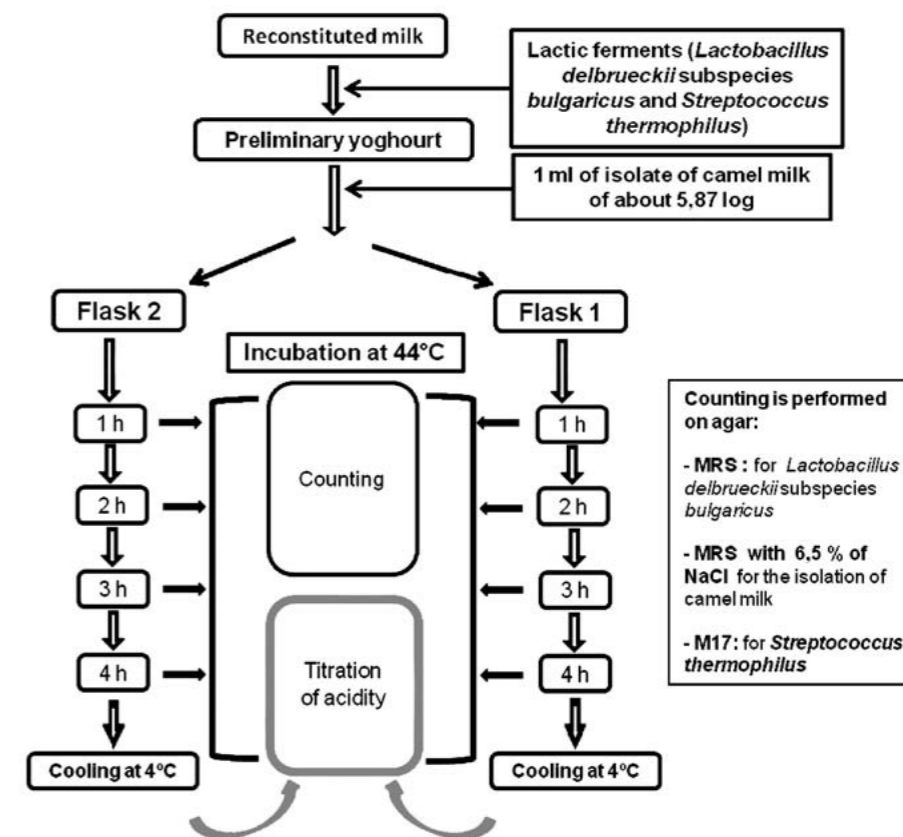


Figure 1. Experimental proceeding for the preparation of a yoghurt to which the isolate of camel milk.

Effect of the camel milk isolates on the behavior of *Staphylococcus aureus* in the yoghurt

Preliminary culture preparation

With each isolate of camel milk and *Staphylococcus aureus* were inoculated 10 ml of sterile skim milk. The preliminary cultures were prepared by incubation at 30°C until coagulation.

Preparation of the preliminary yoghurt

The preliminary yoghurt was prepared from reconstituted milk sterilized by autoclaving at 120°C for 20 minutes and inoculated with 0.01125 g / ml of lyophilized ferments.

The preliminary yoghurt was then dosed in 2 bottles:

Bottle 1 was inoculated with 1 ml of *Staphylococcus aureus* from about 5.05 log CFU / ml.

Bottle 2 was inoculated with 1 ml of *Staphylococcus aureus* from about 5.05 log CFU / ml and 1 ml of isolates of approximately 5.87 log CFU / ml.

Both flasks were incubated at the same time at 37°C for 5 h to achieve maximum growth of *Staphylococcus aureus*.

Samples were taken at regular intervals (1h, 2h, 3h, 4h, 5h) and decimal dilutions (10⁻¹ to 10⁻⁴) from the bottles were performed in order to make a count of *Staphylococcus aureus* on medium Chapman, which was then incubated at 37°C for 24 h.

Furthermore 10 ml extractions were performed to measure pH.

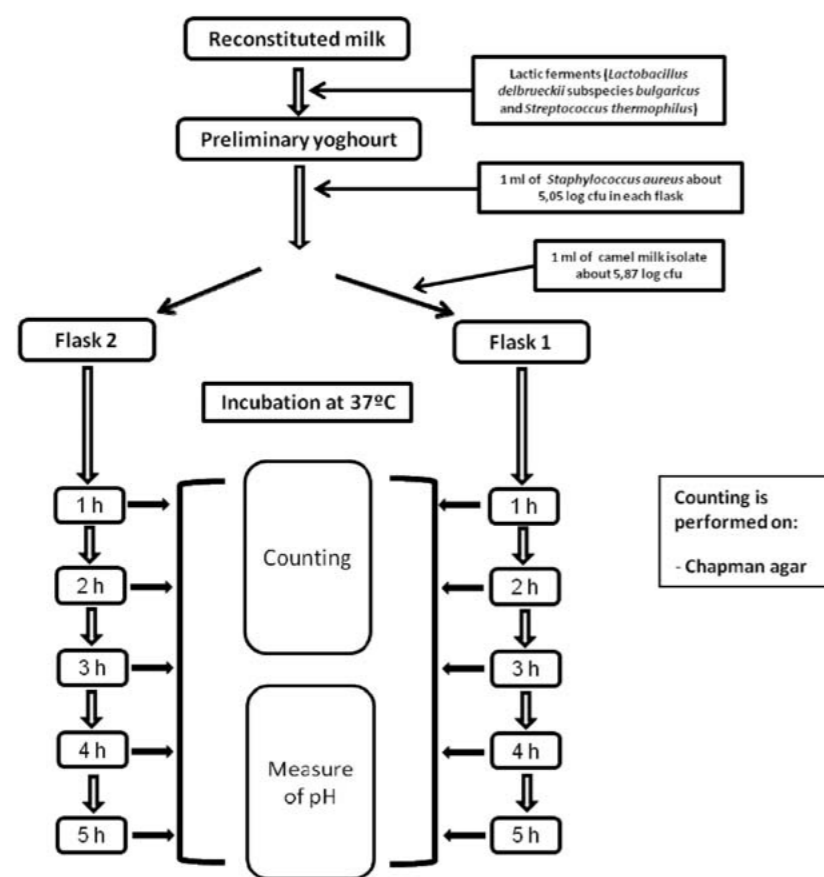


Figure 2. Diagram showing the preparation of a contaminated experimental yoghurt.

RESULTS

Characterization of isolates

The physiological and biochemical characteristics of the isolates are shown in the table below.

Among the 23 strains isolated from camel milk, 7 isolates were taken into account, all being Gram +, motionless, catalase negative and possessing bacillary form.

Strains LC4, LC16, Lc17 and Lc22 of *Lactobacillus* are classified within the group Betabacterium because they produce CO₂ on glycoside medium.

Strain LC4 shows growth at 10°C and is close to the species *Lactobacillus viridiscens*.

Strain LC16 develops at 45°C and ferments arabinose and raffinose, being close to the species *Lactobacillus buchneri*, while Lc17 hydrolyzes arginine and is close to the species *Lactobacillus fermentum*.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE ISOLATES FROM CAMEL MILK.

Table 1

Characteristic	Isolate						
	Lc3	Lc4	Lc7	Lc16	Lc17	Lc22	
Lc2							
Gram	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	-	-	-	-	-	-	-
Morphology	bacillus	bacillus	bacillus	bacillus	bacillus	bacillus	bacillus
CO ₂ on glucose	-	-	+	-	+	+	-
Growth at 45°C	+	+	+	+	+	+	-
Growth at 10°C	-	-	+	-	+	+	+
Growth with NaCl	2%	+	+	+	+	+	+
	3%	+	+	+	+	+	+
	6,5%	+	+	+	+	+	+
ADH	-	-	-	+	+	+	+
Esculine hydrolysis	+	-	-	-	-	-	+
Survival at 60°C / 30 minutes	+	+	+	+	-	+	+
Glucose	+	-	-	+	+/-	+	+/-
Raffinose	+	-	-	+	+	+	+
Lactose	+	+	-	+	+	+	+
Cellubiose	+	-	-	+	+	+	+
Mannitol	+	-	-	+	+	+	+
Arabinose	+	-	-	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	+	-	+	+

The streptobacterium group, which differs from the preceding one because there is no production of gas, is represented by strain Lc22, which grows at 10°C but not at 45°C.

Strain Lc22 ferments the group of sugars which were tested and is close to the species *Lactobacillus plantarum*.

Strains LC2, LC3 and LC7 grow at 45°C but not at 10°C and do not produce CO₂, and thus they are classified into the group Thermobacterium.

Strain Lc2 ferments the raffinose, hydrolyzes esculin and is close to *Lactobacillus acidophilus*,

while strain Lc3 ferments lactose and is close to the species *Lactobacillus helveticus*.

Strain Lc77 hydrolyzes arginine and is close to the species *Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis*.

The large number of isolates which were obtained can be explained because the bacteria were incubated for 5, 7, 9 and 16 days.

Antagonistic effect of camel milk isolates on *Staphylococcus aureus*

The diameter registered for the inhibition zones varied from 07 mm (strain Lc2 showed the lowest activity) to 13 mm (the highest activity was recorded for strain Lc17).

DIAMETER OF THE INHIBITION ZONES OF THE 7 ISOLATES FROM THE CAMEL MILK IN FRONT OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS BY THE METHOD OF DIFFUSION ON TSA MEDIUM.

Table 2

Strain	TSA
Lc 2	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 07 mm
Lc 3	<i>Lactobacillus helveticus</i> 11 mm
Lc 4	<i>Lactobacillus viridiscens</i> 00 mm (no inhibition)
Lc 7	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp <i>lactis</i> 11 mm
Lc 16	<i>Lactobacillus buchneri</i> 11 mm

Continuation of table 2

Lc 17	<i>Lactobacillus fermentum</i>	13 mm
Lc 22	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 mm

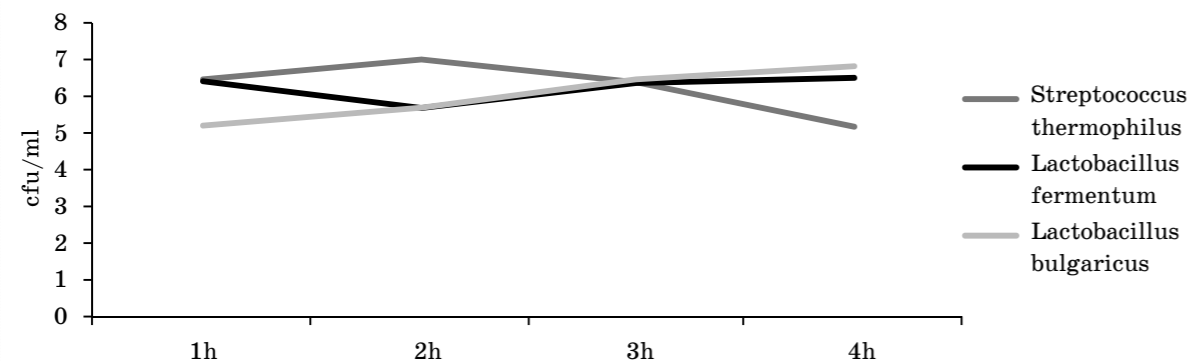
Interactions between *Lactobacillus fermentum* and yoghurt ferments

Count of yoghurt ferment and *Lactobacillus fermentum* after 4 hours in mixed culture

The growth of lactic acid bacteria was stationary after 4 hours of incubation both in camel milk

(*Lactobacillus fermentum*) and in the yoghurt (*Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*).

The number of lactic acid bacteria varied between 7.00 and 5.17 log CFU / ml.

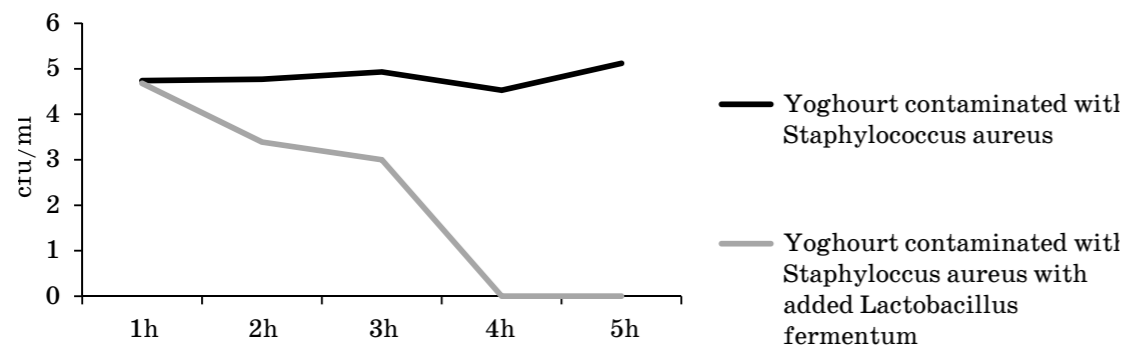


Growth kinetic of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in a mixed culture in the yoghurt

Figure 5. Growth kinetic of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in a mixed culture in the yoghurt.

The addition of *Lactobacillus fermentum* isolated from camel milk has no inhibitory effect against yoghurt ferments (*Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*).

Biochemical analysis After 4 h of incubation the acidity increased significantly, reaching 58°D in the yoghurt which was inoculated with *Lactobacillus fermentum*. After cooling, as a means for interrupting fermentation, the acidity values of both types complied with AFNOR standards.



Growth kinetic of *Staphylococcus aureus* in isolated and mixed culture with *Lactobacillus fermentum*

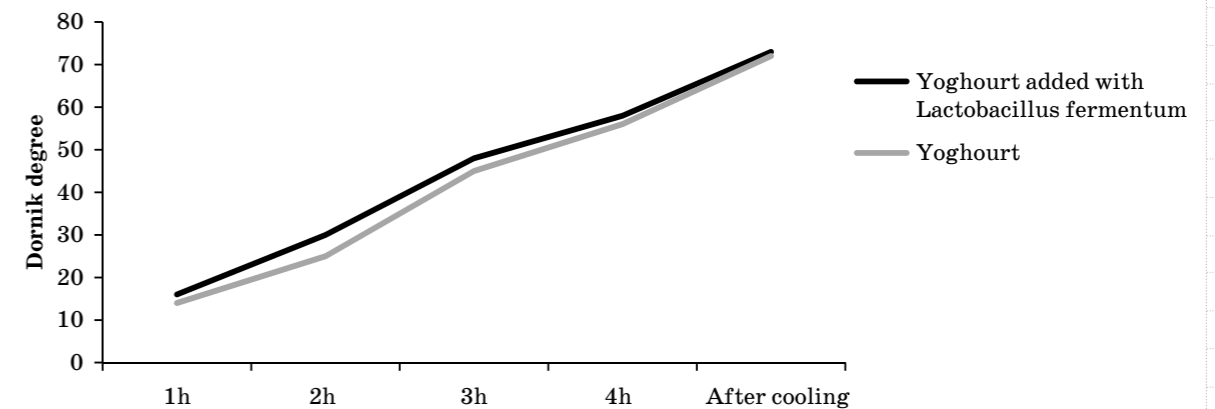
Figure 6. Growth kinetic of *Staphylococcus aureus* in an isolated and mixed culture with *Lactobacillus fermentum*

Effect of *Lactobacillus fermentum* on the behavior of *Staphylococcus aureus* in the yoghurt

It was not detected any antagonist effect on *Staphylococcus aureus* which was incorporated at about 5.05 cfu / ml in bottle 1 (yoghurt without *Lactobacillus fermentum*). By contrast, after addition of *Lactobacillus fermentum*, a decrease was

detected after only 2 hours of incubation and after 4 hours there is a lack of growth of *Staphylococcus aureus*, which demonstrates the inhibitory effect of *Lactobacillus fermentum*.

If a high burden of *Staphylococcus aureus* (> 5.5 log CFU / ml) is introduced, the effect of *Lactobacillus fermentum* is not noticeable.



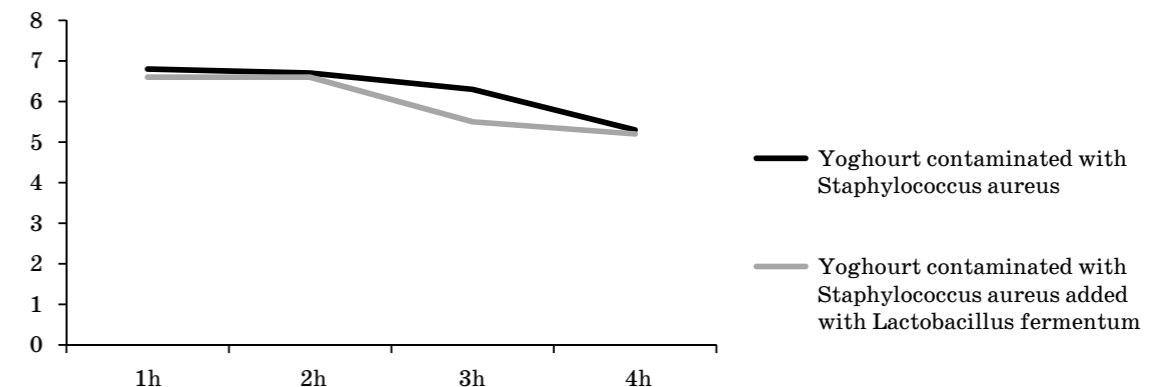
Evolution of the acidity during the maturation of both types of yoghurt expressed in Dornik degrees

Figure 7. Evolution of the acidity during the maturation of both types of yoghurt expressed in Dornik degrees.

Biochemical analysis

Whereas pH is stable in both types of yoghurt during the 2 hours of incubation, afterwards, a

sharper decrease of pH is detected for both types of yoghurt.



Evolution of pH during the maturation of the two types of yoghurt contaminated with *Staphylococcus aureus*

Figure 8. Evolution of pH during the maturation of the two types of yoghurt contaminated with *Staphylococcus aureus*.

The final pH is a little high, since it has a value of 5.2 in comparison with the pH of common yoghurt which is 4.34. This is a consequence of the incubation temperature (37°C), which is lower than the temperature of maturation of the yoghurt (44°C).

The identified species *Lactobacillus plantarum* is only represented by the strain Lc22 while *Lactobacillus* strains isolated by Karam et al. 1995 belong essentially to the species *plantarum*.

The addition of *Lactobacillus fermentum* isolated from camel milk has no inhibitory effect against yoghurt ferments (*Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*).

The acidity of the yoghurt where *Lactobacillus fermentum* was added meets AFNOR standards. The decrease in the number of living cells of *Staphylococcus aureus* from the 3rd hour of incubation in the presence of *Lactobacillus fermentum* shows the inhibitory effect of the latter. This result has been observed in the work of Mami et al., 2010 in some species of *Lactobacillus* on *Staphylococcus*

DISCUSSION

The seven isolates were all Gram +, motionless and catalase negative, confirming the data of Gunter et al., 1998.

The fermentation profile of the seven *Lactobacillus* isolates was compared with the reference strains as exposed in Bergey's key (1986). Significant differences were found. For example: *Lactobacillus fermentum* differs from the strain reference because of the fermentation of arabinose and mannitol.

aureus. The results show a total lack of *Staphylococcus aureus* in the presence of *Lactobacillus fermentum* after only 4 hours of incubation in mixed cultures, whereas this was only observed by Mami et al., 2010 after 72 hours.

The inhibitory effect of the *Lactobacillus fermentum* strain of *Staphylococcus aureus* at a concentration of up to 5.05 log CFU is nil.

In any case, the inhibition of *Staphylococcus aureus* is not caused by pH, because in the course of maturation the yoghurt contaminated with *Staphylococcus aureus* and without *Lactobacillus fermentum* has 3.90 log CFU of *Staphylococcus aureus* and the pH is 5.3 after 4 hours of incubation. Conversely, in the yoghurt contaminated with *Staphylococcus aureus* and to which *Lactobacillus fermentum* is added there is a total absence of *Staphylococcus aureus* with a similar value of pH, i.e. 5.2.

Inhibition of *Staphylococcus aureus* caused by the production of hydrogen peroxide must be excluded because *Staphylococcus aureus* has a catalase.

Competition for the amino acids in the milk medium cannot explain the inhibition of *Staphylococcus aureus*, because it grows in the milk without using aminoacids (Alomar et al., 2007).

CONCLUSION

Camel milk contains lactic acid bacteria possessing interesting inhibitory potential on pathogens (*Staphylococcus aureus*). In this sense, our study was carried out on a lactic strain represented by *Lactobacillus fermentum* isolated from the camel milk. It has been found that a dose of 5.87 log CFU / ml of *Lactobacillus fermentum* isolated from camel milk achieved an almost total inhibition of *Staphylococcus aureus* after only 5 hours of incubation. It should be pointed out that there was neither change in the physico-chemical parameters which were studied (pH, acidity) in the yoghurt to which *Lactobacillus fermentum* was added, nor any influence on their ferments.

And finally, the antagonistic effect of *Lactobacillus fermentum* against *Staphylococcus aureus* observed in our study shows the possibility of using the former as biological preservative for food.

REFERENCES

1. Alomar J., Loubiere P., Delbes C., Nouaille S., Montel, M.C. (2007). Effect of *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecalis* on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in microfiltered milk (Food Microbiology, en révision).

2. A.Y. Tamime and R.K. Robinson, Yoghurt, Paris, France (1985), 431.
3. Badis, A., Laouabdia-Sellami N., D. Guetarni., M. Kihal., R. Ouzrout (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées a partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «arabia et kabyle». *Mikrobiol. Hyg.*, 1 Abt. Orig. C2, pp: 278-281
4. De Vrese M, Stefelmann A. (2001). Probiotics-compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr*, 73, 421S-429S.
5. Fédération Internationale du Lait., «Lait et produit laitiers, Préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique», Document 122C.
6. Guiraud, J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire, Eds. Dunod, Paris, 652 p.
7. Gunter, K., Pack, A., Bonaparte, C. and Reute., G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Journal of food microbiology*, 41, pp: 103-125.
8. Heyman, M. Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *J Am Coll Nutr*, 2000, 19, 137S-146S.
9. Jacquemain M, Doucet E.(2003). Calcium intake, body composition, and lipoprotein-lipid concentrations in adults. *Am J Clin Nutr*, 77, 1448-1452.
10. Kandler O et Weiss N., «Regular, non-sporforming Grampositive rods», In: Sneath, P.H.A., Mair N., Sharpe M.E et Holt J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986. p.1208-1234.
11. Karam N. E. & Karam H., (1994), Isolement et caractérisation de bactéries lactiques de laits crus d'Algérie. In: Alimentation, génétique et santé de l'enfant, Eds J.F. Desjeux et M. Touhami, L'Harmattan. 257-264
12. Karam, N. E. (1995). Constitution d'un souchier de bactéries lactiques à intérêt biotechnologique: Etude Biochimique et Moléculaire. Thèse de Doctorat d'état, Université d'Oran. Algérie.
13. Mami Anas, Hamedi Amine Rizk, Henni Jamal Eddine, Kerfouf Ahmed, Kihal Mebrouk. (2010). *Anti-bacterial activity of Lactobacillus plantarum isolated from Algerian raw goat's milk against Staphylococcus aureus*. Les technologies de laboratoire - 2010, Vol 5, 21, pp. 26-33
14. Mikelsaar, Marika, and Mihkel Zilmer. (2009). «Lactobacillus fermentum ME-3 An antimicrobial and antioxidative probiotic.»

Microbial Ecology in Health and Disease 21, no. 1: 1-27.

15. Petransxiene, P. et Laped, L. (1981). Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : Analyse et tests. 2ème édition, Tech. et Doc., Lavoisier, Paris, pp: 44-81.
16. Tadesse G., Ephraim E. et Ashenafi M., (2004). Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from borde of Shamita, traditional Ethiopian fermented beverage, on some food borne pathogens and effect of growth medium in the inhibitory activity. *Food Safety*, 5: 13-20.
17. Wang K-Y, Liu C-S. (2004). Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80, 737-741.

Адреса для листування:

E-mail address: belkiss_ab@hotmail.fr

18. Yousef AE and Carolyn Carlstrom C (2003). *Food microbiology: a laboratory manual* Wiley, Page 226. ISBN 9780471391050.

OUTSTRANDING PHRASES

The addition of *Lactobacillus fermentum* isolated from camel milk has no inhibitory effect on yoghurt ferments

The decrease in the number of living cells of *Staphylococcus aureus* from the 3rd hour of incubation in the presence of *Lactobacillus fermentum* shows the inhibitory effect of the latter.

Camel milk contains lactic acid bacteria possessing interesting inhibitory potential on pathogens (*Staphylococcus aureus*).

Надійшла до редакції:

27.06.2013 p.

УДК 577.3:547.857.4:616.831-005.4

Е. В. АЛЕКСАНДРОВА, Д. Н. ЮРЧЕНКО, Н. И. РОМАНЕНКО, Н. В. КРИСАНОВА,
С. В. ЛЕВИЧ, А. С. ШКОДА, Л. В. ЕВСЕЕВА, О. Б. МАКОЕД, Н. П. РУДЬКО
Л. Е. БЕЛОКОНЬ

Запорожский государственный медицинский университет

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ И ВЛИЯНИЯ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН НЕЙРОНОВ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА С-3 В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Данная статья содержит результаты исследования влияния на энергетический обмен нейронов, а также мембранопротекторных свойств нового производного ксантина в условиях развития глобальной ишемии головного мозга. Соединение С-3 по силе мембранопротекторного действия, направленного против ишемического повреждения и по энергомодулирующему эффекту, превышало препарат мексидол

Ключевые слова: ишемия головного мозга, мембранопротекция, производное ксантина.

ВВЕДЕНИЕ

Глобальная церебральная ишемия головного мозга часто возникает у пациентов при остановке сердца, шоке, асфиксии и у пациентов, перенесших сложные операции на сердце. Нарушения, затрагивающие нервную ткань, в условиях ишемии приводят к спектру таких последствий, как: кома, судороги, ишемический инсульт и когнитивные нарушения. У пациентов после остановки сердца с последующей реанимацией глобальная ишемия головного мозга развивается на фоне системной гипоперфузии, возникающей при облитерирующем эндартериите крупных сосудов или без него [8, 12, 13, 17].

В последние двадцать лет активно ведутся исследования по разработке цитопротекторной стратегии по ликвидации последствий острой (короткой, в минутах), длительной (более 24 часов) ишемии головного мозга, отягченной развитием апоптоза и некроза нейронов. Известно, что в условиях развития церебральной ишемии, сопровождающей ишемические инсульт, происходят нарушения в энергетическом обмене нейронов [8]. Данное состояние стимулирует увеличение проницаемости внутренней мембраны митохондрий, что приводит к нарушению окислительного фосфорилирования, уходу в цитоплазму цитохрома С. Длительная ишемия приводит к разрушению внешней мембраны

митохондрий за счет стимуляции перекисного окисления липидов и синтеза нескольких проапоптотических факторов (каспаз, эндонуклеаз, других протеаз, которые относят к классу интерлейкин-1 β -превращающих ферментов) [6, 16]. В указанных условиях возможны необратимые изменения в метаболических путях нейронов и их цитоскелете и, как следствие, апоптоз [5, 15].

Комплексная терапия ишемических инсультов имеет в своем арсенале ряд препаратов, обладающих антигипоксическим, мембранопротекторным, ноотропным действием. Однако, к сожалению, дифференциальный подход в выборе фармацевтических препаратов для терапии зачастую отсутствует, так как далеко не всё изучено по механизмам развития церебральной ишемии в зависимости от временного фактора и причин её развития.

В данной статье представлены данные по изучению мембранопротекторного действия и влияния на показатели энергетического обмена нейронов производного теofilлина С-3 (гидразида 1,3-диметил-8-N-бензиламиноксантинил-7-уксусной кислоты), которое синтезировано сотрудниками кафедры биохимии и лабораторной диагностики ЗГМУ. В качестве препарата сравнения был выбран мексидол, имеющий антигипоксическое, мембранопротекторное, ноотропное, противосудорожное и ангиолитическое действия.

В клинике мексидол назначают пациентам с кислород-зависимыми патологическими состояниями (шок, гипоксия, ишемия, нарушения мозгового кровообращения) [18].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки влияния синтезированного вещества С-3 на показатели энергетического обмена в условиях развития ишемии и его мембранопротекторного действия была использована модель неполной глобальной ишемии головного мозга (ГИГМ), которую проводили на крысах линии Вистар обоих полов массой 220-260 г. Модель ГИГМ воспроизводилась двухсторонней перекруткой общих сонных артерий под этаминал-натриевым наркозом (40 мг/кг) [1-3].

В исследовании использовались группы животных: 1) интактные — псевдооперированные животные (под вышеуказанным наркозом хирургически выделяли сонные артерии, но лигатура не накладывалась, n=5); 2) контрольные животные — воспроизводилась модель ГИГМ, n=5); 3) животные с ГИГМ на фоне введения соединения С-3, n=5); 4) животные с ГИГМ на фоне введения мексидола, n=5) [1].

Вещество С-3 и мексидол вводились *per os* в виде суспензии один раз в сутки в дозе 250 мг/кг. На четвертые сутки после воспроизведения ГИГМ проводилась декапитация животных. Временной период развития ГИГМ (72 часа) выбран таким образом, чтобы оценить спектр влияния синтезированного вещества на все направления механизма развития ишемического повреждения, включая возможные некроз и апоптоз нейронов. Для исследований использовались цитозольная фракция лобных долей коры головного мозга крыс, экстракт ткани, лишний белков, и сыворотка крови животных [2].

В цитозольной фракции определяли содержание интермедиатов, которые используются для оценки состояния энергетического обмена: АТФ, АДФ, АМФ, пируват, малат, лактат [4].

Мембранопротекторное действие синтезированного вещества оценивали по изменению содержания в цитозольной фракции продуктов окислительной модификации белков — нейротоксичных альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КФГ) [10].

Степень поражения цитоплазматической мембраны нейронов оценивали во всех исследуемых группах животных по изменению активности в сыворотке крови органоспецифичной изоформы ВВ креатинфосфокиназы (ВВ-КФК) [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все группы животных, за исключением интактных, имели на 4-е сутки тяжелые неврологические изменения по McSwow: паралич, парез, птоз. Такая симптоматика была максимально выраженной в контрольной группе с ГИГМ и в группе животных с ГИГМ на фоне введения соединения С-3. Однако летальность животных в группе с введением соединения С-3 на 4-е сутки была минимальной (7%), при терапии мексидолом — 47%, в контрольной группе летальность составляла 67%.

Исследование мембранопротекторных свойств соединения С-3 в условиях экспериментальной неполной глобальной ишемии головного мозга.

В таблице 1 представлены данные по содержанию нейротоксичных продуктов АФГ, КФГ в цитозольной фракции нейронов лобных долей коры головного мозга крыс в корреляции с изменением активности ВВ-КФК в сыворотке крови животных всех исследуемых групп.

Накопление АФГ и КФГ в ишемизированных нейронах приводит к необратимым изменениям в структуре белков, липидов мембран, в структуре ДНК [8]. Это, в свою очередь, ведет к деполяризации мембран нейронов. Здоровый мозг умеет быстро поглощать внеклеточный глутамат, однако в условиях, когда запасы энергии истощаются, как при ишемии, из-за клеточной деполяризации происходит утечка глутамата во внеклеточное пространство. Нарушение поглощения глутамата приводит к увеличению внутриклеточного Ca²⁺. Увеличение пула внутриклеточного кальция запускает целый каскад метаболических нарушений, сопровождающихся фосфорилированием белков и активацией Ca²⁺ — зависимого протеолиза [8].

Аналогичная ситуация складывается и с поглощением цистеина при деполяризации мембран, что вызывает истощение в нейронах запасов глутатиона, используемого антиоксидантными системами для защиты от окислительного стресса, что также приводит к повреждению нейронов [7].

У животных с ГИГМ на 4-е сутки в цитозоле нейронов наблюдалось достоверное накопление нейротоксичных продуктов АФГ (в 2,5 раза) и КФГ (в 4 раза) по отношению к соответствующим значениям у интактных животных. Параллельно при этом происходило повышение активности ВВ-КФК в сыворотке крови (в 4 раза) по отношению к аналогичному показателю у интактных животных. Данный факт подтверждал повреждение цитоплазматической мембраны нейронов, так

как ВВ-КФК является органоспецифичным изоферментом для головного мозга и его высшая

активность наблюдается во внутренней мембране митохондрий и цитозоле нейронов коры [13].

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ С-3 НА СОДЕРЖАНИЕ АФГ И КФГ В ЦИТОЗОЛЬНОЙ ФРАКЦИИ НЕЙРОНОВ И АКТИВНОСТЬ ВВ-КФК В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ С ГИГМ

Группы животных (n=5)	АФГ (270 нм) у.е./г белка	КФГ (363 нм) у.е./г белка	ВВ-КФК ммоль/л*час
Интакт	5,7±0,42	7,2±0,37	0,04±0,003
Контрольные с ГИГМ	17,5±1,12	28,6±1,76	0,17±0,005
ГИГМ + С-3	6,0±0,35*§	8,7±0,26*§	0,060±0,001*§
ГИГМ + мексидол	11,1±1,11*	17,1±1,4	0,093±0,005*

Примечание: * — p<0,05 по отношению к контрольной группе; § — p<0,05 по отношению к группе животных, которые получали мексидол

Введение соединения С-3 животным с ГИГМ существенно и достоверно снижало содержание нейротоксичных продуктов по сравнению с контрольной группой животных: АФГ на 66% и КФГ на 70%, а также снижало активность ВВ-КФК в сыворотке крови животных на 65% по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе животных, что свидетельствовало о меньшей степени поражения цитоплазматической мембраны нейронов в присутствии исследуемого вещества. Мексидол оказывал аналогичное действие на изменение выше указанных показателей, но его эффект не был настолько ярко выраженным (табл. 1).

Влияние соединения С-3 на содержание показателей энергетического обмена нейронов при глобальной ишемии головного мозга

Как и следовало ожидать, экспериментальная ГИГМ привела в цитозольной фракции нейронов к снижению АТФ на 46%, причем снижалась и концентрация АДФ (на 54,8%) на фоне накопления АМФ (на 125%) по отношению к соответствующим показателям у интактных крыс (рис. 1).

Ишемическое повреждение нейронов сопровождается изменением проницаемости мембран, в том числе и внутренней мембраны митохондрий. Это ведет к снижению скорости окислительного фосфорилирования, нарушению функции АТФ/АДФ-транслоказы и к стимуляции ферментов, участвующих в разрушении адениловых нуклеотидов, что сопровождается накоплением в цитозоле АМФ [14].

Длительная гипоксия приводит к стимуляции анаэробного гликолиза в цитоплазме нейронов, что подтверждалось в условиях экспериментальной ГИГМ повышением на 240% содержания лактата в цитозольной фракции по

отношению к соответствующему показателю у интактной группы животных. Следует отметить, что АМФ при его накоплении в цитозоле выступает в качестве аллостерического активатора фосфофруктокиназы-1 — регуляторного фермента гликолиза, лимитирующего скорость течения процесса [9].

Поэтому данные эксперимента по показателям АМФ и лактату в контрольной группе животных имеют прямую корреляционную зависимость. Снижение концентрации малата в цитоплазме нейронов при экспериментальной ГИГМ на 53,9% по отношению к показателю интактных крыс, обусловлено переключением нейронов с аэробного окисления на анаэробное в условиях гипоксии [8].

Но, при этом не происходило накопление пирувата, его концентрация снизилась при ГИГМ на 30,1%, что можно объяснить стимуляцией его превращения в лактат и, возможно, активным включением пирувата в трансминирование с образованием из него аланина. Последнее превращение выполняет вспомогательную функцию в адаптивном метаболическом ответе на ишемическое повреждение нейронов — стимулирование синтеза белков на замену поврежденных структурных компонентов клетки [11].

Введение лекарственного препарата мексидола и соединения С-3 на фоне экспериментальной ишемии существенно меняло значение показателей энергетического обмена на 4-е сутки её развития. Наиболее значительные изменения в сторону нормализации показателей энергетического обмена (АТФ, АДФ, АМФ, пирувата, малата) наблюдались при введении в организм крыс вещества С-3. Пул АТФ на фоне его введения увеличился на

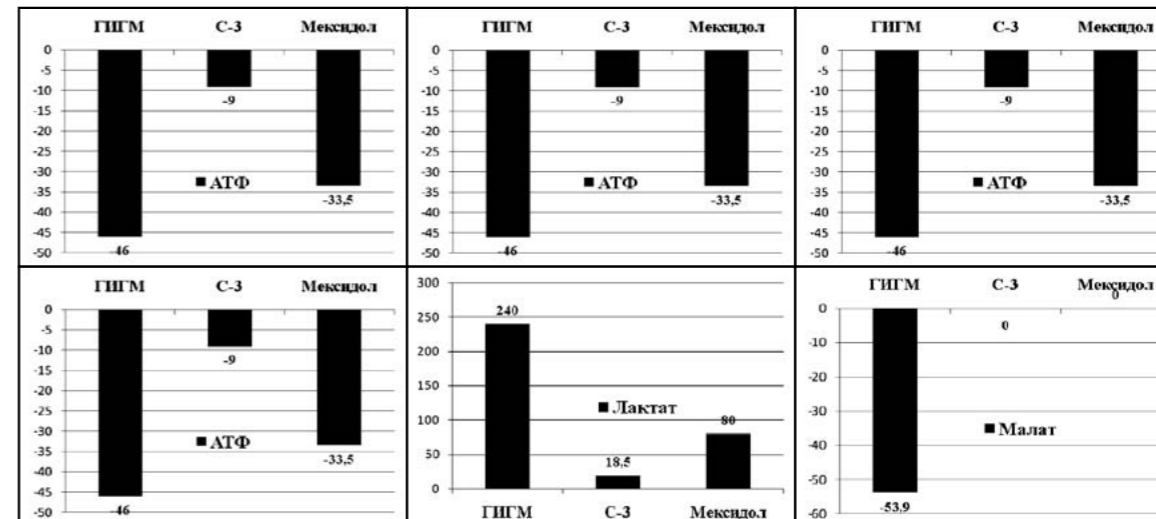


Рис. 1. Сравнительная диаграмма процентного снижения (повышения) показателей энергетического обмена нейронов в контрольной группе крыс с ГИГМ и при введении соединения С-3 и мексидола в организм животных с ГИГМ по отношению к аналогичным показателям у интактных животных

37%, у мексидола аналогичный эффект составлял только 12,5%. Содержание АДФ и АМФ в цитозольной фракции на фоне введения соединения С-3 практически достигало значений у интактных животных. При этом содержание лактата в цитозоле снижалось при действии вещества С-3 на 221,5% по отношению к аналогичному показателю в контрольной группе животных с ГИГМ.

ВЫВОДЫ

Синтезированное соединение С-3 обладает ярко выраженным мембранопротекторным действием и по исследованным показателям оценки данных свойств (содержание АФГ, КФГ, активность ВВ-КФК в сыворотке крови) более активно, чем препарат мексидол.

Соединение С-3 оказывает модулирующее действие на состояние показателей энергетического обмена в условиях длительной экспериментальной неполной глобальной ишемии головного мозга.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Вивчення антиоксидантної активності та церебропротективної дії похідного 3-метилксантину — сполуки С-4 — в умовах двосторонньої перев'язки загальних сонних артерій (ішемічний інсульт) / І. Ф. Беленічев, Д. М. Юрченко, К. В. Александрова, О. С. Шкода, Н. В. Бухтіярова // Запороз. мед. журн. — 2012. — № 5 (74). — С. 8-11.
2. Медикаментозная защита головного мозга при моделировании ишемии и реперфузии

3. Поварова О. В. Влияние фенол-т-бутилнитрона, мексидола и нооглютилы на зону поражения мозга и память крыс после окклюзии средней мозговой артерии / О. В. Поварова, Т. Л. Гаритова, Е. И. Каленикова // Экспер. и клин. фармакол. — 2004. — Т. 67, № 1. — С. 3-6.
4. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен); под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского ун-та. — 1982. — 272 с.
5. Mechanisms of ischemic brain damage. / Bhardwaj A, Alkayed NJ, Kirsch JR, et al. // Curr Cardiol Rep. — 2003. — № 5. — P. 160-167.
6. Graham S.H. Programmed cell death in cerebral ischemia. / S. H. Graham J. Chen // J. of Cereb Blood Flow Metab. — 2001. — № 21. — P. 99-109.
7. Choi D.W. Excitotoxic cell death. / J. of Neurobiol. — 1992. — № 23. — P. 1261-1276.
8. Izumi Harukuni. Mechanisms of Brain Injury after Global Cerebral Ischemia / Izumi Harukuni, Anish Bhardwaj // Neurol Clin. — 2006. — № 24 — P. 1-21.
9. Jenkins C. M. Reversible high affinity inhibition of phosphofruktokinase-1 by acyl-CoA: a mechanism integrating glycolytic flux with lipid metabolism / C. M. Jenkins, J. Yang, H. F. Sims, R. W. Gross // J. of

- Biol. Chem. — 2011 Apr 8. — № 286(14). — P. 11937-11950.
10. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine / B. Halliwell, J. M. Gutteridge // Clarendon Press, Oxford, 2007. — Ed 4. — 704 p.
 11. Liu J. Z. Effects of ATP concentration and hypoxic exposure on RNA and protein synthesis activity in isolated mitochondria from rat brain // J. Z. Liu, W. X. Gao, M. C. Cai et al. // Sheng Li Xue Bao. — 2002, Dec 25. — № 54 (6). — P. 485-489.
 12. Llinas R. Neurologic complications of cardiac surgery / R. Llinas, D. Barbut, L. R. Caplan // Prog. Cardiovasc. Dis. — 2000 — № 43. — P. 101-112.
 13. Murkin J. M. Etiology and incidence of brain dysfunction after cardiac surgery / J. of Cardiothorac Vasc Anesth. — 1999. — № 13. — P. 12-37.
 14. Pimentel V. C. Hypoxia-ischemia alters nucleotide and nucleoside catabolism and Na⁺,K⁺-ATPase activity in the cerebral cortex of rats / V. C. Pimentel, D. Zanini, A. M. Cardoso et al. // Neurochem Res. — 2013, Apr — № 38(4). — P. 886-94.
 15. Samdani A. F. Nitric oxide synthase in models of focal ischemia / A. F. Samdani, T. M. Dawson, V. L. Dawson // Stroke. — 1997. — № 28. — P. 1283-1288.
 16. Sugawara T. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia / T. Sugawara, M. Fujimura, N. Noshita, et al. // Neuro Rx. — 2004. — № 1. — P. 17-25.
 17. Wityk R. J. Diffusion- and perfusion-weighted brain magnetic resonance imaging in patients with neurologic complications after cardiac surgery / R. J. Wityk, M. A. Glodsbrough, A. Hillis et al. // Arch. Neurol. — 2001. № 58. — P. 571-576.
 18. <http://medi.ru/doc/a070196.htm>

УДК 577.3:547.857.4:616.831-005.4

К. В. Александрова, Д. М. Юрченко, М. І. Романенко, Н. В. Крісанова,
С. В. Левіч, О. С. Шкода, Л. В. Євсєєва, О. Б. Макоїд, Н. П. Рудько, Л. С. Білоконь
Запорізький державний медичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ВПЛИВУ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН НЕЙРОНІВ НОВОГО ПОХІДНОГО КСАНТИНУ С-3 В УМОВАХ РОЗВИТКУ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Дана стаття містить результати досліджень впливу на енергетичний обмін нейронів, а також мембранопротекторні властивості нового похідного ксантину в умовах розвитку глобальної ішемії головного мозку. Сполука С-3 за силою мембранопротекторної дії направленої проти ішемічного пошкодження і за енергомодуючим ефектом перевищувало препарат мексидол

Ключові слова: ішемія головного мозку, мембранопротекція, похідне ксантину

UDC 577.3:547.857.4:616.831-005.4

K. V. Alexandrova, D. M. Yurchenko, M. I. Romanenko, N. V. Krisanova,
S. V. Levich, O. S. Shkoda, L. V. Yevseeva, O. B. Makoyid, N. P. Rudko, L. E. Bilokon
Zaporizhzhya State Medical University

THE INVESTIGATION OF NEW XANTHINE DERIVATIVE C-3 INFLUENCE ON ENERGY METABOLISM AND IT NEURONAL MEMBRANE PROTECTION UNDER GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA DEVELOPMENT

This article contains results for the investigation of new xanthine derivative influence on energy metabolism and it neuronal membrane protection under global cerebral ischemia development. The compound C-3 is discussed, as the most effective in protection against ischemic inquiry of neuronal membranes and in modulatory effects on energy metabolism in comparison with preparation Mexidol

Key words: cerebral ischemia, membrane protection, derivative of xanthine

Адреса для листування:

69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26
тел.: 0612-34-24-42

Надійшла до редакції:

26.06.2013 р.

УДК 615.015:547.857.4

М. Г. БАКУМЕНКО

Національний фармацевтичний університет

ВЛИЯНИЕ 7, 8-ДИЗАМЕЩЕННЫХ-3-МЕТИЛ-КСАНТИНОВ НА ВИСЦЕРАЛЬНУЮ СТИМУЛЯЦИЮ И ТЕЧЕНИЕ ФЛОГОГЕННОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ

Целью настоящего исследования было изучение противовоспалительной и анальгетической активностей впервые синтезированных 7, 8-дизамещенных-3-метилксантина. Выявленное соединение *b*-окси-*g*-(*n*-нитрофенокси)пропил 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноксантин, обладает обезболивающим действием (уменьшает количество укусных корчей на 42,4%). Соединение *b,g*-диоксипропил 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантин, обладает выраженным антиэкссудативным действием (уменьшает развитие экспериментального каррагенинового отека лапки у крыс на 36,3%).

Установлено, что 7, 8-дизамещенные-3-метилксантины являются перспективной группой органических соединений для дальнейшего целенаправленного проведения синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе фармакологических веществ с анальгетическими и противовоспалительными свойствами.

Ключевые слова: 7, 8-дизамещенные-3-метилксантины, анальгетическая активность, противовоспалительная активность

В настоящее время, более 30 миллионов людей ежедневно принимают НПВС, из них 40% пациенты возрастом старше 60 лет. Около 20% всех больных находящихся на лечении в стационаре принимают НПВС.

Сравнительная дешевизна и эффективность расширили сферу их применения в различных разделах клинической медицины и обеспечили необычайную популярность этих препаратов у населения.

Они широко применяются в амбулаторной и стационарной медицинской практике, стоматологии, в практике МЧС, скорой медицинской помощи, а также в анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии.

Центральный анальгетический эффект связан с их непосредственным влиянием на синтез простагландинов в головном и спинном мозге. Периферическое действие связано в основном с влиянием на циклооксигеназный путь превращения арахидоновой кислоты.

При применении НПВП возникает потенциальная опасность побочных реакций со стороны ЖКТ (язвенно-эрозивные процессы, кровотечения), почек (уменьшение экскреции натрия, нефротоксическое действие), легких (бронхо-

спазм), гемостаза (антиагрегационное действие, геморрагии), аллергенности (кожные проявления, эпидермальный некролиз, отек Квинке), а также такие проявления, как васкулиты, перикардит, миокардит, стоматит.

Широкое внедрение в клиническую практику НПВП нового класса — селективных (нимесулид, и др.) и специфических ингибиторов ЦОГ-2 (коксибов) позволило в значительной степени снизить количество побочных реакций НПВП в терапевтической клинике. Однако при длительном приеме специфических ингибиторов ЦОГ-2 потенциальный риск все же остается, что не позволяет считать их «идеальными» препаратами класса НПВП.

В то время как неселективные НПВС таят угрозу развития язвенного поражения желудка и двенадцатиперстной кишки, вследствие снижения синтеза гастропротекторных простагландинов, селективные блокаторы циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) несут угрозу развития тромботических осложнений, в том числе инфаркта миокарда.

В связи с побочными эффектами НПВС, ограничивающих их применение у большой группы пациентов, ведется поиск новых фармакологических веществ, обладающих противовоспалительными свойствами.

Перспективной является группа метилксантинов, которые играют важную роль в организме. Противовоспалительный эффект метилксантинов реализуется посредством модулирования синтеза ряда цитокинов: ингибированием экспрессии генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов фактора некроза опухолей α (ФНО- α), интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8), а также усилением экспрессии генов, ответственных за синтез противовоспалительных цитокинов интерлейкина-10 (IL-10).

Результаты компьютерного прогноза выполненной в программе ОРАКУЛ свидетельствуют о высокой вероятности наличия у противовоспалительных и анальгетических свойств производных 7, 8-дизамещенных-3-метилксантинов.

На основании вышеизложенного, было проведено экспериментальное исследование противовоспалительной и анальгетической активностей с целью отбора наиболее эффективных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Анальгетическую активность 7-алкил-8-пиперидиноксантинов (соед. 32-46), 7-алкил-8-морфолиноксантинов (соед. 47-60) и 7-алкил-8-пиперазиноксантинов (соед. 61-76) определяли на модели «уксусных корчей» [1] в опытах на белых крысах линии Вистар массой 130-175 г. Корчи вызывали внутрибрюшинным введением 0,75% водного раствора уксусной кислоты в дозе 1 мл на 100 г массы тела животного. Подсчет числа корчей проводили спустя 20 минут после внутрибрюшинного введения уксусной кислоты в течение 30 минут. Изучаемые вещества вводили внутрибрюшинно в виде 3–5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80 в дозе 0,05 ЛД₅₀, с помощью специального металлического зонда, за 30 минут до введения уксусной кислоты. Уменьшение количества корчей у животных, по сравнению с контрольной группой, служило показателем анальгетической активности исследуемых веществ. Анальгетическую активность выражали в процентах снижения числа уксусных корчей в опытных животных по сравнению с контрольными группами [10].

Антиэкссудативный эффект 7-алкил-8-алкиламиноксантинов (соед. 1-12) изучили на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением флогогена — каррагинена. Опыты проведены на белых крысах линии

Вистар обоого пола массой 145-180 г. Исследуемые вещества вводили в дозе 0,05 ЛД₅₀ внутрибрюшинно за 30 минут до введения флогогенного агента. Контрольным группам вводили воду. Через 30 минут под апоневроз задней лапки крысы вводили по 0,1 мл 1% водной суспензии каррагинена. С помощью онкометра измеряли объем до начала опыта и в момент максимального развития отека — через 4 часа. Антиэкссудативную активность определяли по степени уменьшения экспериментального отека у опытных по сравнению с контрольными животными и выражали в процентах. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак натрия (ЕД₅₀=8 мг/кг) и анальгин (ЕД₅₀=50 мг/кг). Степень угнетения отека рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ угнетения} = \frac{U_K - U_0}{U_0} \cdot 100, \text{ где}$$

U_K и U_0 соответственно объем лапки в контроле и в опыте [10].

Полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики по t -критерию Стьюдента с использованием электронных таблиц Excel и пакета математической обработки Mathcad-5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Результаты полученных экспериментальных исследований представлены в таблице 1, 2. Установлено, что в ряду 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноаминоксантинов (соед. 32–46) соединения 32–34, 43–47 уменьшают проявление у животных рефлекторной реакции на химический раздражитель на 6,2–42,4%, а соединения 35–41 увеличивают количество корчей вызванных уксусной кислотой в среднем на 6,0–32,6%, что свидетельствует об их стимулирующем действии на ноцицепторы. Наибольшей анальгетической активностью обладает соед. 46 которое в 7-ом положении имеет b -окси- g -(p -нитрофенокси)пропильный радикал.

Замена b -окси- g -(p -нитрофенокси)пропильного (соед. 2) радикала на этильный (соед. 32), p -нитрофенилгидроксиэтильный (соед. 43), b -оксипропильный (соед. 44), b -окси- b -фенилэтильный (соед. 45), приводила к снижению анальгетической активности.

Большинство производных 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантинов (соед. 47–49, 54, 55, 57-60) уменьшают проявление у животных рефлекторной реакции на химический раздражитель на 7,1–26,9%, а соединения 50–53, 56 увеличивают количество корчей вызванных уксусной кислотой на 2,0–29,8%, что свидетельствует об их возбуждающем действии на ноцицепторы.

Наибольшей анальгетической активностью обладает соед. 60 которое в 7-ом положении имеет b -гидрокси- g - p -нитрофеноксипропильный радикал. Замена b -гидрокси- g - p -нитрофеноксипропильного (соед. 60) радикала на этильный (соед. 47), g -хлорбензтилен-2 (соед. 54), b -гидроксиэтилфенильный (соед. 57), b -гидрокси- g -феноксипропильный (соед. 59), приводила к снижению анальгетической активности.

Анальгетической активностью обладают производные 3-метил-7-алкил-8-пиперазиноксантинов (соед.61–76), которые снижают рефлекторную реакцию на химический раздражитель в среднем на 9,8–39,6%. Наибольшей анальгетической активностью (39,6%) обладает соед. 63 которое в 7-ом положении имеет изопропильный радикал. Замена изопропильного (соед. 63) радикала на b -оксиэтильный (соед. 61), этильный (соед. 62), b -диметилэтильный (соед. 65), b -гидрокси- g -феноксипропильный (соед. 75), приводило к снижению анальгетического эффекта.

Умеренную противовоспалительную активность оказывают большинство 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноаминоксантинов (соед. 32, 33, 42–44, 46), которые уменьшают развитие экспериментального отека на 13,2–32,7%. Наибольшее противовоспалительное действие оказывает соединение 46, которое в дозе 22,6 мг/кг уменьшает развитие формалинового отека лапки крыс на 32,7%. Замена b -окси- g -(p -нитрофенокси)пропильного (соед. 46) радикала на этильный (соед. 32), бензильный (соед. 33), p -нитрофенилгидроксиэтильный (соед. 43), b -оксипропильный (соед. 44) заместители приводит к уменьшению антиэкссудативной активности данных соединений, а введение в 7-е положение молекулы, пентильного (соед. 35), гексильного (соед. 36), гептильного (соед. 37), нонильного (соед. 38) заместителей, способствует потере противовоспалительных свойств.

Большинство 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантинов (соед.54-56,57-60) оказывают антиэкссудативное действие. Наибольшее противовоспалительное действие оказывает соединение 56, которое в дозе 57 мг/кг уменьшает развитие формалинового отека лапки крыс на 36,4%. Замена b, g -диоксипропильного (соед. 56), радикала на g -хлорбензтилен-2 (соед. 54), b -гидроксиэтильный (соед.55), b -гидроксиэтилфенильный (соед.57), b -гидрокси- g - p -нитрофеноксиэтильного (соед. 58), приводит к уменьшению антиэкссудативной активности.

В ряду 3-метил-7-алкил-8-пиперазиноксантинов (соед. 61–76) антиэкссудативное действие

оказывают соединения 63, 65, 66, 73–76, которые уменьшают развитие экспериментального отека на 14,5–27,6%. Замена метилпропильного (соед. 66), радикала на b -диметилэтильный (соед. 65), b -гидроксифенилэтильный (соед.73), b -гидрокси- p -нитрофенилэтильный (соед.74), b -гидрокси- g -феноксипропильный (соед.75), b -гидрокси- g - p -нитрофеноксипропильный (соед.76) заместители, способствует уменьшению антиэкссудативной активности данных веществ. Введение в 7-е положение молекулы, g -хлорбутенильного-2 (соед. 67), гептильного (соед. 68), бензильного (соед. 69), фенилэтильного (соед. 70), радикалов, приводит к снижению противовоспалительных свойств.

ВЫВОДЫ

Наибольший анальгетический эффект (42,4%) проявило соединение 46 — b -окси- g -(p -нитрофенокси)пропил 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноксантинов, которое вызывало уменьшение действия уксусной кислоты.

Соединение 56 — b, g -диоксипропил 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантина уменьшает развитие экспериментального отека лапки у крыс на 36,3%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л.Б. Лазебник, В.Н. Дроздов, Е.В. Коломиец «Сравнительная эффективность и безопасность применения кетопрофена, лорноксикама, нимесулида и цефекоксиба у больных остеоартрозом.» РМЖ, 2004, том 12, № 14, 844–847
2. А.Е. Каратеев, Н.Н. Коновалова, А.А. Литовченко и др. «НПВП-ассоциированное заболевание желудочно-кишечного тракта при ревматизме в России.» Клини. Мед., 2005, №5, 33–38
3. Н.В. Чичасова «Лечение хронического болевого синдрома в ревматологии». Лечащий врач, январь 2003 г., № 1, стр.16–19
4. Н.В. Чичасова «Лечение остеоартроза: влияние на хрящевую ткань различных противовоспалительных препаратов» РМЖ, 2005, том 13, № 8, 539–542
5. D.O.Clegg, D.J. Reda, C.L. Harris et.al. «Glucosamin, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis» N. Engl.J.Med., 2006, V.354:795-808
6. В.Н. Сороцкая, А.Е. Каратеев «Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями» Научно-практическая ревматология, 2005, № 4, 34–37.

7. Е.Л. Насонов «Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: терапевтические перспективы.» РМЖ, 2002, том 10, № 4, стр. 206–212.
8. В.Н. Сороцкая, А.Е. Каратеев «Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями» Научно-практическая ревматология, 2005, № 4, 34–37.
9. А. Рябкова, Н. Шостак, Л. Малярова «Желудочно-кишечные кровотечения, обусловленные приемом нестероидных противовоспалительных препаратов» Врач, 2004, № 4, 26-27.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів / [под ред. О.В.Стефанова]. — К.: Авіцена, 2001. — С.433-443.
11. Moore R.A., Derry S., Makinson G.T., McQuay H.J. «Tolerability and adverse events in clinical trials of celecoxib in osteoarthritis and rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis of information from company clinical trial reports» Arthr. Research and Ther., 2005, 7, № 3: R644–R665.
12. Graham D.Y., Opekun A.R., Wilingham F.F., Qureshi W.A. «Visible small-intestinal mucosal injury in chronic NSAID users» Clin. Gastroenterol. Hepatol., 2005, 3: 55–59.
13. Чичасова Н.В. «Место медленнодействующих препаратов в рациональной терапии деформирующего остеоартроза» Consilium Medicum, 2005, том 7, № 8, стр.634–638.
14. Hajjal H.E.L., Marcelis A., Devogelaer J-P., Manicourt D-H. «Celecoxib has a positive effect on the overall metabolism of hyaluronan and proteoglycans in human osteoarthritic cartilage.» J. Rheum., 2003,30: 2444–2451.
15. Graham D.J., Campen D., Hui R., Spence M. Cheetham C., Levy G., Shoor S., Ray W.A. «Risk of acute myocardial infarction and sudden cardiac death in patients treated with cyclo-oxygenase 2 selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: nested case-control study» Lancet, 2005, 365: 475–481.
16. H. Maradit-Kremers, C.S. Crowson, P.J. Nicola et.al. «Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis. A population-based cohort study» Arthr. Rheum., 2005, 52: 402–411.
17. Е.Л. Насонов «Сегодня в изучении патогенеза ревматических болезней на первый план выходят исследования механизмов хронического воспаления. Интервью» Фарматека, 2005, № 7, 10–14.
18. Panoulas V., Douglas K., Stavropoulos-Kalinooglou A. et al. Longterm exposure to medium-dose glucocorticoid therapy associates with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford), 2008; 47 (1): 72–5.
19. Hudson M., Rahme E., Richard H., Pilote L. Risk of congestive heartfailure with non-steroidal antiinflammatory drugs and selective Cyclooxygenase 2 inhibitors: a class effect? Arthritis Rheum, 2007; 57 (33): 516–23.
20. Morgan T., Anderson A. The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on blood pressure in patients treated with different anti-hypertensive drugs. J Clin Hypertens (Greenwich), 2003; 5 (1):53–7.
21. Gislason G., Jacobsen S., Rasmussen J. et al. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction. Circulation, 2006; 113(25): 2906–13.
22. Warrington KJ., Kent PD., Frye RL. et al. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for multi-vessel coronary artery disease: a case control study. Arthritis Res Ther, 2005; 7 (5): 984–91.

Таблица 1

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 7, 8-ДИЗАМЕЩЕННЫХ-3-МЕТИЛКСАНТИНА

Соед. №	Доза, мг/кг	Количество корчей, М±m	Доверительный интервал при p=0,05	В% к контролю	Аналгетическая активность в %
32.	18,8	50,2±6,9	33,30±67,11	83,11	16,89
33.	5,5	48,6±5,8	34,39±62,81	80,46	19,54
34.	28,1	51,9±6,3	36,47±67,34	85,93	14,07
35.	19,8	64,0±6,2	48,81±79,19	105,96	—
Контроль	—	60,4±5,1	47,91±72,90	100,00	—
36.	18,1	65,9±4,6	54,63±77,17	110,76	—

Продолжение Табл. 1

Соед. №	Доза, мг/кг	Количество корчей, М±m	Доверительный интервал при p=0,05	В% к контролю	Аналгетическая активность в %
37.	4,6	71,4±5,1	58,91±83,90	120,00	—
38.	14,5	72,5±3,9	62,95±82,06	121,85	—
39.	11,8	70,7±7,2	53,06±88,34	118,82	—
40.	15,5	78,9±8,1	59,06±98,75	132,61	—
41.	19,6	70,3±8,6	49,23±91,37	118,15	—
42.	19,1	55,8±9,2	33,26±78,34	93,78	6,22
Контроль	—	59,5±5,7	45,54±73,47	100,00	—
43.	22	42,6±3,1*	35,01±50,20	69,16	30,84
44.	26,3	40,6±4,1*	30,56±50,65	65,91	34,09
45.	16,5	41,4±3,9*	31,85±50,96	67,21	32,79
46.	22,6	35,5±3,2*	27,66±43,34	57,63	42,37
47.	20,8	52,4±6,1	37,46±67,35	85,06	14,94
48.	18,5	55,8±6,6	39,63±71,97	90,58	9,42
49.	33,6	57,2±7,2	39,56±74,84	92,86	7,14
Контроль	—	61,6±4,2	51,37±71,89	100,00	—
50.	21,8	63,8±4,9	51,80±75,81	116,64	—
51.	5,9	68,5±5,1	56,01±81,00	125,23	—
52.	4,1	65,0±4,2	54,71±75,29	118,83	—
53.	10	71,0±6,3	55,57±86,44	129,80	—
54.	3,9	45,0±4,1	34,96±55,05	82,27	17,73
55.	16,8	48,7±5,9	34,25±63,16	89,03	10,97
56.	57,0	55,8±5,2	43,06±68,54	102,01	—
Контроль	—	54,7±5,1	42,21±67,20	100,00	—
57.	42,7	45,2±4,6	33,93±56,47	84,33	15,67
58.	22,4	41,4±3,2	33,56±49,24	77,24	22,76
59.	35,8	40,2±2,9	33,10±47,31	75,00	25,00
60.	20,6	39,2±2,4*	33,32±45,08	73,13	26,87
61.	9,9	41,0±4,4	30,22±51,78	76,49	23,51
62.	13,2	38,0±2,4*	32,12±43,88	70,90	29,10
63.	13,9	32,4±2,9*	25,30±39,51	60,45	39,55
Контроль	—	53,6±3,2	45,76±61,44	100,00	—
64.	12,0	44,2±5,2	31,46±56,94	85,16	14,84
65.	11,8	41,6±6,1	26,66±56,55	80,15	19,85
66.	10,4	46,8±5,9	32,35±61,26	90,17	9,83
67.	8,0	45,9±4,6	34,63±57,17	88,44	11,56
68.	5,2	46,8±4,9	34,80±58,81	90,17	9,83
69.	14,3	43,9±5,2	31,16±56,64	84,59	15,41
70.	12,6	45,0±6,1	30,06±59,95	86,71	13,29
Контроль	—	51,9±4,3	41,37±62,44	100,00	—

Окончание Табл. 1

Соед. №	Доза, мг/кг	Количество корчей, М±m	Доверительный интервал при p=0,05	В% к контролю	Аналгетическая активность в %
71.	12,7	45,2±5,1	32,71±57,70	89,68	10,32
72.	15,6	43,7±6,2	28,51±58,89	86,71	13,29
73.	15,9	44,6±5,9	30,15±59,06	88,49	11,51
74.	21,9	42,8±4,7	31,29±54,32	84,92	15,08
75.	37,3	41,4±5,1	28,91±53,90	82,14	17,86
76.	38,0	39,5±6,0	24,80±54,20	78,37	21,63
Контроль	—	50,4±5,8	36,19±64,61	100,00	—
Анальгин	50,0	28,7±4,6*	17,43±39,97	52,28	47,7
Диклофенак-натрия	8,0	27,2±4,9*	15,20±39,21	49,54	50,5
Мелоксикам	5,0	26,4±4,27*	15,94±36,86	48,09	51,9
Контроль	—	54,9±4,7	43,39±66,42	100,00	—

Примечание: * — достоверность результатов p<0,05 по сравнению с контролем.

Таблица 2

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ
7, 8-ДИЗАМЕЩЕННЫХ-3-МЕТИЛКСАНТИНА**

Соединение, №	Доза, мг/кг	Прирост объема лапки в мл через 4 часа	Доверительный интервал при p=0,05	% к контролю	Противовоспалительная активность в %
32.	18,8	0,43±0,11	0,16±0,70	68,25	31,75
33.	5,5	0,45±0,12	0,16±0,74	71,43	28,57
34.	28,1	0,60±0,13	0,28±0,92	95,24	4,76
35.	19,8	0,65±0,10	0,41±0,90	103,17	—
Контроль	—	0,63±0,09	0,41±0,85	100	—
36.	18,1	0,58±0,11	0,31±0,85	109,43	—
37.	4,6	0,56±0,08	0,36±0,76	105,66	—
38.	14,5	0,55±0,12	0,26±0,84	103,77	—
39.	11,8	0,54±0,11	0,27±0,81	101,89	—
40.	15,5	0,61±0,13	0,29±0,93	115,09	—
41.	19,6	0,50±0,08	0,30±0,70	94,34	5,66
42.	19,1	0,46±0,09	0,24±0,68	86,79	13,21
Контроль	—	0,53±0,05	0,36±0,70	100	—
43.	22	0,41±0,02*	0,36±0,46	74,55	25,45
44.	26,3	0,43±0,03	0,36±0,50	78,18	21,82
45.	16,5	0,48±0,09	0,26±0,70	87,27	12,73
46.	22,6	0,37±0,02*	0,32±0,42	67,27	32,73
47.	20,8	0,51±0,09	0,29±0,73	92,73	7,27
48.	18,5	0,50±0,07	0,33±0,67	90,91	9,09
49.	33,6	0,58±0,11	0,31±0,85	105,45	—
Контроль	—	0,55±0,03	0,48±0,62	100	—

Продолжение Табл. 2

Соединение, №	Доза, мг/кг	Прирост объема лапки в мл через 4 часа	Доверительный интервал при p=0,05	% к контролю	Противовоспалительная активность в %
50.	21,8	0,68±0,12	0,39±0,97	103,03	—
51.	5,9	0,69±0,13	0,37±1,01	104,55	—
52.	4,1	0,61±0,16	0,22±1,00	92,42	7,58
53.	10	0,65±0,15	0,28±1,02	98,48	1,52
54.	3,9	0,44±0,02*	0,39±0,49	66,67	33,33
55.	16,8	0,48±0,03*	0,41±0,55	72,73	27,27
56.	57,0	0,42±0,03*	0,35±0,49	63,64	36,36
Контроль	—	0,66±0,04	0,56±0,76	100	—
57.	42,7	0,51±0,06	0,36±0,66	82,26	17,74
58.	22,4	0,48±0,02*	0,43±0,53	77,42	22,58
59.	35,8	0,45±0,02*	0,40±0,50	72,58	27,42
60.	20,6	0,41±0,03*	0,34±0,48	66,13	33,87
61.	9,9	0,55±0,05	0,43±0,67	88,71	11,29
62.	13,2	0,57±0,09	0,35±0,79	91,94	8,06
63.	13,9	0,53±0,04	0,43±0,63	85,48	14,52
Контроль	—	0,62±0,04	0,52±0,72	100	—
64.	12,0	0,52±0,04	0,42±0,62	89,66	10,34
65.	11,8	0,44±0,06	0,29±0,59	75,86	24,14
66.	10,4	0,42±0,03	0,35±0,49	72,41	27,59
67.	8,0	0,61±0,07	0,44±0,78	105,17	—
68.	5,2	0,63±0,08	0,43±0,83	108,62	—
69.	14,3	0,66±0,05	0,54±0,78	113,79	—
70.	12,6	0,65±0,11	0,39±0,93	112,07	—
Контроль	—	0,58±0,05	0,46±0,70	100	—
71.	12,7	0,51±0,07	0,34±0,68	94,44	5,56
72.	15,6	0,49±0,08	0,29±0,69	90,74	9,26
73.	15,9	0,46±0,09	0,24±0,68	85,19	14,81
74.	21,9	0,4±0,02*	0,35±0,45	74,07	25,93
75.	37,3	0,41±0,12	0,12±0,70	75,93	24,07
76.	38,0	0,44±0,16	0,05±0,83	81,48	18,52
Аспирин	50,0	0,30±0,02*	0,24±0,38	54,54	45,46
Диклофенак-натрия	8,0	0,29±0,02*	0,24±0,34	52,72	47,28
Мелоксикам	2,0	0,28±0,02*	0,23±0,33	50,91	49,09
Контроль	—	0,55±0,05	0,43±0,67	100	—

Примечание: * — достоверность результатов p<0,05 по сравнению с контролем.

УДК 615.015:547.857.4

М. Г. Бакуменко

Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ 7, 8-ДИЗАМІЩЕНИХ-3-МЕТИЛКСАНТИНІВ НА ВІСЦЕРАЛЬНУ СТИМУЛЯЦІЮ ТА ПЕРЕБИГ ФЛОГОГЕННОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ

Метою цього дослідження було вивчення протизапальної й анальгетичної активностей вперше синтезованих 7, 8-дизаміщених-3-метилксантину. Доведено, що з'єднання β -окси- γ -(п-нітрофенокси)пропил 3-метил-7-алкіл-8-піперидиноксантинів, має знеболюючу дію (зменшує кількість оцтових корчів на 42,4%). Сполука β , γ -діоксіпропил 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантин, має виражену антиексудативну дію (зменшує розвиток експериментального каррагенінового набряку стопи у щурів на 36,3%).

Встановлено, що 7, 8-дизаміщені-3-метилксантини є перспективною групою органічних сполук для подальшого цілеспрямованого проведення синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі фармакологічних речовин з анальгетичними та протизапальними властивостями.

Ключові слова: 7, 8-дизаміщені-3-метилксантини, анальгетична активність, протизапальна активність

UDK 615.015:547.857.4

M. G. Bakumenko

National University of Pharmacy

THE INFLUENCE OF 7, 8-DISUBSTITUTED-3-METHYL XANTHINE — AT THE VISCERAL STIMULATION AND THE FLOGOGENNY INFLAMMATORY REACTION

Abstract. The purpose of this study was to investigate the anti-inflammatory and analgesic activity of the brand-new synthesized 7, 8-disubstituted-3-methyl-xanthine. The compound β -oxy- γ -(n-nitrophenoxy) propyl 3-methyl-7-alkyl-8-piperidino xanthine has an analgesic effect (reduces a number of acetic cramps to 42,4%). The Compound β , γ -dihydroxypropyl 3-methyl-7-alkyl-8-morpho linoxantine has a marked antiexudative effect (reduces the development of experimental carrageenan edema of the paws for the rats to 36,3%).

It has been established that 7, 8-disubstituted-3-methylxanthines are a promising group of the organic compounds for the further synthesis and pharmacological screening to produce on their basis the pharmacological compounds with analgesic and anti-inflammatory properties.

Key words: 7, 8-di-substituted-3-methyl xanthine, analgesic activity, anti-inflammatory activity

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НФаУ
тел.: 057-700-36-34

Надійшла до редакції:

27.06.2013 р.

УДК 615.015:547.857.4

М. Г. БАКУМЕНКО

Національний фармацевтичний університет

ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ 8-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА

Целью настоящего исследования было изучение противовоспалительной и анальгетической активностей впервые синтезированных 8-монозамещенных 3-метилксантина. Экспериментальные исследования анальгетической активности проводили на белых крысах линии Вистар на модели «уксусных корчей», а изучение влияния исследуемых веществ на течение флогогенного воспалительного процесса — на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением каррагенина.

Выявлены соединения 14, обладающее обезболивающим действием (уменьшает количество уксусных корчей на 31,1%), и соединение 3, обладающее выраженным антиэкссудативным действием (уменьшает развитие экспериментального каррагенинового отека лапки у крыс на 28,1%), которые по активности уступают препаратам сравнения (нимесулиду и диклофенаку).

Установлено, что 8-монозамещенные 3-метилксантины являются перспективной группой органических соединений для дальнейшего целенаправленного проведения синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе фармакологических веществ с анальгетическими и противовоспалительными свойствами.

Ключевые слова: 8-монозамещенные 3-метилксантины, анальгетическая активность, антиэкссудативная активность.

ВВЕДЕНИЕ.

Воспаление является важным патогенетическим компонентом многих заболеваний разнообразной этиологии и его фармакологическая коррекция является актуальной проблемой современной медицины. Поражение суставов и боль в спине являются частыми состояниями, с которыми больно обращается к врачам и которые приводят к инвалидизации пациентов [4, 9, 14].

По механизму действия нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) можно разделить на неселективно подавляющие активность ЦОГ-1, ЦОГ-2 и подавляющие преимущественно активность ЦОГ-2. К неселективным НПВП относятся производные различных слабых кислот: пропионовой (ибупрофен, кетопрофен, флорбипрофен, тиапрофен, напроксен), фенилусусной (диклофенак), индол/инденуксусной (индометацин, метиндол, сулиндак), оксикамовой (пироксикам) [3].

В подавляющем большинстве случаев наиболее характерным и частым побочным эффектом при применении НПВП является язвенно-эрозивное действие и развитие эрозивно-язвенно-

го процесса в гастродуоденальной зоне. Кроме того, применение традиционных НПВП может способствовать обострению язвенной болезни и формированию одного из морфологических субстратов данного страдания — типичной хронической язвы. В настоящее время из-за широкого применения НПВП в клинической практике гастропатии представляют серьезную медико-социальную проблему [4, 6, 8]. Серьезность прогноза определяется реальной возможностью осложнения язвенного процесса кровотечением или перфорацией, относящихся уже к жизнеугрожающим состояниям с вероятностью летальных исходов, достигающей 26,7% и 28,5% соответственно [15, 16].

Частота проявления побочных эффектов при применении диклофенака натрия достигает 20%, что подтверждено многочисленными исследованиями [3]. Ограничения противовоспалительной терапии НПВП обоих классов — неселективными и селективными блокаторами циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) разочаровывают. В то время как неселективные НПВС таят угрозу развития язвенного поражения вследствие снижения синтеза гастропротекторных проста-

гландинов, селективные блокаторы ЦОГ-2 несут угрозу развития тромботических осложнений, в том числе инфаркта миокарда [6].

Противовоспалительный эффект метилксантинов [2, 5, 10], реализуется модулированием синтеза ряда цитокинов на фоне их введения — ингибированием экспрессии генов ответственных за синтез провоспалительных цитокинов ФНО-α, IL-1β, IL-6, IL-8, а также усилением экспрессии генов, ответственных за синтез противовоспалительных цитокинов IL-10 [14].

Результаты компьютерного прогноза возможных видов фармакологической активности 8-монозамещенных 3-метилксантина выполнены нами по программе ОРАКУЛ свидетельствуют о высокой вероятности наличия у противовоспалительных и анальгетических свойств, что послужило основанием для проведения данных исследований.

Целью настоящего исследования было изучение противовоспалительной и анальгетической активностей новых замещенных 3-метилксантина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анальгетическую активность 8-монозамещенных 3-метилксантина (соед. 1–31) определяли на модели «уксусных корчей» в опытах на белых крысах линии Вистар массой 130–175 г. Корчи вызывали внутрибрюшинным введением 0,75% водного раствора уксусной кислоты в дозе 1 мл на 100 г массы тела животного. Подсчет числа корчей проводили спустя 20 минут после внутрибрюшинного введения уксусной кислоты в течение 30 минут. Изучаемые вещества вводили внутривенно в дозе 0,05 ЛД₅₀, с помощью специального зонда, за 30 минут до введения уксусной кислоты. Уменьшение количества корчей у животных, по сравнению с контрольной группой, служило показателем анальгетической активности исследуемых веществ. Анальгетическую активность выражали в процентах снижения числа уксусных корчей в опытных животных по сравнению с контрольными группами [1].

Антиэкссудативный эффект 8-монозамещенных 3-метилксантина (соед. 1–31) изучили на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением флогогена — каррагинина. Опыты проведены на белых крысах линии Вистар обоего пола массой 145–180 г. Исследуемые вещества вводили в дозе 0,05 ЛД₅₀ внутривенно за 30 минут до введения флогогенного агента. Контрольным

группам вводили воду. Через 30 минут под апоневроз задней лапки крысы вводили по 0,1 мл 1% водной суспензии каррагинина. С помощью онкометра измеряли объем до начала опыта и в момент максимального развития отека — через 4 часа. Антиэкссудативную активность определяли по степени уменьшения экспериментального отека у опытных по сравнению с контрольными животными и выражали в процентах. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак-натрия (ЕД₅₀=8 мг/кг) и анальгин (ЕД₅₀=50 мг/кг). Степень угнетения отека рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ угнетения} = \frac{Y_K - Y_0}{Y_0} \cdot 100, \text{ где}$$

Y_K и *Y₀* соответственно объем лапки в контроле и в опыте [1, 7].

Полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики по критерию t Стьюдент с использованием программного обеспечения «Windows-95», электронных таблиц Excel и пакета математической обработки Mathcad-5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты полученных экспериментальных исследований представлены в таблице 1. Среди 8-монозамещенных 3-метилксантина (соед. 1–31) соединения 1, 2, 8, 13-15, 19, 20, 23, 24-26 и 27 снижают у животных порог проявления висцеральной реакции ноцицепторов на химический раздражитель от 14% до 31,1% (p < 0,05). Соединения 4-7, 10, 12, 17, 18, и 28 напротив увеличивают количество корчей вызванных раздражающим действием уксусной кислоты, что свидетельствует об их раздражающем действии на рефлекторную реакцию висцеральных ноцицепторов. Наибольшей анальгетической активностью обладает соединение 14, которое содержит в 8-м положении изобутилтиометильный радикал. Замена в 8-м положении молекулы 3-метилксантина изобутилтиометильного (соед.14) радикала на бензиламинометильный (соед. 2), *n*-пропилтиометильный (соед. 15), метилсульфаниламидный (соед. 20), тиоизопентильный (соед. 25), изобутильный (соед. 26), приводит к уменьшению анальгетической активности.

Результаты изучения противовоспалительной активности представлены в таблице 2. Анализ представленных данных показывает, что большинство 8-монозамещенных 3-метилксантина (соед. 1–3, 9, 14, 16, 20, 21, 25, 26, 30) оказывают умеренную противовоспалительную активность.

Таблица 1.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 8-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА

Соед. №	Доза, мг/кг	Количество корчей	Анальгетическая активность в %	Соед. №	Доза, мг/кг	Количество корчей	Анальгетическая активность в %
1	27,3	58,2±6,1	15,1	18	30,5	69,7±4,2	–
2	26,5	56,3±5,3	17,8	19	27,5	57,5±6,4	14,3
3	22,9	59,1±6,1	13,7	20	29,2	51,8±1,9*	22,8
4	23,8	70,5±6,9	–	21	29,2	62,6±5,9	6,7
5	20,3	73,6±7,1	–	Контроль	–	67,1±4,3	–
6	13,9	75,8±8,2	–	22	33,8	58,4±6,2	13,2
7	17,3	72,9±6,8	–	23	25,5	56,2±5,9	16,5
Контроль	–	68,5±3,9	100,0	24	27,5	54,3±6,3	19,3
8	11,3	56,1±4,2	14,0	25	30,0	51,8±2,1*	23,0
9	11,9	61,2±4,9	6,1	26	20,0	53,0±6,4	21,2
10	14,6	69,7±5,6	–	27	27,9	55,7±6,1	17,2
11	18,1	59,4±4,2	8,9	28	24,6	68,0±5,8	–
12	20,6	66,8±5,1	–	Контроль	–	67,3±3,5	–
13	22,8	54,7±4,6	16,1	29	14,0	55,1±5,6	8,8
14	26,8	44,9±2,7*	31,1	30	14,8	53,6±7,2	11,3
Контроль	–	65,2±5,0	–	31	29,3	58,7±7,3	2,8
15	24,9	50,4±2,5*	24,9	Контроль	–	54,9±4,7	–
16	27,4	64,0±5,8	4,6	Мелоксикам	5,0	0,28±0,02*	47,7
17	24,5	68,1±5,3	–	Диклофенак	8,0	27,2±4,9*	50,5

Примечание. « * » — достоверность различий с контролем p < 0,05.

Таблица 2.

ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ 8-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА

Соед. №	Доза, мг/кг	Прирост объема лапки в мл через 4 часа	Противовоспалительная активность в %	Соед. №	Доза, мг/кг	Прирост объема лапки в мл через 4 часа	Противовоспалительная активность в %
1	27,3	0,50±0,03	21,9	18	30,5	0,64±0,11	–
2	26,5	0,53±0,05	17,2	19	27,5	0,60±0,09	1,6
3	22,9	0,46±0,03*	28,1	20	29,2	0,48±0,02*	21,3
4	23,8	0,63±0,09	1,6	21	29,2	0,44±0,03*	27,9
5	20,3	0,62±0,07	3,1	Контроль	–	0,61±0,03	–
6	13,9	0,67±0,07	–	22	33,8	0,58±0,07	–
7	17,3	0,61±0,05	4,7	23	25,5	0,52±0,09	8,8
Контроль	–	0,64±0,09	–	24	27,5	0,50±0,06	12,3
8	11,3	0,68±0,12	–	25	30,0	0,46±0,03	19,3
9	11,9	0,49±0,09	16,9	26	20,0	0,48±0,07	15,8
10	14,6	0,61±0,07	–	27	27,9	0,59±0,11	–

Продолжение Табл. 2

11	18,1	0,59±0,06	–	28	24,6	0,61±0,06	–
12	20,6	0,62±0,07	–	Контроль	–	0,57±0,04	–
13	22,8	0,52±0,09	11,9	29	14,0	0,58±0,09	7,9
14	26,8	0,44±0,03*	25,4	30	14,8	0,54±0,07	14,29
Контроль	–	0,59±0,03	–	31	29,3	0,56±0,08	–
15	24,9	0,54±0,10	11,5	Контроль	–	0,55±0,05	–
16	27,4	0,51±0,09	16,4	Диклофенак	8,0	0,29±0,02*	47,3
17	24,5	0,56±0,07	8,2	Мелоксикам	5,0	0,28±0,02*	49,1

Примечание. « * » — Достоверность различий с контролем $p < 0,05$.

Наибольшее противовоспалительное действие проявило соединение 3, которое в дозе 22,9 мг/кг уменьшает развитие экспериментального отека лапки у крыс на 28,1% ($p < 0,05$). Замена фениламинотетилного (соед. 3) радикала на бензиламинотетилный (соед. 2), метилтиоуксусную кислоту (соед. 1), бензиламид метилтиоуксусной кислоты (соед. 21), изобутилтиоаминотетилный (соед. 14) заместители приводит к уменьшению противовоспалительной активности этих веществ. Введение в 8-е положение молекулы ксантинового ядра, b-гидроксиэтиламинотетилного (соед. 10), (бензилимидазол-2)-тиоаминотетилного (соед. 11), этилового эфира n-метиламинобензойной кислоты (соед. 8) радикалов, приводит к утрате противовоспалительных свойств.

Таким образом, изученные 8-монозамещенные 3-метилксантины оказывают разнонаправленное аналгетическое и противовоспалительное действие в подопытных животных.

ВЫВОДЫ

В ряду 8-монозамещенных 3-метилксантина наибольший аналгетический эффект (31,1%) проявило соединение 14, содержащее в 8-м положении изобутилтиоаминотетилный радикал.

Выраженный антиэкссудативный эффект был установлен у соединения 3, содержащее в 8-м положении фениламинотетилный заместитель, которое уменьшает развитие каррагенинового отека лапки у крыс на 28,1%.

Производные 8-монозамещенных 3-метилксантина являются перспективной группой органических веществ для дальнейшего проведения целенаправленного синтеза фармакологического скрининга с целью создания на их основе НПВП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джулл А., Ватерс Д., Арролл Б. Применение пентоксифиллина для лечения язв на нижних конечностях: систематизирован-

ный обзор // Клин. фармакол. и терапия. — 2006. — Т. 15, № 1. — С. 92-96.
 2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В.Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
 3. Экспериментальне дослідження протизапальної та аналгетичної активності амонієвих солей 1,3-диметилксантинілу-7 / Самура І.Б., Прийменко Б.О., Дунаєв В.В., Свентух Д.В. // Вісник Сумського державного університету. — 2003. — № 9 (55). — С. 27-31.
 4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Издательство «Новая волна», 2005. — 1200 с.
 5. Насонов Е.Л. Нестероидные противовоспалительные препараты при ревматических заболеваниях: стандарт лечения // Рус. мед. журн. — 2001. — № 9. — С. 7-8.
 6. Рябкова А., Шостак Н., Малярова Л. Желудочно-кишечные кровотечения, обусловленные приемом нестероидных противовоспалительных препаратов // Врач. — 2004. — №4. — С. 26-27.
 7. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. — М., 2000. — 352 с.
 8. Сороцкая В.Н., Каратеев А.Е. Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями // Научно-практическая ревматология. — 2005. — № 4. — С. 34-37.
 9. Чичасова Н.В. Место медленнодействующих препаратов в рациональной терапии деформирующего остеоартроза // Consilium Medicum. — 2005. — Т. 7, № 8. — С. 634-638.
 10. A molecular mechanism of action of theophylline: Induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression / Ito K., Lim S., Caramori G. et al. // Proc Natl Acad Sci. — 2002. — №13 (99). — P. 8921-8926.
 11. Celecoxib versus naproxen and diclofenac in osteoarthritis patients: SUCCESS-1 study /

Singh G., Fort J., Goldstein J. et al. // Am. J. Med. — 2006. — Vol. 119. — P. 255-266.
 12. Garcia-Rodriguez L.A. Risk of hospitalisation for upper gastrointestinal tract bleeding associated with Ketorolac, other NSAIDs, calcium antagonists, and other antihypertensive drugs // Arch. Intern. Med. — 1998. — Vol. 158. — P. 33-39.
 13. Inflammatory response to acute myocardial infarction augments neointimal hyperplasia after vascular injury in a remote artery / Minoru T., Shiro U., Hiroyuk K. et al // Arteriosclerosis Thrombosis and Vasc. Biol. — 2006. — № 9 (26). — P. 698-672.
 14. Morgan T., Anderson A. The effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on blood pressure in patients treated with different antihypertensive drugs // J. Clin. Hypertens. — 2003. — Vol. 5, № 1. — P. 53-57.
 15. Nonnarcotic analgetic use and risk of hypertension in US women / Dedier J., Stampfer M., Hankinson S. et al. // Hypertension. — 2002. — Vol. 40. — P. 604-608.
 16. Reduced risk of upper gastrointestinal ulcer complications with celecoxib, a novel COX-2 inhibitor / Goldstein J.L., Silverstein F.E., Agrawal N.M. et al. // Am. J. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 95. — P. 1681-1690.

УДК 615.015:547.857.4

М. Г. Бакуменко

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ 8-МОНОЗАМЩЕНИХ 3-МЕТИЛКСАНТИНУ

Метою даного дослідження було вивчення протизапальної та аналгетичної активності вперше синтезованих 8-монозаміщених 3-метилксантину. Експериментальні дослідження аналгетичної активності проводили на білих щурах лінії Вістар на моделі «оцтових корчів», а вивчення впливу досліджуваних речовин на перебіг флогогенного запального процесу — на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням карагенину. Виявлені сполука 14, яка має знеболюючий ефект (зменшує кількість оцтових корчів на 31,1%), та сполука 3, яка проявила виражену протизапальну дію (зменшує розвиток експериментального карагенинового набряку лапки у щурів на 28,1%), які за активністю поступають препаратом порівняння (німесулід і диклофенак).

Встановлено, що 8-монозаміщені 3-метилксантину є перспективною групою органічних сполук для подальшого цілеспрямованого проведення синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі фармакологічних речовин з аналгетичними і протизапальними властивостями.

Ключові слова: 8-монозаміщені 3-метилксантину, аналгетична активність, протизапальна активність.

UDK 615.015:547.857.4

M. G. Bakumenko

National University of Pharmacy

THE INVESTIGATION OF ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF 8-MONO-SUBSTITUTED 3 – METHYLXANTHINE

The purpose of this research has been to investigate the anti-inflammatory and analgesic activity of the brand-new synthesized 8-mono-substituted 3-methylxanthine. The experimental studies of the analgesic activity have been carried out on the albino rats of the Wistar line with the help of the “acetic cramps” model, and the study of the substances effect for a flogogeny inflammation with the help of the model of the acute inflammatory edema caused by the subplantar administration of carrageenin.

We have identified the compound 14, which has analgesic effect (reduces the amount of “acetic cramps” to 31,1%), and the compound 3, which has a antiexudative effect (reduces the development of experimental carrageenan edema in rats’ paw to 28,1%), which are worse than comparators in their activity (nimesulide and diclofenac).

It has been established that 8-monosubstituted 3-methylxanthine are a promising group of the organic compounds for the further synthesis and pharmacological screening to produce on their basis the pharmacological compounds with analgesic and anti-inflammatory properties.

Key words: 8-monosubstituted 3-methylxanthine, analgesic activity, antiexudative activity.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НФаУ
 тел.: 057-700-36-34

Надійшла до редакції:

27.06.2013 р.

УДК: 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

АНАС ФАТТАЛ, Л. Н. МАЛОШТАН, Н. В. ДЕРКАЧ

Національний фармацевтичний університет

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ТАБЛЕТОК ИЗ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ

Проведены исследования по изучению гепатопротекторной и антиоксидантной активности таблеток из экстракта коры осины. Установлена выраженная эффективность препарата на модели экспериментального токсического гепатита у крыс, вызванного тетрахлорметаном. Исследуемый препарат — таблетки из экстракта коры осины — по гепатопротекторной и антиоксидантной активности не уступает известному препарату силибору. Приведенные результаты свидетельствуют о перспективности использования таблеток из экстракта коры осины при остром токсическом гепатите.

Ключевые слова: таблетки из экстракта коры осины, гепатопротекторная активность, перекисное окисление липидов.

ВСТУПЛЕНИЕ

Среди заболеваний органов пищеварения около 40% составляют заболевания печени. Это связано с увеличением давления на организм человека различных токсических веществ, ксенобиотиков, загрязнения окружающей среды. Все эти факторы, в первую очередь, оказывают влияние на метаболизм и биотрансформацию печени, вызывая ее повреждения. Учитывая вышесказанное, а также ограниченный арсенал отечественных гепатопротекторов растительного происхождения, актуальным является поиск и расширение новых высокоактивных и низкотоксичных фармацевтических препаратов [10].

Ранее был изучен фитохимический состав и подтверждены фармакологические свойства сухого экстракта из коры осины, в состав которого входят такие биологически активные вещества как флавоноиды, салицилаты, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, незаменимые аминокислоты, токоферолы и др. [1, 5–7, 13]. В Тернопольском государственном медицинском университете им. И. Я. Горбачевского под руководством доктора фармацевтических наук, заведующего кафедрой управления и экономики фармации, профессора Грошового Т. А. создана лекарственная форма — таблетки из экстракта коры осины (ТЭКО) [12]. Поэтому целью нашего исследования было изучение влияния препарата ТЭКО на процессы цитолиза, перекисного окисления

липидов (ПОЛ) и антиоксидантной (АОС) защиты у крыс в условиях поражения печени, вызванного тетрахлорметаном.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гепатопротекторные и антиоксидантные свойства ТЭКО изучали на модели острого токсического поражения печени тетрахлорметаном, который активизирует ПОЛ в гепатоцитах и является классическим мембранотоксином [9].

Опыты проводили на белых беспородных крысах массой 170–210 г. Острый гепатит вызывали путем однократного внутривенного введения 50% масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,7 мл/кг массы тела. ТЭКО в дозе 50 мг/кг и препарат сравнения силибор (отечественный гепатопротектор с антиоксидантными свойствами растительного происхождения, содержащий полифенолы из семян расторопши пятнистой) в дозе 50 мг/кг вводили животным в лечебно-профилактическом режиме — за 14 дней до введения тетрахлорметана и на фоне моделирования гепатита. Животные интактного контроля и контрольной патологии получали эквивалентное количество воды. Через 24 часа после последнего введения гепатотоксина и исследуемых препаратов животных выводили из эксперимента, собирали кровь, делали резекцию печени для определения ее массового коэффициента и приготовления гомогената для проведения биохимического анализа [9, 13].

Эффективность исследуемых ТЭКО оценивали визуально по морфологическому состоянию печени, показателям активности маркерных ферментов цитолиза АлАТ и АсАТ в сыворотке крови крыс с помощью стандартного набора реактивов «АТ РЕАГЕНТ» (г. Днепропетровск). Для определения интенсивности процессов ПОЛ и антиоксидантных свойств исследуемых препаратов в гомогенате печени определяли содержание ТБК-активных продуктов по методу Стальной Г.Д. и уровень восстановленного глутатиона ВГ [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Токсическое поражение печени сопровождается морфологическими нарушениями печени, выраженной интенсификацией процессов

свободно-радикального окисления, что отрицательно влияет на метаболические процессы, структуру и функции гепатоцитов. [9]. Поэтому для коррекции таких патологий важным является создание, изучение и применение растительных препаратов, которые наряду с противовоспалительными и другими видами фармакологической активности проявляют антиоксидантную, мембрано-стабилизирующую активность [2,4]. Результаты исследования представлены в таблицах 1–3. В результате эксперимента установили, что у животных группы контрольной патологии печень имеет ярко желтый цвет, нарушена морфологическая структура и весовые коэффициенты в 1,5 раза выше, чем у животных, которых лечили ТЭКО и силибором (табл.1).

Таблица 1

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И МАССА ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА (N=7)

Условия опыта	Выживание, %	Средняя масса печени, г или массовый коэффициент печени
Интактный контроль	100	3,96±0,27
Контрольная патология	46,5	5,64±0,37*
ТЭКО, 50 мг/кг	100	4,07±0,43**
Силибор, 50 мг/кг	100	4,13±0,41**

Примечание:

* — отклонение достоверно по отношению к интактному контролю, P<0,05;

** — отклонение достоверно по отношению к контрольной патологии, P<0,05.

Исследуемый препарат ТЭКО и препарат сравнения силибор способствуют восстановлению трофических процессов печени животных на фоне тетрахлорметанового гепатита, о чем свидетельствует 100% выживаемость и снижение массового коэффициента печени в 1,4 раза.

Острый гепатит характеризуется синдромом цитолиза: в сыворотке крови достоверное, в отношении интактного контроля, повышение активности ферментов АлАТ и АсАТ в 2,5-2 раза, соответственно, что свидетельствует о нарушении структуры мембран гепатоцитов (табл.2).

Таблица 2

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ЦИТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА (N=7)

Показатель	Условия опыта			
	Интактный контроль	Контрольная патология	ТЭКО, 50 мг/кг	Силибор, 50 мг/кг
АлАТ, ммоль/ч·л	0,45±0,18	1,86±0,31*	0,69±0,52**	0,71±0,44**
АсАТ, ммоль/ч·л	2,43±0,26	9,11±0,31*	3,06±0,28**	4,15±0,54**

Примечание:

* — отклонение достоверно по отношению к интактному контролю, P<0,05;

** — отклонение достоверно по отношению к контрольной патологии, P<0,05.

Под влиянием ТЭКО и силибора достоверно снизился синдром цитолиза, о чем свидетельствует уменьшение концентрации цитолити-

ческих ферментов в сыворотке крови АлАТ в 2,7 и в 1,2 раза; АсАТ в 2,9 и 2,2 раза, соответственно.

В группе контрольной патологии наблюдается снижение активности антиоксидантной системы (АОС), о чем свидетельствует уменьшение уровня восстановленного глутатиона в гомогенате печени в 1,6 раза, активация процессов переки-

сного окисления (ПОЛ), которое характеризуется достоверным повышением ТБК-реактантов (конечных продуктов окисления липидов) в 1,5 раза по сравнению с группой интактного контроля (табл. 3).

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ПОЛ-АОС В ГОМОГЕНАТЕ ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА (N=7)

Условия эксперимента	Интактные животные	Контрольная патология	патология + ТЭКО 50мг/кг	патология + силибор 50мг/кг
В сыворотке крови				
ТБК-реактанты	1,12±0,02	2,88±0,13*	1,20±0,05**	1,89±0,06
ВГ, усл. ед.	28,63±2,37	9,45±1,04*	26,98±3,17**	20,51±1,48
В гомогенате печени				
ТБК-реактанты	75,20±4,21	166,44±4,61*	81,72±2,26**	98,64±3,82**
ДК, мкмоль/г	9,19±0,54	20,18±0,55*	10,65±0,49**	13,72±0,48**
ВГ, усл. ед.	75,98±3,45	24,88±1,63*	59,15±2,56**	56,49±3,05**

Примечание:

* — отклонение достоверно по отношению к интактному контролю, P<0,05.

** — отклонение достоверно по отношению к контрольной патологии, P<0,05.

Введение препаратов ТЭКО и силибора опытным животным в лечебно-профилактическом режиме способствовало восстановлению биохимических и функциональных показателей печени, о чем говорит достоверное снижение в гомогенате печени крыс промежуточных продуктов ПОЛ ДК в 1,4 и 1,3 раза и конечных продуктов ПОЛ ТБК-реактантов в 1,6 и 1,7 раз, соответственно. Исследуемые препараты ТЭКО и силибор способствуют восстановлению функции АОС, о чем говорит повышение концентрации ВГ в гомогенате печени в 1,5 и 1,2 раза и в сыворотке крови в 2,7 и 1,9 раза, соответственно.

Результаты биохимических исследований показали, что на фоне применения ТЭКО наблюдается снижение интенсивности процессов свободно-радикального окисления, о чем свидетельствует уменьшение уровня ДК в гомогенате печени, снижение уровня ТБК-реактантов в гомогенате и сыворотке крови и повышения уровня ВГ.

Полифенольный комплекс препарата ТЭКО при взаимодействии со свободными радикалами ксенобиотиков способен образовывать малоактивные вещества, которые ограничивают на разных уровнях процессы ПОЛ и этим лимитируют не только процессы СРО, но и замедляют каскад цитолитических процессов [3,8].

Вышеприведенные данные свидетельствуют о том, что ТЭКО в дозе 50 мг/кг, также как и препарат сравнения силибор в дозе 50 мг/кг, про-

являет цитопротекторное действие, обусловленное антицитолитическими, антиоксидантными, мембраностабилизирующими и противовоспалительными свойствами. Сравнительная эффективность антиоксидантного действия препаратов, можно сказать, что препарат ТЭКО обладает более выраженным восстанавливающим и регулирующим действием на печень, по сравнению с силибором, что позволяет рассматривать его как перспективный гепатопротекторный препарат.

ВЫВОДЫ

Установлена выраженная гепатопротекторная активность препарата ТЭКО, которая реализуется за счет антиоксидантных, антицитолитических и мембраностабилизирующих свойств полифенольного комплекса экстракта. Это сопровождается улучшением функциональной активности гепатоцитов, уменьшением выраженности цитодеструктивных процессов, торможением процессов перекисного окисления липидов и восстановлением антиоксидантной защиты организма животных.

Препарат ТЭКО по гепатопротекторной и антиоксидантной активности превышает препарат сравнения силибор.

Экспериментальные данные показали, что таблетки из экстракта коры осины являются перспективным гепатопротекторным средством, которые можно рекомендовать для профилактики и лечения острого токсического гепатита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анас Фаттал, Деркач Н.В., Малоштан Л.М. Анальгетическая активность таблеток коры осины на модели горячей пластины / «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Тези доповідей. — Харків -2012 том II — С.356.
2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. — К.: Наукова думка, 1976. — 260 с.
3. Біофлавоноїди: спектр дії / Н.О.Горчакова, В.А.Туманов, І.С.Чекман, О.В.Стефанов та ін. // Фітотерапія. Часопис. — 2003. — № 1-2. — С. 10-13.
4. Бобырев В.Н. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей — основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами / В.Н.Бобырев, В.Ф.Почеряева, С.Г.Стародубцев // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1994. — № 1. — С. 47-54.
5. Бородіна Н.В. Фармакогносичне дослідження рослин роду тополя : автореф. дис. на здобуття наук. Ступеня канд. фарм. наук : спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / Н.В. Бородіна. — К.; 2007. 21 с.
6. Бородіна Н.В. Кількісне визначення фенольних сполук *Popula tremula* L. / Н.В. Бородіна, В.М. Ковальов // Фармаком. — 2004. — №1. — С.75-78.
7. Деркач Н.В. Протизапальна активність водного екстракту з кори осики : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 14.03.05. «Фармакологія» / Н.В. Деркач. — К., 2006. — 20 с.
8. Дубинская В.А. Влияние природных веществ растительного происхождения на активность ферментов антиоксидантной защиты / В.А. Дубинская, М.Ф. Микеева, В.К. Камир // Биоантиоксидант: Международный симпозиум в рамках международной выставки «Медицина и охрана здоровья. Медтехника и аптека», Тюмень, 16-19 сентября. — Тюмень. — 1997. — С.49-50.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
10. Доркина Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е.Г. Доркина / Эксперим. и клинич. Фармакология. — 2004. — Т. 67, № 6. — С. 41-45.
11. Патент на корисну модель № 70513, Україна. МПК А 61/К 36/00. Лікарська форма на основі кори осики/ О.І. Онишків, Т.А. Грошовий, С.В. Ковальов, Н.В. Бородіна, Н.В. Деркач, Л.М.Малоштан — у 2011 15380, заявл. 26.12.2011. Опубл. 11.06. 2012. — Бюл. №11.
12. Патент на корисну модель № 70554, Україна. МПК А 61 К 36/00, А 61 К 31/00. Таблетований противиразковий засіб / О.І. Онишків, Т.А. Грошовий, С.В. Ковальов, Н.В. Бородіна, Н.В. Деркач, Л.М.Малоштан — у 2012 02204. Заявл. 24.02.2012; Опубл. 11.06.2012. — Бюл. №11.
13. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили. — М.: Медицина, 1977. — С. 63-68.
14. Талыкова, Н.М. Фармакотехнологическое исследование коры осины обыкновенной: Автореф. дисс....канд. фармац. наук.- Барнаул,1996.- 25с.

УДК: 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

Анас Фаттал, Л. М. Малоштан, Н. В. Деркач
Національний фармацевтичний університет

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТУ КОРИ ОСИКИ

Проведені дослідження по вивченню гепатопротекторної та антиоксидантної активності таблеток з екстракту коры осики. Встановлено виражена ефективність препарату на моделі експериментального токсичного гепатиту у щурів, викликаного тетрахлорметаном. Досліджуємий препарат —таблетки з коры осики — по гепатопротекторній та антиоксидантній активності не поступається відомому препарату сілібору. Наведені результати свідчать про перспективність використання таблеток з коры осики при гострому токсичному гепатиті.

Ключові слова: таблетки з екстракту коры осики, гепатопротекторна активність, перекисне окислення липідів.

UDC: 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

Anas Fattal, L. N. Maloshtan, N. V. Derkach

National University of Pharmacy

HEPATOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PILLS FROM THE ASPEN BARK

EXTRACT

Study of the hepatoprotective and antioxidant activity of the pills with aspen bark extract was conducted. Marked efficacy of the drug in experimental model of hepatotoxicity in rats, which induced by carbon tetrachloride, was set. The studied drug — pills from the aspen bark extract — has hepatoprotective and antioxidant activities the same as the famous drug «Silibor». These results suggest to use the tablets with the aspen bark extract in acute toxic hepatitis.

Key words: pills from the aspen bark extract, hepatoprotective activity, lipid peroxidation.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельнікова, 12,
кафедра фізіології та анатомії НФаУ

Надійшла до редакції:

17.06.2013 р.

УДК 616.61-008-099-092.9:546.48-38

М. В. ДІКАЛ

Буковинський державний медичний університет

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ.

На 30 білих нелінійних щурах-самцях із токсичним отруєнням хлоридом кадмію ($CdCl_2$) досліджено зміни функціонального стану нирок. Встановлено, що на фоні інтоксикації знижувався добовий діурез, підвищувалася концентрація та екскреція іонів калію. Спостерігалась ретенційна азотемія та знижувалась швидкість клубочкової фільтрації порівняно з контролем. Уведення екзогенного мелатоніну призводило до корекції досліджуваних показників, наближаючи їх до значень контролю.

Ключові слова: щури, функціональний стан нирок, $CdCl_2$, мелатонін.

ВСТУП

Беручи до уваги, що з кожним роком зростає забруднення довкілля солями важких металів, в тому числі й кадмієм, який виявляють у підвищених концентраціях не тільки в компонентах навколишнього середовища, а й у кормах і деяких продуктах харчування [1,6]. Надходження кадмію до організму людини і тварин призводить до акумулювання катіонів металу в клітинах тканин і органів, що з часом проявляється порушенням їхньої функціональної активності [7,8]. Однією з ланок у механізмах дії хлориду кадмію є стимуляція вільнорадикальних процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до порушення функцій проксимальних каналців нефрону, з наступним розвитком клітинної патології [2,3,9]. А мелатонін — найбільш сильний і універсальний ендогенний антиоксидант, присутній в усіх клітинних структурах, включаючи ядро. Його вважають ефективним перехоплювачем і нейтралізатором вільних радикалів — -ОН, -ООН, $O^{\cdot-}$, NO \cdot , ONOO \cdot , які володіють вираженою нефротоксичною дією. Також мелатонін стимулює активність антиоксидантних ферментів — глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, супероксиддисмутази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Тому проблема профілактики і корекції кадмієвої інтоксикації є актуальною [10,11].

МЕТА

З'ясувати вплив мелатоніну на функціональний стан нирок щурів за умов токсичної дії хлориду кадмію.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проведені на 30 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16–0,20 кг, яким вводили $CdCl_2$ внутрішньом'язово в дозі 2.5 мг/кг одноразово. Екзогенний мелатонін вводили через 6 годин в дозі 5 мг/кг одноразово.

Функціональний стан нирок досліджували за умов водного навантаження. Щурам внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда вводять водопровідну воду підігріту до температури 37°C в кількості 5% від маси тіла. Величину діурезу (V) оцінюють в мл/2 год/100 г чи кг маси тіла. Після водного навантаження з метою отримання плазми проводимо етаназію тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, кров збирають у пробірки з гепарином. Швидкість клубочкової фільтрації (C_{cr}) оцінюють за кліренсом ендогенного креатиніну, яку розраховують за формулою

$$C_{cr} = U_{cr} \cdot \frac{V}{P_{cr}}$$

де U_{cr} і P_{cr} — концентрації креатиніну в сечі і плазмі крові відповідно.

Відносну реабсорбцію води ($RH_2O\%$) розраховували за формулою:

$$RH_2O\% = \frac{C_{cr} - V}{C_{cr}} \cdot 100\%$$

Екскрецію іонів калію (EFK^+) оцінюють за формулою:

$$EFK^+ = V \cdot UK^+$$

де, UK^+ , — концентрації іонів натрію, калію в сечі.

У сечі концентрацію креатиніну визначають за методом Фоліна, у плазмі крові за методом Поппера у пропису Мерзона А.К. [5], у нашій модифікації. Концентрацію білка в сечі визначають сульфосаліциловим методом за методом Міхеєвої А.І. та Богодарової І.А. [4], концентрації іонів натрію і калію в плазмі крові, сечі визначають методом фотометрії полум'яз з використанням фотометра ФПЛ-1. Евтаназію тварин здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄЕС).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.
За умов уведення мелатоніну при кадмієвій інтоксикації спостерігали наступні зміни функціонального стану нирок, які показані у таб.1

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

За умов уведення мелатоніну при кадмієвій інтоксикації спостерігали наступні зміни функціонального стану нирок, які показані у таб.1

Таблиця 1

ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІЇ НИРОК ЗА УМОВ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА КОРЕКЦІЇ МЕЛАТОНІНОМ (X±SX)

Показники	Контроль (n=10)	Кадмієва нефропатія (n=10)	Кадмієва нефропатія + мелатонін (n=10)
Діурез, мл/2 год · 100 г	4,1±0,12	1,7±0,59 p<0,001	3,9±0,30 p<0,01
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	2,8±0,22	13,2±3,64 p<0,01	10,5±1,76 p<0,001
Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год · 100 г	11,1±0,72	22,6±8,10	35,5±2,76 p<0,01
Концентрація іонів калію в крові, ммоль/л	4,7±0,09	5,08±0,166	6,1±0,59 p<0,01
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	58,8±1,98	173,5±25,81 p<0,001	95,5±4,76 p<0,001 p ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв·100 г	958,8±46,98	63,8±24,81 p<0,001	295,5±34,66 p<0,001 p ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	96,4±0,23	71,9±4,81 p<0,001	88,9±1,24 p<0,001 p ₁ <0,02
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну, од.	28,8±1,95	4,5±0,82 p<0,001	10,5±1,82 p<0,001 p ₁ <0,001
Концентрація білка в сечі, г/л	0,08±0,020	0,90±0,130 p<0,001	0,12±0,010 p<0,05 p ₁ <0,001
Екскреція білка, мг/100 мкл C _{cr}	0,03±0,002	4,90±0,410 p<0,001	0,15±0,010 p<0,001 p ₁ <0,001

p — вірогідність різниць порівняно з контролем;
n — число спостережень.

Уведення мелатоніну щурам з кадмієвою нефропатією викликало збільшення діурезу і майже нормалізувало кінцевий об'єм сечі. Концентрація калію та його екскреція не змінювались і залишалися вище контролю. Концентрація креатиніну в плазмі крові знижувалась, що в свою чергу було пов'язано із зростанням швидкості клубочкової фільтрації. Підвищувалися показ-

ники реабсорбції води і концентраційний індекс ендogenous креатиніну на фоні зниження концентрації білка в сечі та його екскреції.

ВИСНОВОК

За кадмієвої інтоксикації мелатонін покращує функціональний стан нирок, що проявляється у зростанні швидкості клубочкової фільтрації, зниженні ступеня ретенційної азотемії та протеїнурії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька, Н. Є. та ін. Кадмії в організмі людини і тварин. Вплив на функціональну активність органів і систем // Біологічні Студії / Studia Biologica.- 2010. — Т. 4, №3.- С.125-136.
2. Висоцька В.Г., Кривчанська М.І., Черновська Н.В. та ін. Тубулярні пошкодження нирок щурів при впливі комбінованої дії солей важких металів // Укр. ж. екстрим. мед. — 2011.- Т.12, №4. — С.56-59.
3. Ерстенюк Г.М. Морфологічна перебудова нирки за умов корекції кадмієвої інтоксикації унітіолом / Ерстенюк Г.М., Дельцова О.І. // Галиц. лікар. вісн. -2002. — Т.9, №2. — С.31-33.
4. Михеева А.И. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 / Михеева А.И., Богодарова И.А. // Лаб. дело. - 1969.- N 7. — С.441-442.
5. Мерзон А.К. Сравнительная оценка методов химической индикации креатинина / Мерзон А.К., Титаренко О.Т., Андреева Е.К. // Лаб. дело.-1970, N 7.- С.416-418.
6. Нейко Є.М. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів / Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. // Журн. АМН України — 2003. — Т.9, №2. — С.250-261.
7. Панас Н. Є. Акумуляція кадмію в органах білих щурів за умов введення CdCl₂ / Н. Є.Панас, Г. Л. Антоняк, В. В. Снітинський, С. Кондрацький // Біологія тварин. — 2005. — Т. 7. — С.31-50.
8. Azevedo Lemos Valfredo Determination of cadmium and lead in human biological samples by spectrometric techniques: A riview / Azevedo Lemos Valfredo, Lago de Carvalho Anaïldes // Environ Monit and Assess.- 2010.- Vol.171, № 1-4. — P.255- 265.
9. Czczot H. Cadmium — element completely unnecessary for the organism / Czczot H., Skrzycki M. // Postepy Hig. Med. Dosw.- 2010.- Vol.64, P.38-49.
10. Gobe G., Crane D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney / Gobe G., Crane D. // Toxicol. Lett.- 2010.- Vol.198,- № 1.- P.49-55.
11. Tsuda T., Ide M., Iigo M. Influence of season and of temperature, photoperiod, and subcutaneous melatonin on the glomerular filtration rate of ewes // J. Pineal Res. — 1995. — Vol. 19. — P. 166-172.

УДК 616.61-008-099-092.9:546.48-38

М. В. Дикал

Буковинський державний медичний університет

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК КРЫС ПРИ УСЛОВИЯХ ТОКСИЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА КАДМИЯ

На 30 белых нелинейных крысах-самцах с токсичным отравлением хлоридом кадмия (CdCl₂) исследовано изменения функционального состояния почек. Установлено, что на фоне интоксикации снижался суточный диурез, повышалась концентрация и экскреция ионов калия. Наблюдалась ретенционная азотемия и снижалась скорость клубочковой фильтрации в сравнении с контролем. Введение экзогенного мелатонина приводило к коррекции исследуемых показателей, приближая их к значениям контроля.

Ключевые слова: крысы, функциональное состояние почек, CdCl₂, мелатонин.

UDC 616.61-008-099-092.9:546.48-38

M. V. Dikal

Bukovinian State Medical University

THE EFFECT OF MELATONIN ON THE FUNCTIONAL CONDITION OF THE RATS KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF A TOXIC ACTION OF CADMIUM CHLORIDE

Changes of the functional condition of the kidneys have been investigated on 30 albino nonlinear male rats with toxic poisoning by cadmium chloride (CdCl₂). It has been established that the diuresis decreased the concentration and excretion of potassium ions elevated. Retention azotemia was observed and the glomerular filtration rate lowered as compared with the control. The introduction of exogenous melatonin resulted in a correction of the indicated study, approximating them to the control values.

Key words: rats, renal functional condition, (CdCl₂), melatonin.

Адреса для листування:

Надійшла до редакції:

58000, м. Чернівці, вул. Б. Хмельницького, 23/6,
тел.: 057-700-36-34

5.06.2013 р.

УДК 577.126:57.042

А. Л. ЗАГАЙКО, О. А. КРАСИЛЬНИКОВА, А. Б. КРАВЧЕНКО, С. В. ЗАЙКА,
Э. Л. ТОРЯНИК

Национальный фармацевтический университет

**ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ
КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН
ВИНОГРАДА**

Розвиток цукрового діабету (ЦД) негативно позначається на стані печінки, порушуючи обмін білків, амінокислот, жирів та інших речовин в гепатоцитах, що, у свою чергу, призводить до розвитку хронічних захворювань печінки. Метою роботи було вивчення ліпотропної, антиоксидантної активності концентрату поліфенолів з насіння винограду, а також його вплив на стан печінки на моделі ЦД1 і ЦД2. Концентрат поліфенолів з насіння винограду проявив антиоксидантну, ліпотропну і гепатопротекторну активність на обох експериментальних моделях. Однак більш виражену ліпотропну дію було показано на моделі ЦД2.

Ключові слова: поліфеноли, цукровий діабет, фосфоліпіди, триацилгліцерини, холестерин, печінка.

Сахарный диабет (СД) — наиболее распространенное заболевание эндокринной системы, характеризующееся нарушением всех видов обмена веществ, и в первую очередь углеводного [1]. Больные сахарным диабетом того или иного типа часто страдают от разнообразных осложнений этого недуга, а также от сопутствующих заболеваний. Нередко при сахарном диабете развиваются различные заболевания печени [2].

Заболевания печени при сахарном диабете диагностируются как у больных сахарным диабетом первого типа, так и у лиц, страдающих инсулиннезависимым диабетом, однако характер поражения печени в этих случаях, как правило, разный [3, 4]. Развитие СД негативно сказывается на состоянии печени, нарушая обмен белков, аминокислот, жиров и других веществ в гепатоцитах, что, в свою очередь, предрасполагает к развитию хронических заболеваний печени [5]. В норме в состоянии натощак удерживается баланс между продукцией глюкозы печенью и ее утилизацией мышцами. После еды в ответ на повышение уровня глюкозы в крови возрастает концентрация инсулина. В норме инсулин стимулирует образование гликогена в печени и тормозит глюконеогенез и гликогенолиз. При резистентности печени к действию инсулина происходит переключение процессов метаболизма: усиливается синтез и секреция в кровь глюкозы, начинается распад гликогена, а его образование и накопление в печени угнетается. При инсулинорезистентности в скелетных мышцах

нарушаются поступление глюкозы и ее утилизация клеткой [6]. В клинических испытаниях СД 2 типа от 2 до 24% пациентов имели уровни печеночных ферментов, превышающие верхнюю границу нормы. Чаще всего такая клиническая ситуация была обусловлена жировой болезнью печени или хроническим гепатитом.

Одним из перспективных направлений современной фармакологии является использование биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения. В частности, интерес представляют пищевые концентраты из Винограда культурного, которые содержат полифенолы, проявляющие противовоспалительные, антиоксидантные, гепатопротекторные свойства, [7,8]. Для получения концентратов полифенолов винограда в Украине существует достаточная сырьевая база. Вышеназванные факторы стали предпосылкой для фармакологического изучения концентрата полифенолов из виноградных семян, что преследовало целью изучить влияние новой субстанции на состояние липидного обмена, а также показатели функционального состояния печени на модели СД1 и СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты по изучению гипогликемической, липотропной, антиоксидантной и гепатопротекторной активности проводили на белых беспородных крысах-самцах, возрастом 8-12 месяцев, масса 260-280 г, содержащихся на стандартном рационе вивария НФаУ.

СД1 у животных вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения раствора стрептозотоцина (СТЦ) («Sigma», США) в 1 М цитратном буфере рН 4,5 в дозе 55 мг/кг массы тела [9]. Развитие диабета контролировали измерением уровня глюкозы и инсулина в сыворотке крови крыс. Диагноз «диабет» был поставлен после того, как уровень глюкозы в сыворотке крови, взятой натощак, было больше 14 ммоль/л. СД2 моделировали содержанием животных на диете с высоким уровнем фруктозы (60 г/ на 100 г диеты) в течение 60 дней [10]. Концентрат полифенолов виноградных семян вводили внутривентрикулярно. Доза фенольных соединений, 9 мг/100 г массы тела, была рассчитана на основе данных литературы [10].

После этого крысы были распределены на 6 экспериментальных групп по 7 крыс: 1-я группа — интактные животные; 2-я группа — животные с СД1; 3-я группа — животные с СД1, которые через 30 дней в течение 15 дней получали концентрат полифенолов; 4-я группа — животные, с СД2; 5-я группа — животные, с СД2, которые с 45 дня в течение 15 дней получали концентрат полифенолов; 6-я группа — животные, которые в течение 15 дней получали концентрат полифенолов.

После окончания эксперимента животных декапитировали. Кровь собирали для получения сыворотки. Печень перфузировали холодной средой выделения (0,25 М сахароза в 0,025 М трис-НCl, рН 7,5), гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера из расчета 1 г печени в 2 мл среды выделения. Все манипуляции с животными проводили под хлоралозо-уретановым наркозом [11]. Содержание триацилглицеринов (ТГ) определяли по реакции формальдегида, кото-

рый образовался при окислении глицерина [12], с солянокислым фенолгидразином. Свободный глицерин образуется после омыления глицеридов с помощью щелочи. Содержание свободных жирных кислот (СЖК) определяли по реакции их медных солей с диэтилдитиокарбаматом [12].

Содержание холестерина (ОХС) определяли по реакции с хлорным железом (растворенным в ортофосфорной кислоте) [13]. В некоторых случаях концентрацию ОХС определяли с помощью стандартных ферментативных холестеролоксидазных наборов фирмы «Boehringer Mannheim Gmb diagnostica» (Германия). Концентрацию общих липидов определяли с помощью стандартного набора Eagle Diagnostics (США) — реакция с ванилиновым реактивом. Определение активности аланиаминотрансферазы (АЛТ), γ-глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной фосфатазы (ЩФ) проводили с использованием стандартных наборов реактивов. Статистическую обработку данных проводили с использованием вариационной статистики (ANOVA). P<0,05 — статистически достоверные различия.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ
ОБСУЖДЕНИЕ**

Как видно из представленных данных, развитие экспериментального сахарного диабета сопровождается глубокими изменениями обмена липидов в печени животных, которое находит свое отражение в изменении уровня липидов в сыворотке крови.

Так нами было отмечено, что у животных с СД1 имеет место увеличение содержания ОЛ, ТГ, СЖК на 1,69; 1,86; 2,1 и 1,5 раза, соответственно (табл.1).

Таблица 1

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ВИНОГРАДНЫХ СЕМЯН НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С СД1 (M±M, N=7)

Показатель	Интакт	СД1	СД1+ПФ	ПФ
В ткани печени				
ОЛ, мг/г ткани	169,21±	251,12±	232,18±	165,61±
ХС, ммоль/г	17,78±2,05	16,67±2,62	17,82±3,87	17,43±1,95
ТГ, мг/г	6,17±0,17	13,29±1,21*	10,45±0,55*/**	6,53±0,78
СЖК, ммоль/г	4,13±0,57	6,93±0,45*	4,96±0,51**	4,17±0,38
ОФЛ, ммоль/г	42,67±2,05	24,78±2,62*	35,82±3,87*/**	41,74±3,01\
В сыворотке крови				

Продолжение Табл. 1

ОЛ, мг/мл	1,87±0,08	2,53±0,24*	2,13±0,43**	1,85±0,09
ХС, ммоль/л	5,72±0,34	6,31±0,80	5,88±0,48*/**	5,68±0,38
ТАГ, мг/мл	0,51±0,17	1,69±0,13*	0,95±0,09**	0,55±0,89
СЖК, ммоль/л	1,30±0,14	2,02±0,19*	1,57*/**±0,06	1,35±0,37
ОФЛ, ммоль/л	12,93±0,53	8,11±0,53*	9,23±0,49*/**	13,05±0,67

Примечания:

* — отклонения достоверны относительно интактного контроля;

** — отклонение достоверно относительно контрольной патологии;

Содержание ФЛ в печени крыс при этом достоверно уменьшалось в 1,7 раза. Введение животным

изучаемого полифенольного концентрата привело к достоверному снижению данных показателей. Изменение метаболизма липидов в печени у животных с экспериментальным СД безусловно находит свое отражение в изменении содержания липидов сыворотки крови. Нами было показано, что у животных с СД1 повышается содержание ОЛ, по-видимому за

счет увеличения содержания ТГ, СЖК, тогда как содержание ОФЛ было достоверно ниже контроля (табл. 2). При этом содержание ХС в сыворотке крови достоверно не изменялось, что согласуется с данными литературы. В то же время, также наблюдалось увеличение активности целого ряда ферментов в сыворотке крови: АЛТ, ЩФ, ГГТП (табл. 2).

Таблица 2.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ВИНОГРАДНЫХ СЕМЯН НА МОДЕЛИ СД1, (M±M, N=6)

Показатель	Интакт	СД1	СД1+ПФ	ПФ
В ткани печени				
ТБК-АП, мкмоль/г	63,03±4,80	75,56±3,41*	69,23±5,28**	69,23±4,71**
ВГ, усл. ед.	44,85±4,38	32,73±2,83*	37,92±3,71**	48,48±2,19**
Каталаза, мкат/л	2,64±0,19	4,03±0,19	2,96±0,19**	2,50±0,26
В сыворотке крови				
АЛТ, ммоль/г*л	0,76±0,07	1,58±0,07*	1,26±0,09*/**	0,99±0,08*/**
ГГТП ммоль/г*л	3,09±0,21	6,45±0,75*	4,65±0,25*/**	3,99±0,28**
ЩФ, мкат/л	3,25±0,24	4,63±0,32*	3,98±0,12**	3,53±0,19**

Примечания:

* — отклонения достоверны относительно интактного контроля;

** — отклонение достоверно относительно контрольной патологии;

Развитие экспериментального СД1 сопровождается активацией процессов свободно-радикального окисления. Так, в гомогенате печени отмечено увеличение содержания ТБК-реактивных продуктов (табл. 2), отмечено также снижение содержания восстановленного глутатиона и повышение активности каталазы, что свидетельствует о напряжении ферментативного звена ан-

тиоксидантной системы в данных экспериментальных условиях.

Известно, что выраженная декомпенсация углеводного обмена при сахарном диабете сопровождается транзиторными нарушениями липидного обмена, которые уменьшаются или даже нормализуются при полной компенсации диабета. Указанные взаимоотношения между

состоянием углеводного и липидного обмена чаще наблюдаются у больных сахарным диабетом типа 1. Так, компенсация углеводного обмена у больных сахарным диабетом типа 1 приводит почти к полной нормализации липидного обмена [14]. В тоже время, следует отметить, что после введения животным исследуемого полифенольного концентрата достоверно снизилась активность изученных ферментов в сыворотке крови, а также достоверно увеличился уровень восстановленного глутатиона, понизилась активность каталазы и содержание ТБК-реактантов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что изучаемая субстанция обладает ан-

тиоксидантной, гепатопротекторной и липотропной активностью у животных с экспериментальным СД1. Однако полной компенсации и нормализации показателей обнаружено не было, что, по-видимому, связано с тем, что высокий уровень глюкозы продолжил сохраняться на протяжении всего эксперимента, а полифенолы винограда не были достаточно эффективны на модели СД1.

Следующим этапом нашей работы было изучение особенности содержания липидов в печени и сыворотке животных с экспериментальным СД2. Полученные результаты представлены в табл. 3. Следует отметить, что при СД2 имеет место повышение ХС.

Таблица 3

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ВИНОГРАДНЫХ СЕМЯН НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С СД2 (M±M, N=7)

Показатель	Интакт	СД2	СД2+ПФ	ПФ
В ткани печени				
ОЛ, мг/г ткани	171,71±	259,74±	162,11±	165,61±
ХС, ммоль/г	17,78±2,05	29,66±2,62*	19,82±3,87*/**	17,43±1,95
ТГ, мг/г	6,17±0,17	13,75±1,21*	8,45±0,55*/**	6,53±0,78
СЖК, ммоль/г	4,13±0,57	7,53±0,45*	4,74±0,51**	4,17±0,38
ОФЛ, ммоль/г	42,67±2,05	18,72±2,62*	32,83±3,87*/**	41,74±3,01\
В сыворотке крови				
ОЛ, мг/мл	1,87±0,08	2,63±0,24*	1,93±0,43**	1,85±0,09
ХС, ммоль/л	5,72±0,34	9,58±0,80*	7,75±0,48*/**	5,68±0,38
ТГ, мг/мл	0,51±0,17	1,54±0,13*	0,85±0,09**	0,55±0,89
СЖК, ммоль/л	1,30±0,14	3,79±0,19*	1,88*/**±0,06	1,35±0,37
ОФЛ, ммоль/л	12,93±0,53	8,22±0,53*	10,23±0,49*/**	13,05±0,67

Примечания:

* — отклонения достоверны относительно интактного контроля;

** — отклонение достоверно относительно контрольной патологии;

Особенности липидного спектра при СД2 характеризуется «липидной триадой», которая включает увеличение концентрации ТГ, снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛВП) и преобладание в крови мелких плотных частиц липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) фенотипа В при пограничных значениях ХС ЛПНП [15]. Такое состояние является следствием следующих событий: в результате инсулинорезистентности и недостаточной секре-

ции инсулина нарушается постпрандиальная регуляция липидов, повышается уровень свободных жирных кислот (СЖК) в крови, увеличивается выработка ЛОНП печенью и снижается их гидролиз липопротеинлипазой, что приводит к росту количества богатых ТГ циркулирующих липопротеидных частиц. Вторично снижается концентрация ХС ЛПВП из-за повышенного переноса эфиров ХС из ЛПВП в ЛОНП и хиломикроны в обмен на ТГ [16].

Особенностями дислипидемии при СД 2 типа также являются преобладание гипертриглицеридемии и снижение уровня холестерина ЛПВП [17]. В условиях инсулинорезистентности адипоциты становятся нечувствительными к антилипидическому эффекту инсулина. Весь каскад метаболических нарушений начинается с избыточного поступления в кровотоки образовавшихся в результате липолиза незэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК). Помимо усугубления инсулинорезистентности и нарушений в секреции инсулина с данным субстратом связан избыточный синтез ТГ в печени. НЭЖК также стимулируют синтез апоВ-100 в печени, который вместе с ТГ является основным компонентом для образования в значительном количестве ЛПОНП. Характерным для СД 2 типа является так же сниженный уровень ХС ЛПВП [15]. При инсулинорезистентности частицы ЛПВП также содержат в своем составе больший процент ТГ, чем в норме. Это ухудшает их основную функцию по удалению из клеток избытка холестерина и доставку его в печень в виде эфиров ХС.

Среди других вероятных причин дислипидемии, я активно обсуждается возможность генетических дефектов в синтезе ферментов, участвующих в обмене липидов [18]. Доказана неоднородность гена гормончувствительной липазы, особенно выраженная у больных с метаболическим синдромом и СД 2 типа [19]. Как полагают, дефекты в структуре гена этого энзима могут иметь отношение к повышению его актив-

ности. Это может обуславливать его слабую чувствительность к ингибирующему действию инсулина, результатом чего является липолиз ТГ в жировой ткани с выбросом НЭЖК в кровотоки. Введение животным с экспериментальной патологией субстанции приводило к снижению содержания ОЛ, ТГ, ХС в печени (табл. 3), а также снижало содержание ТГ, ХС в сыворотке крови, что может свидетельствовать о нормализации функционирования клеток печени. Данное предположение подтверждается понижением активности маркерных ферментов печени (табл. 4).

Следует также отметить, что исследуемая субстанция проявила антиоксидантную активность. Концентрат полифенолов повышал содержание ВГ, снижал уровень ТБК-реактивных продуктов и активность каталазы (табл. 4). Полученные результаты свидетельствуют о торможении процессов ПОЛ. Известно, что субстратом ПОЛ являются ненасыщенные жирные кислоты — важный компонент ФЛ мембран клеток печени. Таким образом, мы можем высказать предположение, что именно антиоксидантная активность исследуемых субстанций вносит важный вклад в нормализацию содержания ОФЛ клеток печени в данных экспериментальных условиях (табл. 4). Поскольку ОФЛ являются основным компонентом плазматических мембран, то повышение их содержания свидетельствует о нормализации функционирования мембран гепатоцитов, что подтверждается данными о снижении в сыворотке крови активности маркерных ферментов печени (табл. 4).

Таблица 4.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ВІНОГРАДНЫХ СЕМЯН НА МОДЕЛИ СД2, (M±M, N=6)

Показатель	Инттакт	СД2	СД2+ПФ	ПФ
В ткани печени				
ТБК-АП, мкмоль/г	63,03±4,80	85,74±4,41*	75,24±6,28**	69,23±4,71**
ВГ, усл. ед.	44,85±4,38	28,73±2,63*	45,95±3,71**	48,48±2,19**
Каталаза, мкат/л	2,64±0,19	3,18±0,19	2,42±0,18**	2,50±0,26
В сыворотке крови				
АЛТ, ммоль/г*л	0,76±0,07	1,28±0,07*	0,96±0,09*/**	0,99±0,08*/**
ГГТП, ммоль/г*л	3,09±0,21	5,51±0,75*	3,72±0,25*/**	3,53±0,28**
ЩФ, мккат/л	3,25±0,24	4,81±0,32*	3,76±0,12**	3,53±0,19**

Примечания:

* — отклонения достоверны относительно интактного контроля;

** — отклонение достоверно относительно контрольной патологии;

ВЫВОДЫ

Концентрат полифенолов из виноградных семян проявил антиоксидантную, липотропную и гепатопротекторную активность на экспериментальных моделях СД1 и СД2.

Установлено более выраженное липотропное действие концентрата полифенолов из виноградных семян на модели СД2.

ЛИТЕРАТУРА

- Davidson M. A review of the current status of the management of mixed dyslipidemia associated with diabetes mellitus and metabolic syndrome / M. Davidson / Am.J.Cardiol.-2008.-Vol.22, N102.-P.19L-27L.
- Trombetta M. Review article: type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study / M. Trombetta, G. Spiazzi, G. Zoppini et al. / Aliment Pharmacol Ther. — 2005. — Vol. 22. — Suppl. 2. — P. 24–27.
- Хворостинка В. Н. Заболевания гепатобилиарной системы, ассоциированные с сахарным диабетом / В.Н. Хворостинка, А.А. Янкевич, А.К. Журавлева / Международный эндокринологический журнал. — 2008. — Т. 18, № 6. — С.
- Zhu W. Biological Activities of Chinese Propolis and Brazilian Propolis on Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus in Rats / W. Zhu, M. Chen, Q. Shou, Y. Li, F. Hu / Evid Based Complement Alternat Med. — 2011. doi: 10.1093/ecam/nej025.
- Буеверов А.О. Многофакторный генез жировой болезни печени / А.О. Буеверов, П.О. Богомолов / Гепатологический форум. — 2006. — С. 6–12.
- Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes // Diabetes Care. — 2012. — Vol. 35. — P. 1–16.
- Tsai H. Y. Effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan flower on markers of metabolic syndrome in fructose-fed rats / H. Y. Tsai, L. Y. Wu, L. S. Hwang / J Agric Food Chem. 2008. — Vol. 56, N22. — P. 11018-11024.
- Terra X. Inhibitory effects of grape seed pro-cyanidins on foam cell formation in vitro / X. Terra, J. Fernandez-Larrea, G. Pujadas et al.

/ J Agric Food Chem. — 2009. — Vol. 57, N 6. — P. 2588-2594.

- Kasono K. Nicorandil improves diabetes and rat islets β-cell damage induced by streptozotocin in vivo and in vitro / K. Kasono, T. Yasu, A. Kakehashi et al. /Europ. J.Endocrinol.-2004.-Vol. 151.-P. 277-285.
- Kannappan S., Anuradha C.V. Insulin sensitizing actions of fenugreek seed polyphenols, quercetin & metformin in a rat model / S. Kannappan, C.V. Anuradha / Indian.J.Med.Res.-2009.-Vol.129. — P. 4401-4408.
- Биологические мембраны. Методы / Эванс У.Г., Морре Д.Д. и др. — М: Мир, 1990. — 424 с.
- Романова Л.А., Стальная И.Д. Современны-Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. — М.: Высшая школа, 1986. — 231 с.
- Stauch S. Oral L-ornithine-L-aspartate therapy of chronic hepatic encephalopathy: results of a placebo-controlled, double-blind study / S. Stauch, G. Kircheis, G. Adler et al. / J. Hepatol. — 1998. — Vol. 28. — P. 856–864.
- Manzato E. Lipoprotein Abnormalities in well-treated type II diabetic patients / E. Manzato, A. Zambon, A. Lapolla et al. / Diabetes Care. — 1993. — Vol. 16. — P. 469–475.
- Walter D. H. Initiation of statin therapy immediately after stent implantation: profound benefit in patients with acute coronary syndromes / D. H.Walter, S. Fichtlscherer, M. B. Britten et al. / J. Circulation. — 2000. — P. 244.
- Stamler J. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group: Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial / J. Stamler, O. Vaccaro, J. D. Neaton et al. /Diabetes Care. — 1993. — Vol.16. — P. 434–444.
- Henry R. Preventing cardiovascular complications of type 2 diabetes: focus on lipid management / R. Henry /Clinical. Diabetes. 2001. — Vol. 19. — P.2345-2348.
- Kannel W. B., McGee D. L. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham Study / W. B. Kannel, D. L. McGee /Diabetes. Care. — 1999. — Vol.2. — P. 120-126.

УДК 577.126:57.042

А. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко, С. В. Заика, Э. Л. Торяник
Национальный фармацевтический университет

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА

Развитие сахарного диабета (СД) негативно сказывается на состоянии печени, нарушая обмен белков, аминокислот, жиров и других веществ в гепатоцитах, что, в свою очередь, предрасполагает к развитию хронических заболеваний печени. Целью работы было изучение липотропной, антиоксидантной активности концентрата полифенолов из семян винограда, а также их влияние на состояние печени на модели СД1 и СД2. Концентрат полифенолов из виноградных семян проявил антиоксидантную, липотропную и гепатопротекторную активность на обох экспериментальных моделях. Однако более выраженное липотропное действие было показано на модели СД2.

Ключевые слова: полифенолы, сахарный диабет, фосфолипиды, триацилглицерины, холестерин, печень.

UDC 577.126:57.042

A. L. Zagayko, O. A. Krasilnikova, A. B. Kravchenko, S. V. Zaika, E. L. Toryanik
National University of Pharmacy

RESEARCH OF THE LIPOTROPIC ACTIVITY OF GRAPE SEEDS POLYPHENOLIC CONCENTRATE

The development of diabetes mellitus (DM) have a negative impact on the liver, disrupting the metabolism of proteins, amino acids, fats and other substances in the hepatocytes, which in turn predisposes to the development of chronic liver disease. The aim of the study was the research of lipotropic and antioxidant activity of polyphenol concentrate from grape seeds, as well as their effects on the liver on the model DM1 and DM2. The concentrate of polyphenols from grape seeds showed antioxidant, lipotropic and hepatoprotective activity in both experimental models. However, a more pronounced lipotropic effect was shown on the model of DM2.

Key words: polyphenols, diabetes mellitus, phospholipids, triacylglycerols, cholesterol, liver.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12,
кафедра біологічної хімії
тел.: 057-706-30-99

Надійшла до редакції:

24.06.2013 р.

УДК 547.455.623'233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

І. А. Зупанець, К. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Е. Л. Торяник

Національний фармацевтичний університет

МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ ПРОТИПУХЛИННОГО АНТИБІОТИКА ДОКСОРУБІЦИНА ПОХІДНИМИ ГЛЮКОЗАМІНУ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЯМИ

У експерименті на мишах досліджена ефективність похідних глюкозаміну та їх комбінацій при доксорубіциновій інтоксикації. Встановлено, що на тлі лікувального застосування досліджувані сполуки суттєво зменшують прояви загальнотоксичної дії доксорубіцину, подовжують тривалість життя у лабораторних тварин при моделюванні патології та підвищують їх виживаність. Обрані найбільш ефективні об'єкти — глюкозаміна гідрохлорид (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація глюкозаміна гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну з кверцетином (у дозі 82 мг/кг) — як перспективні коректори токсичних ефектів антрациклінових протипухлинних антибіотиків.

Ключові слова: доксорубіцин, цитотоксичність, глюкозамін, кверцетин, похідні глюкозаміну, цитопротекторна дія

ВСТУП

Онкологічні захворювання входять у число найбільш поширених причин смерті: рак займає друге місце після серцево-судинних захворювань у структурі смертності населення України [1]. Незважаючи на досягнутий прогрес у лікуванні онкологічних захворювань за допомогою сучасних протипухлинних препаратів, більшість з них мають високу системну токсичність та відсутність селективності у відношенні до пухлинних тканин. Одночасно з гнітючим впливом на пухлину, вони діють на здорові тканини і системи організму, що обумовлює їх побічні ефекти. Більшість летальних результатів у онкологічних хворих відбувається не через саму хворобу, а внаслідок побічних ефектів протипухлинних препаратів [2, 3]. Основним шляхом вирішення цієї проблеми є пошук препаратів, що нівелюють та упереджують побічну токсичну дію протипухлинних препаратів [2]. Одним з перспективних превентивних засобів при проведенні протипухлинної терапії вважається аміноцукор глюкозамін та його похідні. Глюкозамін не лише є природним метаболітом організму людини, але й володіє широким спектром фармакологічної активності та потужними органопротекторними властивостями, серед яких гепатопротекторна, кардіопротекторна, нефропротекторна, гастропротекторна тощо [4].

З огляду на наведене метою даної роботи стало вивчення ефективності використання похід-

них глюкозаміну та їх комбінацій для корекції токсичних ефектів протипухлинного антибіотика доксорубіцину в дослідях «in vivo».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти з вивчення модулюючого впливу похідних глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової інтоксикації в умовах «in vivo» проведені на 100 статевозрілих мишах-самцях масою 18–20 г. Модель відтворювали шляхом внутрішньочеревинного введення доксорубіцину гідрохлориду («Доксорубіцин-КМП») в дозі 20 мг/кг одноразово [5, 6]. Тварини були розділені на 7 досліджуваних груп: 1 група — інтактна, 2 група — група контрольної патології, яка одержувала тільки доксорубіцин (ДОКС), 3–6 — дослідні групи тварин, які щодня отримували на фоні ін'єкції доксорубіцину похідні глюкозаміну відповідно: глюкозаміну гідрохлорид (ГА г/х) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг, глюкозаміну сульфат (ГА сульфат) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг, N-ацетилглюкозамін (N-ацГА) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг та комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у співвідношенні 3:1 в перерахунку на ГА г/х) в дозі 82 мг/кг, а 7 група тварин отримувала препарат порівняння кверцетин в дозі 10 мг/кг щодня на тлі ін'єкції доксорубіцину. Показниками оцінки ефективності препаратів були загальний стан, виживаність (%), тривалість життя (дні) тварин та вагові коефіцієнти серця, легенів і печінки (%).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані нами результати у дослідях «in vivo» повністю узгоджені з відомими даними літератури стосовно вираженого токсичного впливу доксорубіцину на організм дослідних тварин [3]. У групі контрольної патології загибель мишей реєструвалась з 2-ої доби експерименту, а на 6 добу досягла 100% (рис. 1). Перед загибеллю у тварин відзначалось суттєве погіршення загального стану — зниження рухової активності, неохайний вигляд, відсутність апетиту, вздуття черева. На 6 добу експерименту в дослідних групах залишалась така кількість тварин: в групі ГА г/х — 7 (46,67%), в групі ГА сульфата — 4 (26,67%), в групі N-ацГА — 5 (33,34%), в групі комбінації ГА г/х, N-ацГА з кверцетином — 8 (53,34%), в групі кверцетину — 2 (13,34%) (рис. 1).

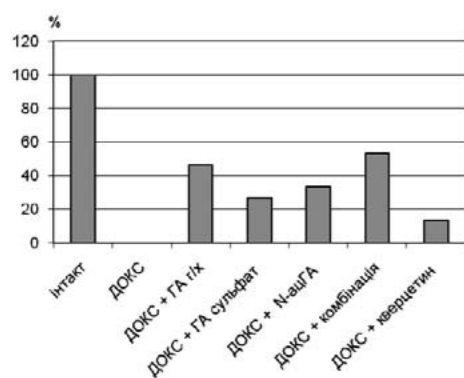


Рис. 1. Вживаність тварин у дослідних групах на 6 день експерименту

Досліджувані препарати чинили різний за вираженістю вплив на показники загального стану тварин. У групі тварин, які отримували кверцетин, максимальна смертність (70%) припала на 5 добу експерименту, а на 8 добу всі тварини загинули (табл.1). У групах, які отримували ГА сульфат та N-ацГА, тварини були малорухливі, та, на відміну від контрольної групи, не втрачали потягу до їжі та питва. Максимальна смертність в обох вищезазначених групах спостерігалася на 9 добу експерименту (73,3% у групі, яка отримувала ГА сульфат та 60% у групі, яка отримувала N-ацГА). До кінця експерименту в групі тварин, які отримували ГА сульфат, залишилися живими 2 миші (13,34%), а в групі N-ацГА — 3 (20%). У групах, які отримували ГА г/х і комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, не спостерігалось різких (максимальних) піків смертності, як в інших групах, та виражених ознак інтоксикації. Тварини були досить активні та мали добрий апетит. У групі, яка отримувала ГА г/х, до кінця експерименту живими залишилися 5 мишей (33,34%), а в групі, яка отримувала комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином — 6 мишей (40%) (табл.1). Тварини всіх дослідних груп, які вижили на кінець експерименту, не втрачали бажання до їжі та питва, не відрізнялися за зовнішнім виглядом, поведінкою від тварин інтактної групи.

Таблиця 1

Умови експерименту	Вихідна кількість тварин	Тривалість життя тварин, що вижили, доби	Вживаність на 21 день досліджу, %
Інтактна група	10	21	100
ДОКС (20 мг/кг)	15	6	0
ДОКС (20 мг/кг) + ГА г/х (50 мг/кг)	15	21	33,34
ДОКС (20 мг/кг) + ГА сульфат (50 мг/кг)	15	21	13,34
ДОКС (20 мг/кг) + N-ацГА (50 мг/кг)	15	21	20
ДОКС (20 мг/кг) + комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (82 мг/кг)	15	21	40
ДОКС (20 мг/кг) + кверцетин (10 мг/кг)	15	8	0

При розтині загинувих тварин групи контрольної патології під час макроскопічного дослідження спостерігали ознаки запалення та інфільтрації органів грудної клітки та очеревини. Показники вагових коефіцієнтів внутрішніх органів були вірогідно вищими відносно інтактної групи: ваго-

вий коефіцієнт серця в 1,34, легенів — в 1,36 та печінки — в 1,82 раза (табл.2). Введення на тлі доксорубіцину досліджуваних препаратів певним чином змінювало картину інтоксикації. У групі тварин, які отримували кверцетин на фоні ін'єкції доксорубіцину, вагові коефіцієнти серця та ле-

генів не мали вірогідних розбіжностей стосовно тварин з контрольною патологією, а ваговий коефіцієнт печінки вірогідно відрізнявся від такого в групі контрольної патології (в 0,94 раза нижчий) (табл.2). У групі тварин, які отримували ГА сульфат, спостерігали достовірне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,92, легенів — в 0,88, печінки — в 0,74 раза (табл.2). У групі тварин, які отримували N-ацГА, також спостерігали вірогідне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,9, легенів — в 0,85, печінки — в 0,72 раза

(табл.2). У групах тварин, які отримували ГА г/х і комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, при розтині не спостерігали виражених ознак запалення та інтоксикації. У групі тварин, які отримували ГА г/х спостерігали вірогідне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,8, легенів — в 0,76, печінки — в 0,64 раза (табл.2). В групі тварин, які отримували комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, вагові коефіцієнти внутрішніх органів були достовірно розбіжними за показники групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,78, легенів — в 0,75, печінки — в 0,62 раза (табл.2).

Таблиця 2

Умови експерименту	ВКС, %	ВКЛ, %	ВКП, %
Інтактна група	0,38±0,003	0,68±0,003	4,51±0,078
ДОКС (20 мг/кг)	0,51±0,015*	0,93±0,019*	8,25±0,105*
ДОКС (20 мг/кг) + ГА г/х (50 мг/кг)	0,41±0,014**	0,71±0,017**	5,25±0,132*/**
ДОКС (20 мг/кг) + ГА сульфат (50 мг/кг)	0,47±0,003*/**	0,82±0,003*/**	6,08±0,054*/**
ДОКС (20 мг/кг) + N-ацГА (50 мг/кг)	0,46±0,005*/**	0,79±0,005*/**	5,94±0,091*/**
ДОКС (20 мг/кг) + комбінація ГА г/х, N-ац ГА з кверцетином (82 мг/кг)	0,40±0,011**	0,70±0,028**	5,15±0,135*/**
ДОКС (20 мг/кг) + кверцетин (10 мг/кг)	0,51±0,017*	0,91±0,037*	7,79±0,080*/**

Таким чином, в умовах проведеного експерименту за впливом на всі досліджувані показники найбільш ефективними виявилися ГА г/х (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у дозі 82 мг/кг), лікувальне застосування яких не тільки продовжує у середньому тривалість життя лабораторних тварин у 3,5 раза порівняно з групою контрольної патології, підвищують їх виживаність (до 33,34% та 40% відповідно), але й зменшують прояви токсичної дії доксорубіцину, що підтверджується достовірними змінами значень вагових коефіцієнтів внутрішніх органів.

ВИСНОВКИ

1. Похідні глюкозаміну та їх комбінації проявили здатність до зниження проявів загальнотоксичної дії доксорубіцину, а за ефективністю їх можна розташувати в наступному ряду: комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином ≥ ГА г/х > N-ацГА > ГА сульфат.
2. Обрані перспективні сполуки — ГА г/х (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у дозі 82 мг/кг) — що по-

казали найбільш виражений лікувальний ефект за сумарним рейтингом дослідних показників: подовження тривалості життя у лабораторних тварин, підвищення їх виживаності, зменшення явищ інтоксикації при патології, індукованої доксорубіцином.
3. Отримані дані виступають експериментальним обґрунтуванням подальшого вивчення ГА г/х та комбінації ГА г/х, N-ацГА з кверцетином як можливих ад'ювантних засобів для корекції токсичних ефектів протипухлинних засобів.

ЛІТЕРАТУРА

- Щепотин И. Что нам известно о раке? / И. Щепотин // Фармацевт практик. — 2013. — № 2. — С. 8.
- Возможность коррекции токсических эффектов паклитаксела / О.В. Колотова, Е.П. Федорова, Л.А. Ермолаева, А.А. Чуриной // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — Приложение № 1. — С. 66-68.
- Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование доксорубицина и

его наносомальных лекарственных форм / И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин и др. // Российский биотерапевтический журнал. — 2008. — Т. 7, № 3. — С. 24-33.

- Туляков В.О. Протекторні властивості глюкозаміну / В.О. Туляков, К.О. Зупанець, С.К. Шебеко // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2009. — № 3. — С. 3-9.
- Влияние глюконата кальция на токсичность и противоопухолевую активность доксорубина у мышей / Т.А. Богуш, Г.Б. Смирнова, Н.О. Вихлянцева, А.Б. Сыркин // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — Т. 44, № 1. — С. 6-10.

- Семенов А.Н. Изучение кардиопротекторных свойств нестероидных противовоспалительных средств в ряду производных D-(+)-глюкозамина : дис. ... канд. мед. наук / Семенов Андрей Николаевич. — Купавна, 2001. — 198 с.

УДК 547.455.623'233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

И. А. Зупанец, Е. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Э. Л. Торьяник

Национальный фармацевтический университет

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИБИОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛЮКОЗАМИНА И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ

В эксперименте на мышах исследована эффективность производных глюкозамина и их комбинаций при доксорубициновой интоксикации. Установлено, что на фоне лечебного применения исследуемые соединения существенно снижают проявления общетоксического действия доксорубицина, увеличивают продолжительность жизни у лабораторных животных при моделируемой патологии и повышают их выживаемость. Выбраны наиболее эффективные объекты — глюкозамина гидрохлорид (в условно-терапевтической дозе 50 мг/кг) и комбинация глюкозамина гидрохлорида, N-ацетилглюкозамина с кверцетином (в дозе 82 мг/кг) — как перспективные корректоры токсических эффектов антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков.

Ключевые слова: доксорубин, цитотоксичность, глюкозамин, кверцетин, производные глюкозамина, цитопротекторное действие

UDC 547.455.623'233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

I. A. Zupanets, K. V. Vetrova, T. S. Sakharova, E. L. Toryanik

National University of Pharmacy

PROSPECTS USE OF GLUCOSAMINE'S DERIVATIVES AND ITS COMPOSITIONS FOR CORRECTION OF TOXICITY OF ANTICANCER THERAPY

The efficiency of glucosamine's derivatives and its compositions was investigated with doxorubicin toxicity in the experiment on the mice. Found that in the context of therapeutic use the test compounds reduce of the systemic toxicity of doxorubicin, increase lifespan in laboratory animals with modeled pathology and increase their survival. The most efficient facilities — glucosamine hydrochloride (conventionally in the therapeutic dose of 50 mg / kg) and the combination of glucosamine hydrochloride, N-acetylglucosamine and quercetin (at a dose of 82 mg / kg) — were selected as a prospective correctors of toxic effects of anthracycline antitumor antibiotics.

Key words: doxorubicin, cytotoxicity, glucosamine, quercetin, glucosamine's derivatives, cytoprotective effect

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27,
кафедра клінічної фармакології та клінічної
фармації
тел.: 057-706-30-72

Надійшла до редакції:

21.06.2013 р.

УДК 661.12.091.547

С. М. Коваленко, С. В. Власов, О. В. Ткаченко, Л. В. Євсєєва, А. Л. Загайко, О. А. КРАСІЛЬНИКОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ JNK-КІНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ)БЕНЗАМІДІВ

З метою дослідження JNK-кіназної активності структурних аналогів відомого інгібітору с-JNK-кінази (N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтамід), шляхом ацилювання 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-бензотіофену хлорангідрідами бензойних кислот в сухому 1,4-діоксані були отримані заміщені N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди з фіксованою тіофеновою частиною молекули та набором різноманітних замісників в залишку бензойної кислоти. Структура отриманих N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів підтверджена даними ПМР-спектроскопії. Отримані результати свідчать про те, що N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди впливають на активність аланінамінотрансферази (АЛТ) у ізольованих гепатоцитах, проте суттєво не змінюють вміст триацилгліцеринів у печінці щурів, а також не впливають на рівень глюкози та активність АЛТ в сироватці крові тварин в умовах *in vivo*. Досліджувані речовини знижували вміст ТБК-реактивних продуктів у тварин з експериментальним цукровим діабетом 2-го типу.

Ключові слова: інгібітори JNK-кіназ, N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл) бензаміди, аланінамінотрансфераза, триацилгліцерини, цукровий діабет 2-го типу.

Останніми роками отримані експериментальні докази, що підтверджують наявність тісного зв'язку між активацією JNK або с-Jun N-кінцевої кінази та розвитком таких патологічних станів як ожиріння, інсулінорезистентність, атеросклероз, цукровий діабет [1].

За походженням с-JNK (с-Jun N-кінцеві кінази) відносяться до сімейства мітоген активованих протеїнових кіназ (МАРК). с-JNK кінази активуються у відповідь на різноманітні стресові стимули, зокрема такі, як тепловий або осмотичний удар, ультрафіолетове випромінювання, дія цитокінів або кислот жирного ряду [2]. Можливо, активація відбувається при пошкодженні конформації інших чутливих фосфатазних ферментів, що звичайно подавляють активність с-JNK кіназ [3].

Встановлено, що с-JNK кінази відповідають за запальну реакцію [4]. Показано, що с-JNK1 та с-JNK2 кінази відіграють важливу роль у розвитку викликаного ожирінням діабету [5]. с-JNK кінази також активують внутриклітинний синтез нітроген оксиду, який є медіатором запалення, модифікує білки, пошкоджує нуклеїнові кислоти та бере участь у розвитку атеросклерозу [6]. Але при тому с-JNK кінази запускають механізм відновлення пошкодженої нітроген оксидом ДНК в міоцитах серця [7].

Останнім часом були знайдені потужні інгібітори JNK кіназ, що містять ціано-групу, та можуть бути описані загальною формулою. Яка відображена на рис. 1.



Рис. 1. Загальна формула інгібіторів JNK кіназ, що містять ціано-групу

Першим з таких інгібіторів був розроблений 1,3-бензотіазол-2-іл-(2-[[2-(3-піридиніл)етил]аміно]-4-піримідиніл)ацетонітрил AS601245 [8].

Він інгібує JNK кінази та проявляє активність IC₅₀ 150 нмоль/л проти JNK1, 220 нмоль/л проти JNK2 та 70 нмоль/л проти JNK3. При проведенні доклінічних досліджень на пацюках проти церебральної ішемії, він проявив нейропротекторну дію [9]. AS601245 також демонструє протизапальну активність [10]. Але недоліком AS601245 є слаба проникність всередину клітини [11].

З метою підвищити проникливість всередину клітини та інгібуючу активність, шляхом комбіаторного синтезу та скрінінгу біологічну активність був знайдений високоефективний інгібітор

JNK кіназ N-(4-Аміно-5-ціано-6-етокси-2-піридиніл)-2,5-диметоксифенілацетамід TCS JNK6o. Його активність IC₅₀ дорівнює 2 нмоль/л проти JNK1, 4 нмоль/л проти JNK2 та 5 нмоль/л проти JNK3 [12].

Дуже високу інгібуючу активність демонструє N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтамід TCS JNK5a. Вона дорівнює 5 нмоль/л проти JNK1, 6,5 нмоль/л проти JNK2 та 6,7 нмоль/л проти JNK3 [13].

Синтез нових речовин завжди залишається одним з перспективних напрямків пошуку високоєфективних лікарських субстанцій. В якості об'єктів наших синтетичних досліджень були обрані аміді N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміді, синтез яких проводиться за схемою 1. Вихідні 2-аміно-3-ціанотіофену отримували відомим способом — взаємодією α-CH2 кетонів із сіркою та малондинітрилом [14].

Беручи до уваги структуру відомого інгібітору C-JNK-кінази TCS JNK-5a (N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтаміду), в початкових дослідженнях ми вирішили зупинитися на вивченні біологічної активності більш наближених до структури прототипу ароматичних кислот.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спектри ¹H-ЯМР записані на спектрометрі Varian WXR-200 (робоча частота 200 MHz) в ДМСО-d₆, внутрішній стандарт — ТМС.

Температуру плавлення визначали на блоці Кофлера або за фармакопейним методом. 2-Аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-4H-циклогекса[b]тіофен було отримано за відомою методикою.

Загальна методика синтезу N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів 3a-c. До суміші (0,005 моль) 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-4H-циклогекса[b]тіофену **1** та 0,0055 моль піридину у 10 мл сухого діоксану додавали 0,005 моль відповідного бензоїлхлориду. Суміш нагрівали при 50-70°C при перемішуванні впродовж 3 годин. Після охолодження реакційну суміш розводили водою. Осад, який утворився, відфільтровували та перекристалізували з 2-пропанолу.

Дослідження in vitro. Виділення гепатоцитів проводили згідно методу, запропонованого Seglen [15]. Остаточний осад клітин переважно містив 90% гепатоцитів. Життєздатність клітин оцінювали шляхом фарбування з 0,04% розчином трипанового синього. Підрахунок проводили в камері Горяєва. Концентрація життєздатних гепатоцитів становила не менше 90%.

В подальшому клітини інкубували протягом 2 і 20 годин при 37°C в атмосфері O₂:CO₂ (5:95, %) присутності досліджуваних речовин **3a-3c** передбачуваних інгібіторів у концентраціях 25μM і 50μM. Суспензії досліджуваних речовин готували з додаванням Твін-80. Суспензія контрольних клітин містила Твін-80 відповідній концентрації. Окремі проби містили ацетамінофен в концентрації 2,5 мМ.

Активність аланін амінотрансферази (АЛТ) визначали уніфікованим динітрофенілгідразиним методом та використовували стандартні набори реактивів фірми Фелісіт-Діагностика (м. Дніпропетровськ, Україна).

Дослідження in vivo. Досліди проводили на щурах лінії Wistar, маса 140-200г, що містяться на стандартному раціоні виварію. Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) моделювали утриманням тварин на дієті з високим рівнем фруктози (60 г/на 100 г дієти) на протязі 60 днів [16]. Досліджувані речовини вводили внутрішньоблунково.

Далі тварини були розділені на 8 груп: 1 група — інтактні щури, 2 група-щури з експериментальним ЦД2, 3 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3a**, 4 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3b**, 5 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3c**, 6 група — щури, яким вводили речовину **3a**, 7 група — щури, яким вводили речовину **3b**, 8 група — щури, яким вводили речовину **3c**. Після закінчення експерименту щурів декапітували, збирали кров з якої отримували сироватку. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Гомогенат готували у співвідношенні 1 частина печінки : 3 частини 0,1 М Трис-НСІ буферу (рН 7,5). В сироватці крові визначали активність АЛТ та вміст глюкози. У гомогенаті печінки — вміст триацилгліцеринів (ТГ) та ТБК- реактивних продуктів (ТБК-РП).

Визначення вмісту глюкози проводили з використанням глюкозооксидазного методу з використанням стандартного набору реактивів фірми Фелісіт-Діагностика (м. Дніпропетровськ, Україна). Визначення вмісту ТГ проводили з використанням методу Флетчера з використанням стандартного набору реактивів фірми Фелісіт-Діагностика. Вміст ТБК-РП у гомогенаті печінки визначали колориметричним методом, який ґрунтується на здатності цієї суми сполук утворювати у кислому середовищі забарвлені триметинові комплекси з тіобарбітуровою кислотою, що мають максимум поглинання при довжині хвилі 532 нм [17].

Статистическую обработку данных проводили с использованием вариационной статистики (ANOVA). P<0,05 — статистически достоверные результаты.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Нами були отримані N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів з фіксованою тіофеновою частиною молекули — аміді 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофену з бензойними кислотами, варіюючи природу замісника в бензойній кислоті, використовуючи як незаміщену бензойну кислоту (сполука **3a**), так і кислоту з електроноакцепторним (4-фторо-) (сполука **3b**), та електронодонорним (4-метокси-) замісником (сполука **3c**) (рис. 2).

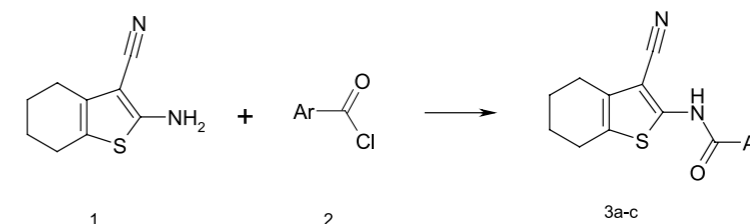


Рис. 2. Схема синтезу N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів.

Утворення цільових N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів **3a-c** проводили при обробці відповідного аміну **1** хлорангідрідами бензойних кислот в сухому 1,4-діокса-

ні. Продукт очищали перекристалізацією з 2-пропанолу. Чистота та структура синтезованих продуктів підтверджена даними ПМР-спектроскопії. У спектрі ПМР синтезованих сполук (таблиця 1)

Таблиця 1

ХАРАКТЕРИСТИКИ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ)БЕНЗАМІДІВ 3A-3C.

Сполука	Вихід, %	Тпл., °C	Сигнали протонів в ПМР спектрі, δ, м.д.
3a	86	215-216	1,7 м (4H), 2,6 м (4H), 7,55 м (3H), 7,94 дб (2H), 11,7 с (1H)
3b	89	228-229	1,7 м (4H), 2,6 м (2H), 7,37 тр (2H), 8,0 тр (2H), 11,7 с (1H)
3c	46	186-188	1,7 м (4H), 2,6 м (4H), 3,8 с (3H), 7,07 дб (2H), 7,92 дб (2H), 11,5 с (1H)

спостерігалися всі сигнали протонів, що відповідають очікуваній структурі. А саме — характеристичні сигнали протонів амідної групи в області 11,5 — 11,9 м.д., ароматичних протонів, що відповідають природі та типу заміщення в ароматичному залишку відповідної кислоти.

Згідно з результатами попереднього аналізу літературних даних для оцінки впливу сполук **3** на активність JNK-кіназ нами були обрані на-

ступні показники: вміст ТГ в клітинах печінки, активність АЛТ, а також вміст ТБК-РП. Подальше дослідження JNK-кіназної активності сполук **3** проводили методами *in vitro* та *in vivo*.

Нашими дослідженнями показано, що в експериментальних умовах найбільшу активність проявив ацетамінофен. Попередня інкубація виділених гепатоцитів зі специфічним інгібітором повністю скасовувала ефект ацетамінофену (таблиця 2).

Таблиця 2

ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ JNK-КІНАЗ НА АКТИВНІСТЬ АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ, N=4,

Вплив	Активність АЛТ, мкмоль/час/мл
Інтакт	0,238±0,011
SP600125	0,241±0,012
Ацетамінофен	0,656±0,043*
Холева кислота	0,456±0,037*
Пальмітинова кислота	0,269±0,027
Ацетамінофен + SP600125	0,247±0,013

Продовження Табл. 2

Холева кислота + SP600125	0,236±0,017
Пальмітинова кислота + SP600125	0,242±0,019

* — p≤0,05 у порівнянні с інтактом.

Отримані результати свідчать про те, що, найбільш ефективним активатором серед вивчених проявив себе ацетамінофен, тоді як меншу активність проявили жовчні кислоти (на прикладі холевої кислоти), а найбільш показовим маркерним ферментом є АЛТ. В якості доступних для дослідження маркерних показників активації JNK-кіназ були відібрані наступні показники: вміст ТГ в клітинах печінки, активність АЛТ, а також вміст ТБК-РП.

На першому етапі проведених досліджень ми вивчали вплив речовин 3 в різних концентраціях на показник активації JNK-кіназ — актив-

ність АЛТ *in vitro* на моделі ізольованих гепатоцитів. Нами було показано, що зниження активності АЛТ відзначається при дії 3а в концентрації 25µМ, а також речовини 3с в концентрації 50 µМ при інкубації протягом 2 годин (табл. 3). Тоді як інші показники протягом даного часу інкубації не змінювалися. Через 20 годин інкубації ми спостерігали дещо іншу картину. Спостерігалось зниження активності АЛТ при дії 3b в концентрації 25 µМ, тоді, як інші речовини в досліджуваній концентрації не чинили подібного ефекту (табл. 3).

Таблиця 3

ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ АЛТ В СЕРЕДОВИЩІ ІНКУБАЦІЇ ГЕПАТОЦИТІВ (МКМОЛЬ Ч*МЛ В ПЕРЕРАХУНКУ НА 7,8*10⁶ КЛІТИН, М±М, N=6)

	Інтакт	Контроль	3а		3b		3с	
			25µМ	50 µМ	25µМ	50 µМ	25µМ	50 µМ
час інкубації — 2 год	0,0389±0,0017	0,0387±0,0006	0,0356±0,0012*	0,0382±0,0001	0,0361±0,0003	0,0363±0,0005	0,0364±0,0011	0,0351±0,0016*
час інкубації — 20 год	0,0255±0,0004	0,0248±0,0003	0,0262±0,0019	0,0244±0,0019	0,0220±0,0016*	0,0251±0,0029	0,0265±0,0009	0,0254±0,0004

* — p≤0,05 контроль-дослід.

Беручі до уваги, що JNK кінази відіграють важливу роль у розвитку інсулінорезистентності та проатерогенних станів, для дослідження JNK-кіназної активності синтезованих речовин 3а-3с ми також використали модель ЦД2 в умовах *in vivo*. Отримані дані представлені у таблиці 4.

На першому етапі досліджень визначали вміст глюкози в крові піддослідних щурів. Отримані дані свідчать про те, що розвиток ЦД2 типу супроводжувався різким підвищенням вмісту глюкози в крові тварин. Введення тваринам досліджуваних речовин не призводило до вірогідних змін у рівні глюкози в піддослідних тварин. Слід також зазначити, що показники в контрольній групі тварин також суттєво не відрізнялися від показника, що відповідав рівню глюкози у тварин інтактної групи.

Наступним етапом наших досліджень було вивчення активності АЛТ у сироватці крові піддослідних тварин. Отримані в роботі дані свідчать про те, що при розвитку експериментального ЦД2 спостерігається тенденція до збільшення ак-

тивності цього ферменту, проте вірогідного збільшення активності не спостерігалось (табл. 4). Це може свідчити, що за даних експериментальних умов не було суттєвого ураження клітин печінки. Введення речовин як контрольним тваринам, так і тваринам з експериментальним цукровим діабетом суттєво не відобразилося на активності цього маркерного ферменту. Той факт, що при введенні досліджуваних речовин активність цього маркерного ферменту печінки не збільшувалася, ми можемо розглядати, як непряме підтвердження раніше отриманих результаті, а саме те, що досліджувані речовини не викликають патологічних змін у метаболічних процесах клітин печінки, а також не приводять до ураження плазматичних мембран клітин цього органу.

Наступним показником, який вивчали був вміст ТГ в тканині печінки щурів. Отримані дані свідчать про те, що при експериментальному ЦД2 спостерігається накопичення ТГ у тканині печінки тварин (табл. 4). Слід зазначити, що при введенні досліджуваної речовини 3b спостеріга-

ється тенденція до зниження вмісту ТГ, проте введення цієї ж речовини контрольним тваринам, які не мали експериментального ЦД2 не призводила до суттєвого зниження досліджуваного показника.

Також ми вивчали вміст ТБК-РП у сироватці крові експериментальних тварин. Отримані результати свідчать про те, що з розвитком контрольної патології спостерігається збільшення вмісту ТБК-РП у крові тварин (табл. 5). Ці дані свідчать про те, що за даних умов спостерігається інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів, що може бути результатом достатньо сталої гіперглікемії, яка спостерігається за даних експериментальних умов. Введення досліджуваних речовин дещо знижує показники перекисного окислювання ліпідів в сироватці експериментальних тварин, що може свідчити про те, що ці речовини мають антиоксидантні властивості.

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що отримані N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди впливають на активність АЛТ у ізольованих гепатоцитах. Проте дані, отримані в умовах *in vivo* показали, що досліджувані речовини суттєво не змінюють вміст ТГ у печінці щурів, а також суттєво не впливають на рівень глюкози та активність АЛТ в сироватці крові тварин. Досліджувані речовини на моделі ЦД2 типу продемонстрували зниження вмісту ТБК-РП продуктів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Bennet B. JNK: a new therapeutic target for diabetes / B. Bennet, Y. Satoh, A. J. Lewis / Curr. Opin. Pharmacol. — 2003. — vol. 3. — P. 420-425.
- Barr R. K. The c-Jun N-terminal protein kinase family of mitogen-activated protein kinases (JNK MAPKs) / R. K. Barr, M. A. Bogoyevich / Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2001. — N 33. — P. 1047-1063.
- Vlahopoulos S. JNK: a key modulator of intracellular signaling / S. Vlahopoulos, V. C. Zoumpourlis / Biochemistry Mosc. — 2004. — vol. 69, N 8. — P. 844-854.
- Ip Y.T. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) — from inflammation to development / Y.T. Ip, R. J. Davis / Curr. Opin. Cell Biol. — 1998. — vol. 10, N 2. — P. 205-219.
- Hirosumi J. A central role for JNK in obesity and insulin resistance / J. Hirosumi, G. Tuncman, L. Chang [et al.] / Nature. -2002. — vol. 402. — P. 333-336.
- Levy A. S. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension / A. S. Levy, J. C. Chung, J. T. Kroetsch / Vask. Health Risk Manag. — 2009. — vol. 5. — P. 107510 — 107587.
- Levy A. S. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension / A. S. Levy, J. C. Chung, J. T. Kroetsch / Vask. Health Risk Manag. — 2009. — vol. 5. — P. 107510 — 107587.
- Carboni S. AS601245 (1,3-benzothiazol-2-yl-(2-[[2-(3-pyridinyl)ethyl]amino)-4-pyrimidinyl]acetonitrile): a c-Jun NH2-terminal protein kinase inhibitor with neuroprotective properties / S. Carboni, A. Hiver, C. Szyndralewicz [et al.] / J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2004. — vol. 310, N 1. — P. 25-32.
- Carboni S. AS601245, a c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) inhibitor, reduces axon/dendrite damage and cognitive deficits after global cerebral ischaemia in gerbils / S. Carboni, U. Boschert, P. Gaillard [et al.] / Br. J. Pharmacol. — 2008. — vol. 153, N 1. — P. 157-163.
- Cerbone A. AS601245, an anti-inflammatory JNK inhibitor, and clofibrate have a synergistic effect in inducing cell responses and in affecting the gene expression profile in CaCo-2 Colon Cancer Cells / A. Cerbone, C. Toaldo, S. Pizzimenti [et al.] / PPAR Research. — 2012, Article ID 269751, 16 pages doi:10.1155/2012/269751.
- Gaillard P. Design and synthesis of the first generation of novel potent, selective, and *in vivo* active (benzothiazol-2-yl)acetonitrile inhibitors of the c-Jun N-terminal kinase / P. Gaillard, I. Jeanclaude-Etter, V. Ardissonne [et al.] / Med. Chem. — 2005. — vol. 48. — P. 4596-4607.
- Szczepankiewicz B.G. Aminopyridine-based c-Jun N-terminal kinase inhibitors with cellular activity and minimal cross-kinase activity / B. G. Szczepankiewicz, C. Kosogof, L. T. Nelson [et al.] / J. Med. Chem. — 2006. — vol. 49. — vol. 12. — P. 3563-3580.
- Angell R.M. N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)amides as potent, selective, inhibitors of JNK2 and JNK3 / R. M. Angell, F. L. Atkinson, M. J. Brown [et al.] / Bioorg. Med. Chem. Letts. — 2007. — vol. 17, N 5. — P. 1296-1301.

14. Gewald K. Heterocycles from CN-acidic nitriles / K. Gewald, E. Schinke / Chemische Berichte. — 1966. — Vol. 99(8). — P. 271-275
15. Seglen P.O. Preparation of isolated rat liver cells: The enzymatic preparation of isolated intact parenchymal cells from rat liver / P. O. Seglen / Methods Cell Biol. — 1976. — vol. 13. — P. 29-83.
16. Kannappan S. Insulin sensitizing actions of fenugreek seed polyphenols, quercetin & metformin in a rat model / S. Kannappan, C.V. Anuradha / Indian J. Med. Res. — 2009. -Vol. 129. — P. N4401-4408.
17. Ježek J. Mitochondrial phospholipase A2 activated by reactive oxygen species in heart mitochondria induces mild uncoupling / J. Ježek, M. Jabůrek, J. Zelenka, P. Ježek / Physiol. Res. — 2010. — vol. 59, N 5. — P. 737-747.

Таблиця 4

ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ РЕЧОВИН НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ РЕЧОВИН У ТКАНИНІ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ, (M±M, N=6)

Показники	Інтакт	Контроль		ЦД2	ЦД2+речовини	
Глюкоза, ммоль/л	4,25±0,27	3a	4,38±0,17	12,37±1,24*	3a	11,98±2,31
		3b	4,04±0,29		3b	13,19±1,96
		3c	4,45±0,31		3c	12,92±2,01
АЛТ, мкмоль\ч*мг білка	0,76±0,07	3a	0,66±0,06	0,98±0,07	3a	0,88±0,08
		3b	0,69±0,07		3b	0,91±0,09
		3c	0,71±0,08		3c	0,89±0,11
ТГ, мг/мл	0,51±0,17	3a	0,62±0,16	1,89±0,13 *	3a	1,93±0,14
		3b	0,55±0,13		3b	1,59±0,15
		3c	0,59±0,15		3c	1,89±0,11
ТБК-РП, нмоль/мг білка	0,33±0,13	3a	0,38±0,14	1,16±0,11 *	3a	0,89±0,11**
		3b	0,31±0,13		3b	0,82±0,09**
		3c	0,43±0,17		3c	0,85±0,09**

* — P контроль-ЦД2<0,05.

** — P ЦД2-ЦД2+речовини<0,05.

UDC 661.12.091.547

С. Н. Коваленко, С. В. Власов, Е. В. Ткаченко, Л. В. Евсеева, А. Л. Загайко, О. А. Красильникова

Национальный фармацевтический университет

ИССЛЕДОВАНИЯ JNK-КИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ N-(3-ЦИАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГИДРО-1-БЕНЗОТИЕНИЛ-2-ИЛ) БЕНЗАМИДА

С целью исследования JNK-киназной активности структурных аналогов известного ингибитора C-JNK-киназы путем ацилирования 2-амино-3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-бензотиофену хлорангидридами бензойных кислот в сухом 1,4-диоксане были получены замещенные N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамидами с фиксированной тиофеновой частью молекулы и набором разнообразных заместителей в остатке бензойной кислоты. Структура полученных N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамидов подтверждена данными ПМР-спектроскопии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамиды влияют на активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в изолированных гепатоцитах, однако существенно не изменяют содержание триацилглицеринов в печени крыс, а также не влияют на уровень глюкозы и активность АЛТ в сыворотке

крови животных в условиях in vivo. Исследуемые вещества снижали содержание ТБК-реактивных продуктов у животных с экспериментальным сахарным диабетом 2-го типа. **Ключевые слова:** ингибиторы JNK-киназы, N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил) бензамиды, аланинаминотрансфераза, триацилглицерины, сахарный диабет 2-го типа.

UDC 661.12.091.547

S. N. Kovalenko, S. V. Vlasov, E. V. Tkachenko, L. V. Evseeva, A. L. Zagayko, O. A. Krasil'nikova

National University of Pharmacy

RESEARCH JNK-N-KINASE ACTIVITY OF (3-CYANO-4,5,6,7-TETRAHYDRO-1-BENZOTHIENYL-2-YL)BENZAMIDE

The aim of this work was to study the JNK-kinase activity of structural analogues of an active C-JNK-kinase inhibitor (N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)-1-naphthamide); by acylation of 2-amino-3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophene with benzoic acids chlorides in anhydrous 1,4-dioxane the series of substituted N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)benzamides with the same thiophene moiety and various substituents in benzoic acid residue were obtained. The structures of the obtained N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)benzamides were confirmed by ¹H NMR-spectroscopy.

These results indicate that N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothienyl-2-yl)benzamides decrease alanine aminotransferase (ALT) activity in isolated hepatocytes, but not significantly change the triacylglycerol's content in rat liver, and have no effect on blood glucose and serum ALT activity in the blood of animals in vivo. The TBA-reactive products content was reduced in animals with experimental diabetes mellitus type 2 under administration of these substances.

Key words: C-JNK-kinase inhibitor, N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothienyl-2-yl) benzamides, alanine aminotransferase, triacylglycerol, diabetes mellitus type 2.

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НфаУ

Надійшла до редакції:

19.06.2013 р.

УДК: 616-008+591.434:615.9]-001.5

П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, І. І. Герасимець, Н. І. Руснак, В. П. Пида

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ

Ураження щурів нітритом натрію в дозі 45 мг/кг викликає збільшення в крові вмісту MetHb, нітрит-іону у всіх органах тварин та поглиблення ендогенної інтоксикації організму. Найбільш чутливими виявились щури статево незрілого віку, що підтверджується більш вираженими змінами у досліджуваних тканинах.

Ключові слова: нітрит натрію, щури, метгемоглобін, нітрит-йон, ендогенна інтоксикація.

ВСТУП

Однією з основних проблем біохімії є встановлення механізмів токсичної дії ксенобіотиків, зокрема таких поширених екологічних забруднювачів довкілля як оксиди азоту, нітрити, нітрати, канцерогенні нітрозаміни, тощо [4, 16].

Широке вживання нітритів і нітратів у народному господарстві України містить у собі певну небезпеку для здоров'я людей будь-якого віку [3]. Відомо, що токсичність нітратів пов'язана з їх відновленою формою — нітритами, які, згідно з даними літератури, сприяють окисненню гемоглобіну до метгемоглобіну, зумовлюючи розвиток гемічної гіпоксії [1]. Згідно з деякими даними [9, 11], натрію нітрит у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення активних радикалів, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси пероксидного окиснення [14].

Нітрити можуть бути джерелом високо реакційного оксиду NO та його похідних, що змінює параметри вільнорадикального гомеостазу [8, 10].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Метою нашого дослідження було встановити рівень процесів метгемоглобіноутворення та утворення нітрит-йону, а також ступінь ендогенної інтоксикації за умов ураження щурів різного віку нітритом натрію.

Для проведення експериментів використовували білих безпородних щурів-самців, які утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Щури були поділені на три вікові категорії — перша — статево незрілі, масою тіла 60-80

г, друга — статево зрілі — масою тіла — 180-200 г і третя — стречі, маса тіла яких становила 300-320 г. Кожна вікова група складалася із двох підгруп — інтактний контроль (К) та дослідна група (Д). Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин. Щури дослідних груп інтрагастрально 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 із експерименту шляхом етаназії під тіопенталовим наркозом.

Для дослідження брали кров, сироватку крові, печінку, нирки та 12-палу кишку тварин. Із тканини печінки, нирок та 12-палої кишки готували 10% гомогенат на фізіологічному розчині.

Розвиток процесів вільнорадикального окиснення оцінювали за вмістом метгемоглобіну (MetHb) [7], нітрит-йону (NO₂) [15], ступінь ендогенної інтоксикації визначали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) обох фракцій [2] — СМ₁ (переважають ланцюгові амінокислоти) та СМ₂ (переважають ароматичні амінокислоти).

При проведенні експериментів користувались загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985) [5]. Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм «Microsoft Excel» та «STATISTICA 6,0» з розрахунку середніх величин, їх похибок, критерію Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно досліджень in vivo, нітрит натрію в контакті з оксигемоглобіном — могутній генератор активних радикалів: NO₂, O₂, OH, NO₂. Перераховані метаболіти — активні реагенти, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси

ПОЛ. Нітрит натрію може з'єднуватись з гемоглобіном та утворювати метгемоглобін (MetHb), підвищений вміст якого в крові, в кінцевому результаті, викликає тканинну гіпоксію.

Нами досліджено вміст MetHb в крові щурів різних вікових груп після ураження нітритом натрію (табл. 1).

Таблиця 1

ВМІСТ МЕТНВ (Г/Л) В КРОВІ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N = 6)

Досліджувані тканини	Статево незрілі			Статево зрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Кров	1,547± 0,131	2,947± 0,272*	4,257± 0,268*	1,502± 0,171	1,982± 0,321	2,012± 0,247	1,477± 0,165	2,283± 0,237*	3,351± 0,339*

Примітка: тут і в наступних таблицях * вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими нітритом натрію

З таблиці 1 видно, що потрапляючи в організм щурів нітрит натрію викликає посилене метгемоглобіноутворення у статево незрілих та старечих тварин, про що свідчить вірогідно (p < 0,05) підвищений вміст MetHb. Через 72 год після ураження даний показник у статево незрілих щурів підвищився у 2, 75 раза, у старечих — у 2,27 раза. Найбільш стійкими до дії нітриту натрію виявились статево зрілі тварин, у яких спостерігалась тенденція до підвищення вмісту MetHb, але вірогідних змін відмічено не було.

Можливо, у молодих тварин високий вміст MetHb пояснюється недосконалою ферментною системою і великим відсотком фетального гемоглобіну в крові [12, 13]. У старечих щурів в резуль-

таті взаємодії з нітритами змінюються певні характеристики гемоглобіну — порушується процес дисоціації оксигемоглобіну. Транспортна функція гемоглобіну знижується після його переходу в MetHb і зворотньо. Навіть після повного зникнення MetHb киснева ємність крові знижується [11].

Враховуючи екзогенне введення підвищеної дози нітритів до організму щурів, необхідним було вивчити вміст нітрит-йону в тканинах, так як відомо, що нітрити є непрямими маркерами концентрації оксиду азоту в організмі та кінцевими продуктами його метаболізму.

Результати дослідження вмісту нітрит-йону у сироватці крові, печінці 12-палій та нирках щурів наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

ВМІСТ НІТРИТ-ЙОНУ (NO₂-ІОН) У СИРОВАТЦІ КРОВІ (МКМОЛЬ/Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12=ПАЛІЙ КИШЦІ (МКМОЛЬ/КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)

Досліджувані тканини	Статево незрілі			Статево зрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	0,0223± 0,0029	0,0246± 0,0014	0,0293± 0,0021	0,0325± 0,0011	0,0440± 0,0013*	0,0505± 0,0011*	0,0308± 0,0020	0,0525± 0,0041*	0,0408± 0,0015*
Печінка	0,0123± 0,0012	0,0231± 0,0014*	0,0210± 0,0023*	0,0115± 0,0011	0,0190± 0,0020*	0,0218± 0,0017*	0,0190± 0,0022	0,0293± 0,0033	0,0181± 0,0026

Продовження Табл. 2

12-пала кишка	0,0130± 0,0016	0,0150± 0,0017	0,0170± 0,0023	0,0141± 0,0021	0,0131± 0,0021	0,0251± 0,0033*	0,0205± 0,0023	0,0216± 0,0016	0,0271± 0,0022
Нирки	0,0150± 0,0016	0,0163± 0,0015	0,0181± 0,0019	0,0133± 0,0011	0,0141± 0,0014	0,0221± 0,0031*	0,0120± 0,0012	0,0223± 0,0023*	0,0251± 0,0013*

При введенні нітриту натрію ми відмітили вірогідне зростання вмісту нітрит-йону у сироватці крові статевозрілих та старечих тварин в обидва терміни дослідження. Через 72 год після ураження вміст NO²⁻ йону у сироватці крові статевозрілих щурів зріс на 55%, у старечих — на 32%, у молодих тварин вірогідних змін у сироватці крові не відмічено.

Протилежна тенденція відмічена у печінці дослідних тварин. Найбільш виражені зміни вмісту нітрит-йону спостерігались у статевозрілих та статевозрілих тварин — до кінця експерименту у щурів першої групи даний показник збільшився у 1,7 раза, у статевозрілих — у 1,9 раза. У старечих тварин вірогідних змін у печінці не виявлено.

Ми дослідили вміст нітрит-йону у 12-палій кишці уражених тварин усіх вікових груп. В усіх щурів вміст нітрит-йону не змінювався порівняно з контролем протягом всього експерименту, хоча у статевозрілих спостерігалась тенденція до підвищення даного показника.

Наведені вище показники можуть свідчити про розвиток вільнорадикальних процесів в ураженому організмі, що призводить до токсичного впливу проміжних метаболітів на клітинні структури та біомакромолекули в організмі, вкликаючи їх деструкцію та модифікацію.

Про ступінь ендогенної інтоксикації в ураженому організмі ми судили за вмістом МСМ, результати дослідження яких наведені в таблицях 3 та 4.

Таблиця 3

ВМІСТ СМ1 У СИРОВАТЦІ КРОВІ (УМ.ОД./Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12-ПАЛІЙ КИШЦІ (УМ.ОД./КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)

Досліджувані тканини	Статевозрілі			Статевозрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	14,28± 0,99	31,24± 1,65*	43,49± 2,75*	11,48± 0,65	16,66± 0,53*	23,37± 1,09*	13,31± 0,16	15,26± 0,82	20,29± 0,88*
Печінка	5,54± 0,14	12,17± 0,89*	20,35± 1,68*	4,82± 0,33	5,79± 0,31	6,67± 0,35*	6,56± 0,10	8,81± 0,37*	12,60± 0,66*
12-пала кишка	5,03± 0,30	7,49± 0,18*	10,24± 0,54*	5,17± 0,23	6,23± 0,10*	8,51± 0,52*	3,28± 0,31	4,57± 0,17*	5,15± 0,24*
Нирки	4,20± 0,52	10,80± 0,65*	12,42± 0,67*	4,28± 0,36	10,71± 0,69*	12,87± 0,82*	6,12± 0,38	8,87± 0,56*	12,76± 0,52*

У сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження вірогідно підвищився вміст СМ₁ протягом обидвох термінів дослідження. Аналогічно відмічено підвищення даного показника в печінці, нирках та 12-палій кишці статевозрілих, статевозрілих та старечих тварин через 24 та 72 години після потрапляння до організму нітриту натрію.

Поряд із фракцією СМ₁(переважають ланцюгові амінокислоти) ми дослідили вміст фракції СМ₂ (переважають ароматичні амінокислоти). Встановлено, що ураження нітритом натрію призводить до збільшення вмісту фракції середніх молекул, де переважають ароматичні амінокислоти, у всіх тканинах організму (табл. 4).

Таблиця 4

ВМІСТ СМ2 У СИРОВАТЦІ КРОВІ (УМ.ОД./Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12-ПАЛІЙ КИШЦІ (УМ.ОД./КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)

Досліджувані тканини	Статевозрілі			Статевозрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	14,48± 1,39	35,91± 1,77*	34,44± 2,22*	11,47± 0,21	16,52± 0,82*	24,46± 2,11*	13,27± 0,39	15,56± 0,64*	21,26± 1,78*
Печінка	5,91± 0,07	12,51± 0,97*	15,33± 1,25*	4,93± 0,06	6,71± 0,72	8,98± 0,54*	6,62± 0,04	8,89± 0,43*	12,63± 0,69*
12-пала кишка	5,46± 0,60	6,48± 0,64	11,70± 0,75*	5,23± 0,34	8,34± 0,44*	11,24± 0,51*	3,48± 0,19	4,50± 0,40	7,21± 0,35*
Нирки	4,15± 0,04	6,02± 0,77	8,21± 0,54*	4,61± 0,60	6,94± 0,48*	8,71± 0,51*	6,05± 0,17	8,86± 0,40*	12,63± 0,74*

У сироватці крові статевозрілих щурів вміст СМ₂ підвищився у 2,4 раза до кінця експерименту, у статевозрілих — у 2,1 раза, у старечих — у 1,6 раза. Найбільшого підвищення зазнав вміст фракції СМ₂ у печінці статевозрілих тварин, де він збільшився у 2,6 раза в кінці експерименту, у статевозрілих та старечих щурів це збільшення було у 1,8 та 1,9 раза відповідно.

У нирках та 12-палій кишці спостерігалась аналогічна тенденція до збільшення даного показника у всіх вікових групах і воно становило в середньому 2 рази.

Таким чином, ураження нітритом натрію збільшило ступінь ендогенної інтоксикації в організмі щурів, що проявилось нагромадженням молекул середньої маси у всіх досліджуваних органах.

ВИСНОВКИ

1. Ураження щурів нітритом натрію в дозі 45 мг/кг призводить до розвитку процесу метгемоглобіноутворення. Найбільш чутливими виявились тварини статевозрілого віку, у яких вміст MetHb досяг найвищого рівня.

2. Після потрапляння до організму щурів нітриту натрію відмічається збільшення вмісту NO²⁻ йону у тканинах тварин усіх вікових груп.

3. Активізація процесів метгемоглобіноутворення та нагромадження у тканинах нітрит-йону після ураження тварин нітритами призводить до поглиблення ендогенної інтоксикації організму, про що свідчить збільшення у всіх органах вмісту молекул середньої маси.

ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А. Классификация гипоксических, гипо- и гиперкапнических состояний / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов // Физиологический журнал. - 2003. - Т. 49, № 3. - С. 11-16.
2. Андрейчин М.А. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму. Методичні рекомендації МОЗ України. / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко та ін. — Київ, 1998. — С. 1—31.
3. Гоженко А.И. Изменение функции почек при острой интоксикации нитритом натрия в эксперименте / А.И. Гоженко, А.С. Федорук, С.Г. Котюжинская // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2003. - № 1. - С. 28-30.
4. Иргашев Т.А., А.И Каримов. Влияние нитратов на организм человека и животных / Т.А. Иргашев, А. И. Каримов / (обзор). — Душанбе, «Нодир», — 2009. 58с.
5. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. — К.: Авіцена, 2002. — 136 с.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич — К.: Морион, 2000. — 320 с.
7. Лифшиц В.М. Биохимические анализы в клинике. Справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова — Москва: «Триада-Х», 2002. — 208 с.
8. Луценко Б.О. Зміни окисного метаболізму у тканинах шлунка білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. — 2007. — Т.7, Вип. 3. — С.174-176.
9. Паніна Л.В. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / Л.В. Паніна, С.М. Терлецька, С.М.Ковальчук [та ін -// Здобутки клінічної і експериментальної медицини. — 2008. — № 2. — С. 72 — 76.
10. Паніна Л.В. Функціональний стан еритроцитарних мембран за умов нітритної інтоксикації та профілактичного застосування олії амаранту і періодичного гіпоксичного тренування / Л.В. Паніна, М.Р. Гжегоцький, О.І. Терлецька, С.М. Ковальчук // Таврический медико-биологический вестник. — 2004. — Т.7, № 1. — С. 43 — 46.
11. Проданчук Г.Н. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации / Г.Н. Проданчук, Г.М. Балан // Соврем. пробл. токсикологии. — 2007. — №1. — С. 37-45.
12. Титов В.Ю. Предполагаемый механизм развития нитрит-индуцированной метгемоглобинемии / Титов В.Ю., Петренко Ю.М. // Биохимия. — 2005. — Т.70, №4. — С. 575-587.
13. Чорна В. І. Вплив іонізуючої радіації і нітритної метгемоглобінемії на вміст метгемоглобіну в крові статевозрілих щурів і їх нащадків у динаміці раннього постнатального розвитку / В.І. Чорна // Мед. хімія. — 2009. — № 1. — С. 63-66.
14. Шамсудинов Ш.Н. Влияние нитратов на функции почек. / Ш.Н. Шамсудинов Х.М.Сафаров, А.И Каримов.//Вестн. Педагог. ун-та.- Душанбе, 1998, № 3. -С.115.
15. Green C. Analysis of nitrate, nitrite and (¹⁵N) nitrate in biological fluids / C. Green, A. David, J. Golawski [et. al.] //Anal. Biochem. — 1982. — 126. — № 1. — P. 131-138.
16. Fan A., Steinberg V.E. Health implications of nitrate and nitrite in drinking water: an update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity //J. Regul. Toxicol. Pharmacol. — 1996. — Vol.23, №1. — P. 35-43.

УДК: 616-008+591.434:615.9]-001.5

П. Г. Лихацкий, Л. С. Фира, И.И. Герасимец, Н. И. Руснак, В. П. Пида

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПОРАЖЕНИЯ НИТРИТОМ НАТРИЯ

Поражение крыс нитритом натрия в дозе 45 мг / кг вызывает увеличение в крови содержания MetHb, нитрит-иона во всех органах животных и усугубление эндогенной интоксикации организма. Наиболее чувствительными оказались крысы неполовозрелого возраста, что подтверждается более выраженными изменениями в исследуемых тканях.

Ключевые слова: нитрит натрия, крысы, метгемоглобин, нитрит-ион, эндогенная интоксикация.

UDC: 616-008+591.434:615.9]-001.5

P. G. Lyhatskiy, L. S. Fira, I. I. Gerasymets, V. P. Puda, N. I. Rusnak

I. Ya. Horbachevsky Ternopil state medical university

METHABOLIC ABNORMALITIES IN THE ORGANISM OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF SODIUM NITRITE DAMAGE

Damage of rats by Sodium nitrite in the dose 45 mg/kg causes an increase in the blood content of MetHb, nitrite ions in all organs of animals and deepening of the endogenous intoxication. The most sensitive immature age rats appeared to be, which is confirmed by the more pronounced changes in the studied tissues.

Key words: sodium nitrite, rats, methemoglobin, nitrite-ion, endogenous

Адреса для листування:

46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1

Тернопільський державний медичний університет

тел.: 0352-52-44-92

Надійшла до редакції:

25.06.2013 р.

УДК: 616.379-008.64:599.323.45.:591.111.1.633.881

М. І. ЛУПАК, О. П. КАНЮКА, Г. Я. КЛЕВЕТА, Я. П. ЧАЙКА, М. І. СКИБЦЬКА,
Н. О. СИБІРНА

Львівський національний університет імені Івана Франка

ВПЛИВ БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО НА ВМІСТ БІЛКІВ P53 ТА BCL-2 У МОНОНУКЛЕАРНИХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

Імуноцитохімічним методом показано кількісний перерозподіл мононуклеарних лейкоцитів (МНЛ) периферичної крові щурів, що містять проапоптичний білок p53 і антиапоптичний білок Bcl-2 за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД) 1 типу. Застосування безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (БФ ЕКЛ) за умов ЕЦД нормалізує співвідношення мононуклеарних лейкоцитів, які містять вищезазначені білки-регулятори апоптозу, що свідчить про пригнічувальний вплив БФ ЕКЛ на запрограмовану загибель імунокомпетентних клітин. Антиапоптичний ефект досліджуваного екстракту можна пояснити антиоксидантною дією біологічно активних речовин, що входять до його складу.

Ключові слова: козлятник лікарський, цукровий діабет 1 типу, апоптоз, мононуклеарні лейкоцити

ВСТУП

Цукровий діабет 1 типу (ЦД1) — полігенне, мультифакторне захворювання, при якому генетична схильність у поєднанні з тригерами навколишнього середовища запускає активацію специфічних аутоімунних процесів, що призводять до загибелі β-клітин [1]. Ключова роль в патогенезі аутоімунного ураження β-клітин підшлункової залози відіграє дисрегуляція імунітету і програмованої загибелі клітин. Апоптоз займає провідне місце в підтримці клітинного балансу у фізіологічних умовах. Він бере участь у видаленні надлишку клітин, особливо у нервовій та імунній системах. Порушення регуляції апоптозу лежить в основі аутоімунних захворювань, зокрема, при цукровому діабеті 1 типу [2]. З'ясування молекулярних механізмів генетичного контролю і модулювання апоптотичного процесу необхідно для розуміння патогенезу цього захворювання, що в майбутньому, можливо, створить передумови для пошуку нових високоактивних антидіабетичних препаратів.

Відомо близько 200 видів лікарських рослин, які володіють цукрознижуючою дією [3]. Нашу увагу привернула Galega officinalis L. (козлятник лікарський) [6-9] зважаючи на те, що її

продовжене використання сприяє регенерації β-клітин острівців Лангерганса [4].

Метою роботи було з'ясувати вплив БФ ЕКЛ на вміст проапоптичного білка p53 і антиапоптичного білка Bcl-2 у МНЛ периферичної крові щурів у нормі та за умов ЕЦД.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Досліди проведено на білих безпородних щурах з масою тіла 100–150 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням етичних норм проведення експериментальних досліджень згідно із «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р. ЕЦД 1-го типу індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину («Sigma», США) з розрахунку 5,5 мг на 100 г маси тіла. Через два тижні після індукції діабету, тваринам per os вводили БФ ЕКЛ впродовж 14 діб (у дозі 0,6 г на 1 кг маси тіла тварини, в об'ємі 1 мл). У роботі використовували ЕГЛ, позбавлений алкалоїдів, які є високотоксичними речовинами. Отримання БФ ЕГЛ було проведено згідно з протоколом, який

описано нами раніше [5]. МНЛ виділяли з гепаринізованої крові шляхом центрифугування у градієнті густини фікол-тріомбразу ($\rho=1,119-1,077$ г·см⁻³) [10]. Для виявлення та візуалізації внутрішньоклітинних білків Bcl-2 і p53 використовували непрямий імунопероксидазний метод [11]. За інтенсивністю забарвлення досліджувані клітини були поділені на 3 групи: з негативною реакцією (p53 та Bcl-2), позитивною (p53⁺ та Bcl-2⁺) та різко позитивною (p53⁺⁺ та Bcl-2⁺⁺) реакцією.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

Хронічна гіперглікемія є основним патогенетичним чинником при цукровому діабеті, що обумовлює утворення активних форм кисню, активацію iNOS, продукування NO з наступним утворенням пероксинітриду та високореактивних гідроксильних радикалів, які, у свою чергу, спричинюють інтенсивне пошкодження ДНК у клітинах-мішенях. Зростання вмісту проапоптичного білка p53 за умов ЦД, відбувається у відповідь на пошкодження ДНК, що індукується дією активних метаболітів кисню та нітрогену.

За умов ЕЦД показано підвищення вмісту білка p53 у МНЛ периферичної крові щурів, про що свідчить зростання кількості p53⁺⁺-клітин у 2,9 рази, порівняно з контролем (рис. 1).

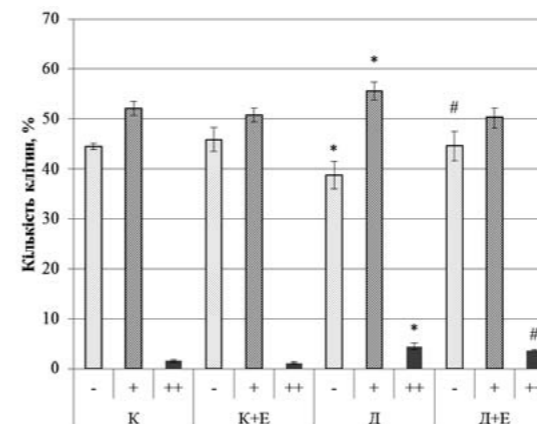


Рис. 1. Імуноцитохімічний аналіз вмісту білка p53 у МНЛ крові щурів у разі введення ЕКЛ контрольним тваринам та тваринам з ЕЦД.

Примітка. Тут і далі * – різниця вірогідна, порівняно з контролем, $P < 0,05$; # – різниця вірогідна, порівняно з ЕЦД, $P < 0,05$.

Аналіз отриманих результатів показав зниження вмісту білка p53 у разі введення ЕКЛ здоровим тваринам (кількість p53⁺⁺-клітин зменшувалася в 1,4 рази) та тваринам з цукровим діабетом (кількість p53⁺⁺-клітин зменшувалася в 1,2 рази) (рис. 1). На фоні зростання вмі-

ту проапоптичного білка у МНЛ крові при ЕЦД встановлено зменшення кількості Bcl-2⁺ та Bcl-2⁺⁺ (в 4,9 та 5,2 рази відповідно) (рис. 2). Білок Bcl-2 підвищує виживання клітин, індукованих до апоптозу, взаємодіючи з Araf-1 (Apoptotic Protease Activating Factor-1 — фактор, який активує апоптоз) і каспазою-9, і таким чином блокує передачу апоптичного сигналу [12, 13].

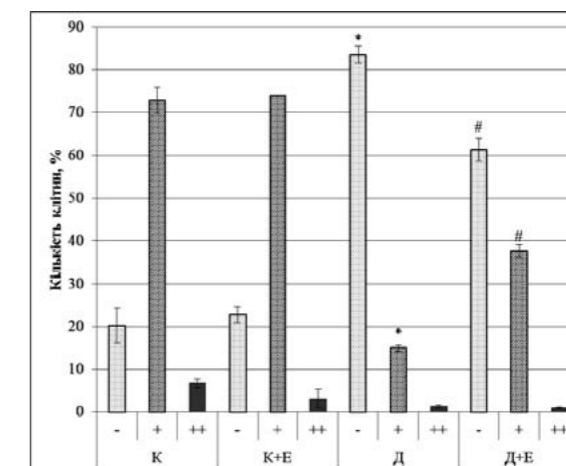


Рис. 2. Імуноцитохімічний аналіз вмісту білка Bcl-2 у МНЛ крові щурів у разі введення ЕКЛ контрольним тваринам та тваринам з ЕЦД.

Отримані нами результати вказують на підвищення вмісту антиапоптичного білка Bcl-2 у відповідь на введення БФ ЕКЛ тваринам з ЕЦД (кількість Bcl-2⁺ — клітин збільшується у 2,5 рази, порівняно з діабетом).

ВИСНОВКИ

Біологічна дія БФ ЕКЛ за умов цукрового діабету спрямована на нормалізацію співвідношення кількості лейкоцитів, які містять про- (p53) і антиапоптичний (Bcl-2) білки, що свідчить про пригнічуючий вплив досліджуваного екстракту на генетично запрограмовану загибель імунокомпетентних клітин крові. Численними дослідженнями показано захисний ефект антиоксидантів у процесі апоптозу [14]. Встановлений біологічний ефект БФ ЕКЛ ми пояснюємо дією біологічно активних речовин (флавоноїди, вітамін Е), які володіють антиоксидантними властивостями та екстрагуються за наших умов виділення.

Робота виконана за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень України (проект № Ф54.4/017).

ЛІТЕРАТУРА

- DeFranco S. Defective function of the Fas apoptotic pathway in type 1 diabetes mellitus

- scorrelateswithageatonsset / S. DeFranco, A. Chiochetti, M. Ferretti // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 20. — P. 567–576.
2. Cohen J. J. Apoptosis: physiologic cell death / J. J. Cohen, R. C. Duke, V. A. Fadok et al. // *J. Clin. Lab. Med.* — 1994. — Vol. 124. — P. 761–765.
3. Буглак Н.И. Фитотерапия сахарного диабета / Н.И. Буглак // *Сімейна медицина.* — 2008. — № 1. — С. 65–68.
4. Sendrail M. Experimental study of the action of plant drugs with a glycogenic effect on the cytological structure of the insular pancreas / M. Sendrail, D. Vincent, M. Sendrail-Pesque, M. Mahoux // *Sem. Hop.* — 1961. — Vol. 2, № 37. — P. 389–398.
5. Хохла М. Р. Цитологічна та біохімічна характеристика периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу та введення галеги лікарської / М. Р. Хохла, Г. Я. Клевета, Я. П. Чайка та ін. // *Біол. студії / Studia Biologica.* — 2012. — № 6(1). — P. 37–46.
6. Pundarikakshudu K. Anti-bacterial activity of *Galega officinalis* L (goat'srue) / K. Pundarikakshudu, J. K. Patel, M.S. Bodar, S.G. Deans // *J. Ethnopharmacol.* — 2001 — Vol. 77. — P. 111–112.
7. Neef H. Inhibitory effects of *Galega officinalis* on glucose transport across monolayers of human intestinal epithelial cells / H. Neef, P. Augustijns, P. Declercq // *Pharmaceut. Pharmacol. Lett.* — 1996. — Vol. 6. — P. 86–89.
8. Champavier Y. Acetylated and non-acetylated flavonoltriglycosides from *Galega officinalis* / Y. Champavier, D. P. Allais, A. J. Chulia, M. Kaouadji // *Chem. Pharm. Bull.* — 2000. — Vol. 48. — P. 281–282.
9. Atanasov A. T. Anti-platelet fraction from *Galega officinalis* L. Inhibits platelet aggregation / A. T. Atanasov, B. Tchobanov // *J. Med. Food.* — 2002. — Vol. 5(4). — P. 229–234.
10. Лаповець Л. Лабораторна імунологія / Л. Лаповець, Б. Луцик. — К.: Арал, 2004. — 173 с.
11. Беркало Л. В. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва. — Полтава: Полімет, 2003. — 320 с.
12. Hale A. J. Apoptosis: molecular regulation of death / A. J. Hale, C. A. Smith, L. C. Sutherland et al. // *Eur. J. Biochem.* — 1996. — Vol. 236. — P. 1–26.
13. Brenner C. Bcl-2 and Bax regulate the channel activity of the mitochondrial adenine nucleotide translocator / C. Brenner, H. Cadiou, H. L. Vieira et al. // *Oncogene.* — 2000. — Vol. 19. — P. 329–336.
14. Briehl M. M. Down regulation of the antioxidant defence during glucocorticoid-mediated apoptosis / M. M. Briehl, I. A. Cotgreave, G. Powis // *Cell Death Differ.* — 1995. — Vol. 2. — P. 41–46.

УДК: 616.379-008.64:599.323.45.:591.111.1.633.881

М. И. Лупак, О. П. Каныка, Г. Я. Клевета, Я. П. Чайка, М. И. Скибицкая, Н. А. Сибирная
Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ВЛИЯНИЕ БЕЗАЛКАЛОИДНОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ P53 И BCL-2 В МОНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА

Имуноцитохимическим методом показано количественное перераспределение моноядерных лейкоцитов (МЯЛ) периферической крови крыс содержащих проапоптотический белок p53 и антиапоптотический белок Bcl-2 в условиях экспериментального сахарного диабета (ЭСД). Применение безалкалоидной фракции экстракта галеги лекарственной (БФ ЭГЛ) в условиях ЭСД нормализует соотношение МЯЛ, содержащих вышеупомянутые белки-регуляторы апоптоза, что свидетельствует об угнетающем влиянии БФ ЭГЛ на запрограммированную гибель иммунокомпетентных клеток. Антиапоптотический эффект исследуемого экстракта можно объяснить антиоксидантным действием биологически активных веществ, входящих в его состав.

Ключевые слова: Галега лекарственная, сахарный диабет 1 типа, апоптоз, моноядерные лейкоциты

UDC: 616.379-008.64:599.323.45.:591.111.1.633.881

М. И. Лупак, О. П. Каныка, Г. Я. Клевета, Я. П. Чайка, М. И. Скибицкая, Н. О. Сибирная
Ivan Franko National University of Lviv

THE INFLUENCE OF ALKALOID-FREE FRACTION OF *GALEGA OFFICINALIS* EXTRACT ON THE p 53 AND Bcl — 2 PROTEINS CONTENT OF RATS MONONUCLEAR LEUKOCYTES UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1

Using immunohistochemistry method we saw quantitative redistribution of mononuclear leukocytes (MNL) of rat's peripheral blood. MNL contain proapoptotic protein p53 and antyapoptotic protein Bcl-2 under conditions of experimental diabetes mellitus (EDM) type 1. Application of alkaloid-free fraction extract of *Galega officinalis* (AFF EGO) under EDM normalizes the ratio of mononuclear leukocytes which contain the aforementioned protein-regulators of apoptosis. This indicates that the inhibitory effect of AFF EGO on programmed death of immunocompetent cells. The investigated anti-apoptotic effect of the studied extract can be attributed to antioxidant action of bioactive substances in its composition.

Key words: *Galega officinalis*, diabetes mellitus type 1, apoptosis, mononuclear leukocytes.

Адреса для листування:

79005, м. Львів, майдан вул. Грушевського, 4

Надійшла до редакції:

7.06.2013 р.

УДК: 615:547.29:599.323.4

О. В. Почелова¹, Г. І. Степанюк¹, Н. Г. Чорноіван¹, С. І. Коваленко²,
О.Ю. Восковойник²

¹ Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

² Запорізький державний медичний університет

ХАРАКТЕРИСТИКА ДІЇ ПОХІДНИХ (3-*R*-ОКСО-2Н-[1,2,4]-ТРИАЗИНО-[2,3-*C*]-ХІНАЗОЛІН-6-ІЛ) КАРБОНОВИХ КИСЛОТ НА ДИНАМІЧНУ ТА СТАТИЧНУ ВИТРИВАЛІСТЬ ЩУРІВ

*Курсове (5-денне) внутрішньоочеревинне введення щурам похідних (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот з лабораторними шифрами AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 в дозах, що дорівнюють їх ЕД50 за плавальним тестом, подібно до бемітилу сприяє вірогідному підвищенню динамічної (тривалість бігу у третбані) та статичної (час утримання на стрижні, що обертається) витривалості організму. Сполука-лідер AV-224 за ефективністю в заданих умовах експерименту переважала еталонний актопротектор відносно у 3,3 та 2,8 рази.*

Ключові слова: похідні (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот, бемітил, актопротекторна дія.

В екстремальних ситуаціях (гіпо- та гіпертермія, гіпоксичні стани, гіподинамія тощо) з метою підвищення фізичної витривалості організму досить часто використовують актопротектори. Однак на сьогоднішній день арсенал лікарських засобів цієї групи представлений практично одним бемітилом. До того ж він не завжди достатньо ефективний та не позбавлений побічних реакцій, які обмежують його використання [4].

У зв'язку з цим пошук нових речовин з актопротекторною дією, придатних для створення на їх основі нового лікарського засобу, є актуальною задачею фармакології. Перспективними в цьому плані є похідні (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот (ПКК), у яких в попередніх дослідженнях нами встановлена спроможність підвищувати фізичну витривалість щурів за плавальним тестом. Найбільш виразну дію при одноразовому введенні в організм проявили сполуки з лабораторними шифрами AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39, які за величиною їх показника ЕД50 переважали в активності еталонний препарат бемітил у 5-7 разів [5]. У зв'язку з цим, представляло інтерес дослідити вплив вказаних речовин на динамічну та статичну витривалість тварин при курсовому введенні в організм.

МЕТА РОБОТИ

Дати порівняльну характеристику впливу сполук AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 та бемітилу на динамічну та статичну виносливість щурів при курсовому введенні в організм, виявити сполуку-лідера.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на 36 нелінійних щурах обох статей масою 170-220 г, розбитих на 6 груп по 6 тварин у кожній. Актопротекторну дію сполук AV-224 (5,6 мг/кг), AV-227 (6,9 мг/кг), DSK-38 (4,8 мг/кг) та DSK-39 (5,5 мг/кг) та еталонний препарат бемітил (34 мг/кг) оцінювали після 5-денного профілактичного внутрішньоочеревинного (в/о) введення в добових дозах, що дорівнювали їх ЕД50 за плавальним тестом [5]. Інтактні щурі (контрольна група) в цей час отримували еквівалентний об'єм 0,9% розчину NaCl. На 5 добу експерименту, через 1-2 год після останнього введення речовин досліджували динамічну витривалість тварин у третбані при швидкості руху стрічки 42 м/хв та куті нахилу доріжки 10°. Визначали показник тривалості (у хв.) бігу тварин до повного стомлення, критерієм якого вважали неспроможність тварин до подальшого бігу при стимуляції задніх кінцівок електричними

розрядами (35–40В перемінного струму) на стартовій лінії бігової доріжки [8]. Наступного дня визначали статичну витривалість щурів за показником тривалості (у хв.) їх утримання на горизонтальному стрижні, що обертається зі швидкістю 15 об/хв [1]. Величину актопротекторного ефекту на тлі дії кожної речовини оцінювали за динамікою (у%) показників відносно аналогічного контролю, прийнятого за 100%.

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики із визначенням *t*-критерію Ст'юдента [3], зміни показників вважали вірогідними при $p \leq 0,05$. Результати наведено у таблиці.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривалість бігу у третбані інтактних щурів становила у середньому $4,79 \pm 0,2$ хв. Після курсового введення тваринам досліджуван-

них сполук AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39, як і на тлі введення бемітилу, мало місце значне зростання фізичної виносливості щурів, про що свідчило вірогідне збільшення величини їх показника тривалості бігу у третбані. В найбільшій мірі сприяли підвищенню динамічної витривалості організму сполуки AV-224 та DSK-38: під їх впливом тривалість бігу щурів у третбані зростає відносно інтактних тварин відповідно на 263 та 133,6%. Під дією бемітилу даний показник збільшився на 80%. Тобто, вказані ПКК в даному дослідженні за ефективністю переважали еталонний актопротектор відповідно у 3,3 та 1,7 рази. Решта досліджуваних ПКК практично співставлялись з бемітилом за спроможністю підвищувати динамічну витривалість організму (див. табл. 1).

Таблиця. 1

ВПЛИВ КУРСОВОГО ВВЕДЕННЯ ЩУРАМ ДОСЛІДЖУВАНИХ СПОЛУК ТА БЕМІТИЛУ НА ТРИВАЛІСТЬ БІГУ ТВАРИН У ТРЕТБАНІ ТА ТРИВАЛІСТЬ УТРИМАННЯ НА СТРИЖНІ, ЩО ОБЕРТАЄТЬСЯ, $M \pm m$, $N=6$.

Групи тварин	Доза, мг/кг	Тривалість бігу у третбані, хв	Динаміка відносно контролю, %	Тривалість утримання на стрижні, що обертається, хв.	Динаміка відносно контролю, %
Інтактні щурі (контроль)	—	$4,79 \pm 0,2$	—	$1,37 \pm 0,17$	—
AV-224	5,6	$17,41 \pm 1,83^{* \#}$	+263,0	$4,17 \pm 0,71^{* \#}$	+204,4
AV-227	6,9	$10,46 \pm 0,78^{*}$	+108,4	$2,39 \pm 0,28^{*}$	+74,4
DSK-38	4,8	$11,19 \pm 0,65^{* \#}$	+133,0	$3,24 \pm 0,46^{*}$	+136,5
DSK-39	5,5	$9,67 \pm 0,64^{*}$	+102,0	$2,85 \pm 0,29^{*}$	+108,0
Бемітил	34,0	$8,62 \pm 0,49^{*}$	+80,0	$2,36 \pm 0,34^{*}$	+72,3

Примітки: 1) * — $p \leq 0,05$ відносно контролю; 2) # — $p \leq 0,05$ відносно бемітилу.

У другій частині дослідження нами встановлено, що показник тривалості утримання інтактних щурів на стрижні, що обертається, становив у середньому $1,37 \pm 0,17$ хв. 5-денне введення щурам досліджуваних ПКК, як і бемітилу, супроводжувалось помітним збільшенням величини цього показника, що вказувало на спроможність досліджуваних речовин підсилювати статичну витривалість організму.

За ефективністю досліджувані ПКК та еталонний актопротектор розташувались у такій послідовності: AV-224 \geq DSK-38 \geq DSK-39 \geq AV-227 \geq бемітил. При цьому найбільш ефективна сполука AV-224 вірогідно переважала бемітил у 2,8 рази, решта ПКК співставлялись з ним (див. табл.).

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що похідні (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот з лабораторними шифрами AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 при курсовому (5-денному) введенні в дозах, що дорівнюють їх ЕД50 за плавальним тестом, подібно до бемітилу спроможні підвищувати як динамічну (біг у третбані), так і статичну (утримання на стрижні, що обертається) витривалість організму. При цьому сполукою-лідером є AV-224, яка в зазначених умовах експерименту вірогідно переважала за ефективністю еталонний препарат відповідно у 3,3 та 2,8 рази.

Властивість досліджуваних ПКК підвищувати фізичну витривалість організму можна

пов'язати із здатністю сполук цього класу стимулювати кровопостачання життєво важливих органів (мозку та серця) [2; 7], які в найбільшій мірі страждають при фізичних навантаженнях організму [6]. Сполука AV-224 представляє інтерес для подальшого поглибленого вивчення її фармакологічних властивостей та безпечності на предмет придатності для створення на її основі нового актопротектора, конкурентоспроможного з бемітилом.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Похідні (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот сполуки AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 при курсовому (5-денному) внутрішньоочеревинному введенні щурам в дозах, що дорівнюють їх ЕД₅₀ за плавальним тестом, так само як і бемітил, викликають підвищення динамічної і статичної витривалості організму.

На тлі дії сполук AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 та бемітилу тривалість бігу щурів у третбані зросла відповідно на 263,0; 108,4; 133,6; 102,0 та 80%, а тривалість утримання на стрижени, що обертається збільшилась відповідно на 204,4; 74,4; 136,5; 108,0 та 72,3% відносно інтактних тварин.

Сполука –лідер AV-224 в заданих умовах експерименту вірогідно переважає дію еталонного актопротектора відповідно у 3,3 та 2,8 рази.

В подальшому доцільно дослідити ефективність сполук в екстремальних умовах експерименту (гіпо- та гіпертермія, гіподинамія).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологиче-

- ски активных веществ. — М.: Медицина, 1974. — 143с.
2. Джигалюк О.В. Порівняльна оцінка величини кардіопротекторної дії у похідного 4-оксо (аміно-) хіназоліну (сполуки ПК-66), кордарону, мексидолу та тіотриазоліну в умовах гострої кардіальної ішемії / О.В. Джигалюк, Г.І. Степанюк, О.А. Ходаківський, С.І. Коваленко. // Вісник морфології. — 2010. — Т.16, №3. — С.554-557.
3. Лапач С.Н. Статистика в науке и бизнесе: Парктическое руководство / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2002. — 640с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковсткий. — М.: Новая волна, 2012. — 1216с.
5. Степанюк Г.І. Скринінг актопротекторної дії в ряду похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-ил) карбонових кислот / Г.І. Степанюк, О.В. Почелова, Н.Г. Черноіван [та ін.] // Biomedical and Biosocial Antropology. — 2012. — №19. — С.132-134.
6. Фармакология спорта; под ред. С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейфулла. — К.: Олимпийская литература, 2010. — 638с.
7. Ходаківський О.А. Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку: автореф. дис.. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук. — Одеса, 2009. — 21с.
8. Яковлева Л.В. Експериментальне вивчення нових адаптогенних засобів: методичні рекомендації / Л.В. Яковлева, О.Я. Міщенко, Ю.Б. Лар'яновська [та ін.]. — К., 2009. — 35с.

УДК: 615:547.29:599.323.4

Е. В. Почелова, Г. И. Степанюк, Н. Г. Черноиван, С. И. Коваленко, А. Ю. Воскобойник.

Винницкий национальный медицинский университет

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ (3-R-ОКСО-2H-[1,2,4]-ТРИАЗИНО-[2,3-С]-ХИНАЗОЛИН-6-ИЛ) КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ДИНАМИЧЕСКУЮ И СТАТИЧЕСКУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ КРЫС

Курсовое (5-дневное) внутрибрюшинное введение крысам соединений с лабораторными шифрами AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 в дозах, составляющих их ЕД₅₀ за плавальным тестом, подобно бемитилу способствует статически значимому повышению динамической (продолжительность бега в третбане) и статической (продолжительность удержания на вращающемся стержне) выносливости организма. Соединение-лидер AV-224 за эффективностью в указанных условиях эксперимента превышало эталонный актопротектор соответственно в 3,3 и 2,8 раза.

Ключевые слова: производные (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-ил) карбоновых кислот, бемитил, актопротекторное действие.

UDC: 615:547.29:599.323.4

E. V. Pochelova, G. I. Stepanjuk, N. G. Chernoiivan, S. I. Kovalenko, A. U. Voskobojnik.

Vinnitsa state medical university

CHARACTERISTIC ACTION DERIVATIVES (3-R-OXO-2H-[1,2,4]-TRIAZINE-[2,3-C]-QUINAZOLIN-6-YL) CARBOXYLIC ACID ON THE DYNAMIC AND STATIC ENDURANCE RATS

A course (5-day) intraperitoneal administration to rats of compounds with laboratory code AV-224, AV-227, DSK-38 and DSK-39 at doses of ED₅₀ of the swimming test like bemitile contributes statistically significant increase in the dynamic (time running in a treadmill) and static (holding duration on a rotating rod) stamina. Connect Leader AV-224 for efficiency in these experimental conditions, outperforming the benchmark actoprotector respectively 3.3 and 2.8 times.

Key words: derivatives of (3-R-oxo-2H-[1,2,4] triazine [2,3-c] quinazolin-6-yl) carboxylic acid, bemitile, aktoprotectory action.

Адреса для листування:

м. Вінниця
тел.: 0432-61-14-00
097-296-86-36

Надійшла до редакції:

3.06.2013 р.

УДК 591.481.1-001:57.012.4

Д. В. САВЦЬКА¹, С. А. МИХАЛЬСЬКИЙ¹, В. В. БІЛОШИЦЬКИЙ², Н. В. СКРИПНИК³, Т. Ю. КВІТНИЦЬКА-РИЖОВА¹¹ ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України»,² ДУ «Інститут нейрохірургії імені А.П. Ромоданова НАМН України»,³ ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка

СТРУКТУРНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕАКЦІЇ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ І ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ

На моделі тяжкої черепно-мозкової травми (ЧМТ) у дорослих і старих щурів лінії Вістар показано істотні модифікації цитоархітекtonіки кори головного мозку, що виражаються у зміні нормальної структури нервової тканини, зменшенні числа нейронів та різкому збільшенні нейроглиї. «Випадіння нейронів» та поодинокі апоптозні клітини частіше спостерігались у шарах кори, розташованих ближче до волокон білої речовини. Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, суттєво зменшувала реактивний гліоз кори та позитивно впливала на кількість нейронів, запобігаючи їх втратам у дорослих і, особливо, у старих щурів.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, генна терапія, кора, структурні зміни, морфометрія, вікові особливості.

ВСТУП

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є однією з основних причин інвалідності та смертності в усьому світі [9]. Вона продовжує залишатися актуальною проблемою суспільства та системи охорони здоров'я [2]: на сьогодні від 40% до 50% пацієнтів з помірною та важкою ЧМТ виживають, проте потерпають від патологічних наслідків [9].

ЧМТ щорічно зустрічається у понад 10 мільйонів людей в усьому світі [11] та особливо поширена серед населення промислово розвинених країн [5]. У Європейському Союзі мільйони пацієнтів на рік госпіталізуються з ЧМТ [11], так у Німеччині травматизм ЦНС складає близько 10 000 випадків на рік [4]. За рік у Сполучених Штатах більше ніж 50 000 людей гине й 70000 — 90 000 людей стають інвалідами в результаті ЧМТ [5, 14].

Згідно статистичних даних, упродовж 1999-2008 рр. в Україні щороку отримували ЧМТ близько 100 тис. осіб. Частота реєстрації внутрішньочерепних травм у 2008 р. становила 19,6 на 10 тис. населення. Серед травмованих переважають особи молодого й середнього віку, проте зростання абсолютного числа осіб старших вікових груп (постаріння населення) збіль-

шує кількість постраждалих із ЧМТ у літньому та старечому віці. Хоча серед тих, хто отримав ЧМТ, люди старше 60 років становлять близько 8%, в реальному обчисленні цей відносно невисокий відсоток становить по нашій країні тисячі постраждалих. Враховуючи прогнозоване постаріння населення, для більшості країн світу зростає актуальність дослідження особливостей перебігу ЧМТ та лікування травматичних уражень мозку в пізні вікові періоди [2].

Крім того у багатьох людей ЧМТ може стати причиною серйозних сенсомоторних і когнітивних розладів [5]. Останнє, ймовірно, пов'язано з прогресивним розвитком нейродегенеративних процесів, супутніх захворювань, старіння, поведінкових та/або психологічних факторів. Також існують вагомі підстави вважати, що ЧМТ може збільшити ризик розвитку Хвороби Альцгеймера (ХА) [11].

Саме тому дослідження мозку, і зокрема кори, після ЧМТ у людей старших вікових груп може допомогти у вирішенні не лише локальних посттравматичних проблем, а й більш глобальних біомедичних питань.

Однак, незважаючи на очевидні наслідки посттравматичних порушень для суспільної

охорони здоров'я, ще й досі бракує перевірених способів їхнього лікування та корекції. Наступним кроком має стати розробка фармакологічних препаратів для стабілізації та покращення посттравматичних станів з наступним відновленням когнітивних та поведінкових функцій [3, 12].

Одним з чинників, що впливає на посттравматичні процеси, є аполіпопротеїн Е (АпоЕ) — глікопротеїн плазми крові, який відіграє центральну роль у метаболізмі, транспорті й регуляції рівнів холестеролу та тригліцеридів. В ЦНС також існує апоЕ-опосередкований механізм транспорту й підтримки гомеостазу ліпідів. АпоЕ можна розглядати як гомеостатичний та репаративний чинник, що в нормі не тільки доставляє ліпіди, але й сприяє оптимізації синаптичних взаємодій та усуненню токсинів [10]. Не менш суттєві його функції пов'язані з відновленням цитоархітекtonіки мозку після ЧМТ: синтез АпоЕ набуває важливого значення для репарації ліпідного компоненту мембран нейронів і гліоцитів, забезпечуючи транспорт холестеролу й фосфоліпідів у процесі реінервації [6, 13]. Крім цих широко відомих адаптивних функцій АпоЕ при пошкодженнях ЦНС, останніми роками стало відомо, що головними детермінантами його захисних властивостей є здатність модифікувати запальні реакції активованої мікроглії в головному мозку та захищати нервові клітини від ексайтотоксичного ураження [7, 8].

Мета роботи. Дослідження структурних особливостей та апоптотичних змін сенсомоторної кори мозку щурів різного віку після експериментальної ЧМТ та генної терапії (ГТ) плазмідом, що несе ген апоЕ3, у комплексі з катіонними ліпосомами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Дослідження проведено на 15 дорослих (6-8 міс) та 12 старих (24 міс) щурах-самцях лінії Wistar (розведення віварію Інституту нейрохірургії), яких забивали через 10 днів після завдання ЧМТ та/або введення плазмиди. Тварини були розподілені на 6 груп:

- *Контроль* — інтактні дорослі (5 щурів) та старі (4 щура);
- *ЧМТ* — дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) тварини з експериментальною ЧМТ;
- *ЧМТ + Пл* — дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) тварини з експериментальною ЧМТ, яким вводили плазмідний вектор (за допомогою встановленої в лівий боковий шлуночок мозку канюлі, з'єднаною з імплантованою під шкіру спини осмотичною помпою ALZET, що забезпечувала

інфузію катіонних ліпосом із плазмідним вектором, який ніс ген апоЕ3, протягом 25 год зі швидкістю 1 мкл/год (1 мкг плазмиди/год)).

Тяжка ЧМТ завдавалась щурам у результаті вільного падіння вантажу вагою 450 г з висоти 1,5 м. Моделювання експериментальної ЧМТ і всі подальші хірургічні маніпуляції, пов'язані зі встановленням канюлі та введенням відповідних розчинів, виконували під загальним наркозом (каліпсол, із розрахунку 0,7 мг/кг маси тіла, в/м). В якості лікувального препарату використовували комплекс катіонних ліпосом DOTAP Methosulfate (Sigma, США) і 25 мкг плазмідного вектора pCMV·SPORT6 (Invitrogen, США), що містив ген апоЕ3 людини під контролем цитомегаловірусного промотору.

Тварин умертвляли шляхом внутрішньочеревної ін'єкції розчину тіопентал-натрію (200 мг/кг). Мозок вилучали з порожнини черепа, макроскопічно оцінювали стан м'яких оболонок, рельєфу, наявності кроволивів та локалізацію видимих осередків забою.

Ефективність трансфекції була підтверджена наявністю апоЕ3-мРНК у мозочку і довгастому мозку за допомогою RT-PCR-дослідження.

Для морфологічного дослідження мозок фіксували протягом 20 год в 4 % розчині параформальдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4). Зразки промивали у тому ж буфері. Частину зразків (права частина мозку від хіазми до середнього мозку) зневоднювали та заливали в парафін (парафінова суміш «Парапласт»®) за стандартною методикою. З одержаних блоків на рівні сенсомоторної кори на ротаційному мікромомі «Microm» HM 325 (Carl Zeiss, Німеччина) виготовляли фронтальні серійні зрізи товщиною 6 мкм і монтували на предметні скельця, покриті полі-L-лізином. Частину зрізів фарбували тіоніном за Нісслем і використовували для оцінки цитоархітекtonіки кори. Іншу частину серійних зрізів використовували для імуногістохімічного дослідження апоптозу за TUNEL-методом (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling).

Імуногістохімічне дослідження апоптозу. Для оцінки фрагментації ядерної ДНК, що характеризує кінцеву стадію апоптозу клітини, застосовували метод TUNEL із використанням набору реагентів «Apoptag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit» («Chemicon», США) згідно рекомендацій виробника. Метод ґрунтується на визначенні вільних 3'-ОН-кінцевих груп ДНК шляхом їх хімічного мічення модифікованими (зв'язаними з діоксигеніном) нуклеотидами за

допомогою ензиму термінальної дезоксирибонуклеотидилтрансферази (*TdT*) з наступним утворенням імунокомплексів з вторинними антидіоксигеновими антитілами, кон'югованими з пероксидазою. Візуалізація апоптотичних (*TUNEL*-позитивних) ядер відбувалася після взаємодії пероксидази вторинних антитіл з діамінобензидином у присутності пероксиду водню з утворенням нерозчинного коричневого продукту реакції. Для візуалізації ядер клітин, що не перебували в апоптотичному стані, проводили фарбування зрізів метиленовим зеленим.

Морфометрія проводилася на фотографіях кори головного мозку щурів різного віку, отриманих на світловому мікроскопі Olympus BX51 з використанням об'єктиву $\times 40$ та окуляра $\times 10$. Проводили підрахунок кількості нейронів, гліоцитів та ендотеліоцитів на тестову площу ($322 \times 241 \mu\text{m}^2$). Підрахунок кількості нормальних та апоптотичних ядер на тестову площу здійснювали на (20 + 2) полях зору з використанням програми ImageJ.

Аналіз даних проводився як у програмі STATISTICA за допомогою тесту на нормальність Шапіру-Уїлка і подальшої статистичної обробки, так і за допомогою порівняння різних груп тварин з використанням F-тесту та t-тесту в програмі Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

Після експериментальної ЧМТ за допомогою «моделі ударного прискорення» на світлооптичному рівні спостерігали значні структурні гістологічні зрушення. Зокрема мікроскопічне дослідження кори виявило суттєві деструктивно-дистрофічні зміни (ДДЗ) її цитоархітекtonіки як у старих, так і дорослих щурів. Цитоморфологічні модифікації проявлялись у зміні форми клітин та оптичної щільності їх забарвлення, загальному дистрофічному виснаженні клітин та утворення зон «випадіння» нейронів



Рис. 1. Цитоархітекtonіка кори головного мозку дорослого щура після ЧМТ (забарвлення за Ніслем, панорама, $\times 200$).

Підрахунки нейронів кори в посттравматичний період показали, що їх кількість помітно зменшується. Проте необхідно зазначити, що кора виявилась більш стійкою до ЧМТ (особливо

у дорослих щурів), порівняно з гіпокампом [2]. Кількість нейронів у корі мозку дорослих щурів змінюється з $103,18 \pm 6,56$ у контрольних групах до $95,45 \pm 8,96$ після ЧМТ, що на 5-8% менше за початкові показники. У старшій віковій групі ці показники зменшуються від $66,5 \pm 3,35$ до $27,45 \pm 3,67$, що свідчить про суттєве посттравматичне зниження кількості нейронів кори приблизно у 2,4 рази.

Було помічено, що кількість нейронів у різних ділянках кори змінюється неоднаково. Шари кори, розташовані ближче до волокон білої речовини, значно більше піддаються делеції нейронів, ніж зовнішні ділянки. (На досліджуваних нами полях зору умовно базальними шарами кори вважали IV – VI, а латеральними – I – III).

Особливо ця тенденція прослідковується у дорослих щурів. Кількість нейронів базальних шарів кори у дорослому контролі – $109,67 \pm 8,26$, а у групі ЧМТ (Д) – $51,75 \pm 11,7$, що приблизно у 2 рази менше за нормальні показники; у той час як у латеральних шарах їх кількість коливається з $113,33 \pm 13,719$ до $87,25 \pm 10,66$, зменшуючись лише на 23%.

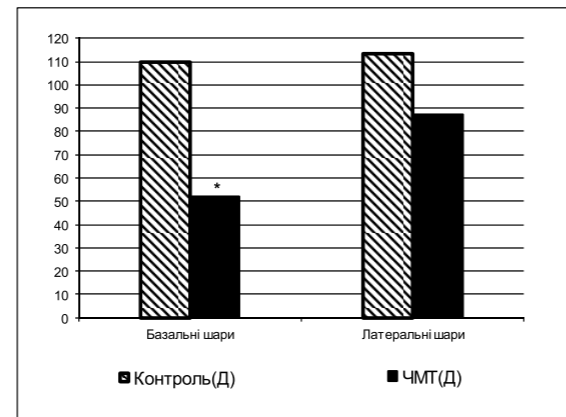


Рис.2. Пошарові зміни кількості нейронів у корі дорослих щурів після ЧМТ:

* – $p < 0,05$ порівняно з контролем, # – $p < 0,05$ порівняно з латеральними шарами. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

У старих тварин різниця у кількості нейронів базальних (з $55,67 \pm 6,15$ у контролі до $20,17 \pm 3,38$ після ЧМТ) і латеральних (з $76 \pm 5,63$ до $30,71 \pm 3,91$) шарів кори становить 2,7 та 2,4 рази відповідно. Ці дані свідчать про те, що посттравматичні втрати нейронів у старших вікових груп інтенсивніші та більш рівномірні, ніж у дорослих, що, ймовірно, пов'язано з віковими змінами нервової тканини при старінні.

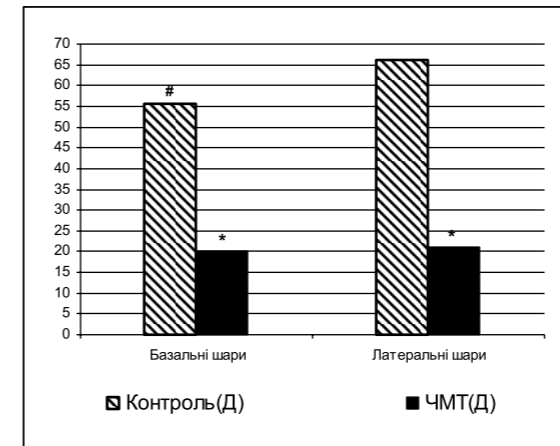


Рис.3. Пошарові зміни кількості нейронів у корі старих щурів після ЧМТ:

* – $p < 0,05$ порівняно з контролем, # – $p < 0,05$ порівняно з латеральними шарами. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Кількість гліоцитів у корі дорослих $44,36 \pm 2,24$ та старих $57,95 \pm 2,75$ щурів після ЧМТ зросла приблизно у 3 рази і становила $150,95 \pm 6,22$ та $149,75 \pm 5,62$ відповідно. Отримані дані показують, що в контролі існує вікова різниця між кількістю клітин нейроглії у дорослих і старих тварин, що пов'язано з незначним підвищенням кількості гліоцитів при нормальному старінні. Травматичні ушкодження мозку значно збільшують їх кількість, підводячи до певного критичного рівня, що, за результатами наших досліджень, становить близько $150,35 \pm 5,92$.

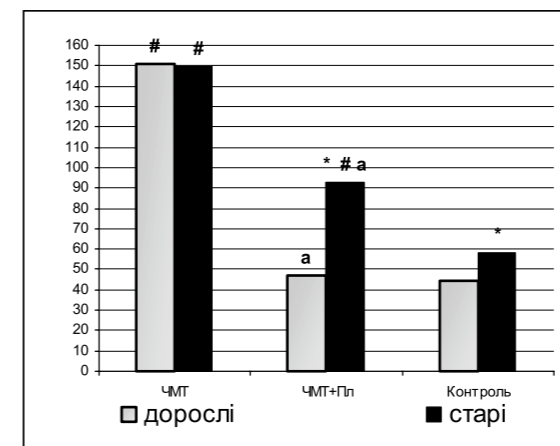


Рис. 4. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість гліоцитів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Кількість ендотеліальних клітин також зростає після нанесення черепно-мозкових ушкоджень. Їх показники збільшуються з $8,364 \pm 0,509$ до $20,75 \pm 1,732$ у дорослих та з $8,7 \pm 0,86$ до $14,25 \pm 0,99$ у старих щурів, що приблизно у 2,4 та 1,6 раз перевищує початкові значення.

Зазначимо, що подібні дані, що засвідчують зростання ендотеліальних клітин, спостерігали і в інших експериментальних роботах, де показано, що середня кількість ендотеліальних клітин починає зростати на 3-тю добу посттравматичного періоду, але статистично достовірні зміни числа ендотеліоцитів спостерігаються на 7 добу, тоді як починаючи з 10 до 18 доби їх кількість падає і досягає тих значень, що спостерігалися у ранній період після ЧМТ. Ці дані дозволяють припускати, що повільна редукція неоангіогенезу в перифокальній зоні травматичного ураження лежить в основі вторинного збільшення розмірів вогнищ травматичного ураження в головному мозку [1].

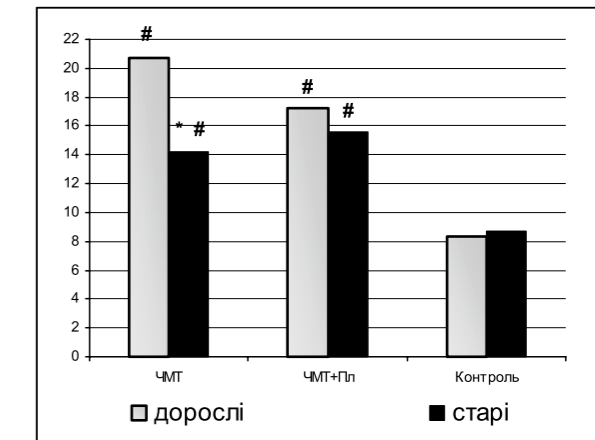


Рис. 5. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість ендотеліоцитів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Лікування плазмідом мало позитивний ефект на кількість нейронів, запобігаючи їх надмірним втратам внаслідок ЧМТ. Аналіз даних показав, що у дорослих тварин при ЧМТ цей показник становив $95,45 \pm 8,96$, а в групі ЧМТ+Пл – $103 \pm 5,71$, і хоча достовірної різниці між групами Контроль – ЧМТ – ЧМТ+Пл відмічено не було, проте внаслідок ГТ втрати нейронів зменшуються на 4-8% відсотків, наближаючись до контрольних показників.

Високоєфективний вплив ГТ був відзначений у старих щурів: при ЧМТ їх кількість становила $27,45 \pm 3,67$, а при ЧМТ+Пл — $53,5 \pm 3,58$. Лікувальна терапія суттєво сприяла збереженню нейронів кори, зменшуючи їх «випадіння» майже у 2 рази.

Позитивна дія ГТ також позначилась на нормалізації кількості гліальних клітин. Порівнюючи показники у дорослих ЧМТ ($150,95 \pm 6,22$) і ЧМТ+Пл ($47 \pm 1,92$) та старих ЧМТ ($149,75 \pm 5,62$) і ЧМТ+Пл ($92,5 \pm 3,99$) тварин, можна стверджувати, що відбувається достовірне зменшення реактивного гліозу в корі. Кількість гліоцитів у дорослих тварин зменшується у 3,2 рази, спадаючи майже до значень контрольної групи, у старих — цей показник знижується в 1,6 рази і наближається до значення, що лише на 37% перевищує норму.

Достовірного впливу ГТ на кількість ендотеліоцитів відзначено не було, що залишає питання для подальших наукових досліджень.

У дорослих тварин сумарна кількість апоптотичних клітин на усі досліджувані поля зору виявилась більшою, ніж у старих, проте втрати нейронів при ЧМТ були незначні, у той час як у старих тварин апоптоз зустрічався значно рідше, проте кількість нейронів після травми зменшилась у 2,4 рази. Спираючись на отримані результати, можна припустити, що у старшій віковій групі інтенсивні апоптотичні процеси відбулись в короткий посттравматичний період, тоді як дорослі щури виявились стійкішими до ЧМТ і у них процеси клітинної загибелі протікали повільніше, ніж у старих тварин.

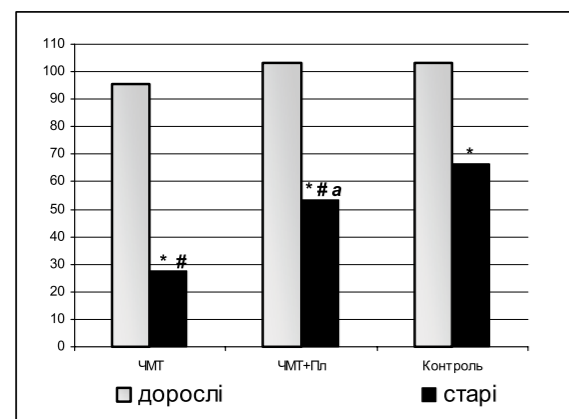


Рис. 6. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість нейронів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм²).

Зазначимо, що поодинокі апоптотичні клітини, що були відмічені у корі, найчастіше зустрічались у шарах, розташованих ближче до волокон білої речовини, що співвідноситься з більшою втратою нейронів саме у цих ділянках.

Результати інших досліджень підтверджують, що ізоформи АпоЕ3 і АпоЕ2 мають значний репараційний потенціал. Протягом всього життя, і особливо з віком, нейрони мають «відновлюватися» для підтримання синаптичних контактів. Маючи здатність транспортувати ліпіди, АпоЕ3 і АпоЕ2 виступають важливими факторами в реалізації цього процесу, тоді як АпоЕ4 справляє протилежний ефект [10].

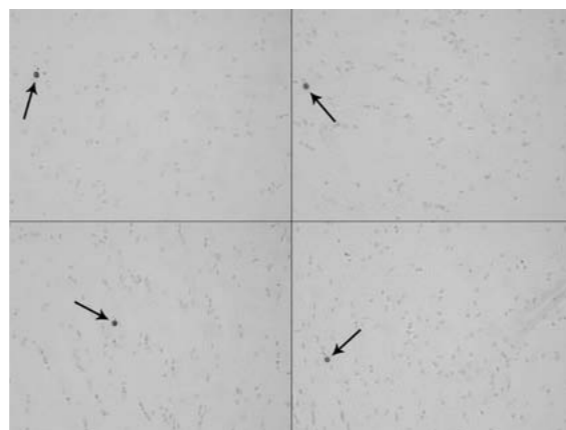


Рис. 7. Апоптотичні (TUNEL-позитивні) клітини у корі мозку дорослих щурів при ЧМТ (36. X400)

Специфічна доменна взаємодія АроЕ4 спричинює ряд нейропатологічних ефектів, зокрема збільшення синтезу амілоїду β (А β), сприяння викликаному А β витоку лізосомальних ферментів і, як наслідок, підвищенню протеолітичного розщеплення в нейронах і апоптозу. Погіршення пізнавальної діяльності у людини з віком пов'язують з активністю апоЕ4 алелю. Крім того, взаємодіючи з пептидом А β , АроЕ4 може призвести до збільшення відкладень А β в бляшках, послабити його утилізацію [10].

Таким чином, наші дослідження мали на меті вивчення терапевтичного впливу АпоЕ шляхом ліпосомальної трансфекції однієї з його репараційно активних ізоформ. Отримані результати показали позитивний вплив на нейрони та нейроглію як у дорослих, так і старих груп тварин. Лікувальна терапія сприяла суттєвому зменшенню кількості клітин нейроглії у 3,2 і 1,6 рази у дорослих та старих тварин відповідно, а також запобігала «випадінню» нейронів. Хоча достовірна різниця у кількості нейронів між контрольною та двома експериментальними ЧМТ та ЧМТ+Пл групами дорослих щурів зафіксована не була, проте зниження нейронних втрат

на 4–8% після лікування плазмідом у дорослих та майже у 2 рази у старих щурів, свідчить про значний корегувальний ефект ГТ.

ВИСНОВКИ

Світлооптичне дослідження кори мозку щурів різних вікових груп засвідчило наявність значних порушень її цитоархітектоніки після ЧМТ. Морфометричний аналіз показав різницю у кількості нейронів, гліальних та ендотеліальних клітин при ЧМТ у дорослих і старих групах. Нейрони кори дорослих щурів виявились більш стійкими до травми, тому їх кількість змінюється не суттєво, у той час як у старих щурів вона зменшується приблизно у 2 рази, що, ймовірно, пов'язано з віковими деструктивно-дистрофічними змінами нервової тканини. Після травми значно збільшується кількість гліальних клітин. Хоча у контрольних групах гліоз спостерігався лише у старих тварин, при ЧМТ кількість гліоцитів збільшується в обох вікових групах і стає майже однаковою.

Втрати нейронів та апоптотичні клітини найчастіше зустрічаються у шарах кори, розташованих ближче до волокон білої речовини.

Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, мала суттєвий позитивний вплив на кількість нейронів і нейроглії кори, корегуючи її у рази та/або наближаючи до контрольних значень.

Генна терапія є перспективним методом лікування ЧМТ, який потребує подальшого дослідження та вдосконалення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кудайбергенава А.Д. Диагностика сроков давности очагов ушиба /размозжения головного мозга по микроскопическим признакам // Оригинальные статьи. Нейрохирургия. — 2000. — N 4. — С. 45 — 50.
2. Михальський С. А., Квітницька-Рижова Т. Ю., Білошицький В. В., Малишева С. П. Апоптоз клітин мозку щурів різного віку при черепно-мозковій травмі і генній терапії // Пробл. старения и долголетия. — 2011. — Т. 20, N 4. — С. 371 — 380.
3. Педаченко Є.Г., Білошицький В. В., Михальський С. А., Гридін Н.Я., Квітницька-Рижова Т. Ю. Можливості генної терапії пошкоджень головного мозку і функціонального дефіциту при черепно-мозковій травмі у щурів різного віку // Журнал НАМН України. — 2012. — Т. 18, N 2. — С. 171 — 185.
4. Победный А.Л. Распространенность и струк-

тура черепно-мозговой травмы в крупном промышленном регионе // Український нейрохірургічний журнал. — 2011. — N 3. — С. 32 — 35.

5. Fujimoto S. T., Longhi L., Saatman K. E. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2004. — Vol. 28. — P. 365 — 378.
6. Hauser P. S., Narayanaswami V., Ryan R. O. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology // Prog. Lipid Res. — 2011. — Vol. 50. — P. 62 — 74.
7. Hayashi H., Campenot R. B., Vance D. E., Vance J. E. Apolipoprotein E-containing lipoproteins protect neurons from apoptosis via a signaling pathway involving low-density lipoprotein receptor-related protein-1 // J. Neurosci. — 2007. — Vol. 27, N 8. — P. 1933 — 1941.
8. Laskowitz D. T., Vitek M. P. Apolipoprotein E and neurological disease: therapeutic potential and pharmacogenomic interaction // Pharmacogenomics. — 2007. — Vol. 8, N 8. — P. 959 — 969.
9. Longhi L., Gesuete R., Perego C., Ortolano F., Sacchi N., Villa P., Stocchetti N., De Simoni M.-G. Long-lasting protection in brain trauma by endotoxin preconditioning // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. — 2011. — Vol. 31. — P. 1919 — 1929.
10. Mahley R.W., Weisgraber K.H., Huang Y. Apolipoprotein E4: A causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease // PNAS. — 2006. — Vol. 103, N 15. — P. 5644 — 5651.
11. Moretti L., Cristofori I., Weaver S.M., Chau A., Portelli J.N., Grafman J. Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury // Lancet Neurol. — 2012. — Vol. 11. — P. 1103 — 1112.
12. Narayan R. K., Michel M. E., Ansell B. et al. Clinical trials in head injury // Experimental & Translational Stroke Medicine. — 2002. — Vol. 19, N 5. — P. 503-557.
13. Poirier J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease // Trends Neurosci. — 1994. — Vol. 17, N 12. — P. 525 — 530.
14. Veenith T., Goon S.H., Burnstein R.M. Molecular mechanisms of traumatic brain injury: the missing link in management // World Journal of Emergency Surgery. — 2009. — Vol. 4, N 7. — P. 201 — 206.

УДК 591.481.1-001:57.012.4

Д.В. Савицька¹, С.А. Михальський¹, В.В. Белошицкий², Н.В. Скрипник³, Т.Ю. Квитницька-Рыжова¹¹ГУ «Институт геронтології імені Д. Ф. Чеботарева НАМН України»,²ГУ «Институт нейрохірургії імені А.П. Ромоданова НАМН України»,³УНЦ «Институт біології» КНУ імені Тараса Шевченка**СТРУКТУРНЫЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕАКЦИИ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

На модели тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у взрослых и старых крыс линии Вистар показано существенные модификации цитоархитектоники коры головного мозга, выражающиеся в изменении нормальной структуры нервной ткани, уменьшении числа нейронов и резком увеличении нейроглии. «Выпадение нейронов» и одиночные апоптотические клетки наблюдались в основном в слоях коры, расположенных ближе к волокнам белого вещества. Генная терапия путем липосомальной трансфекции ткани головного мозга плазмидным вектором, несущим ген апоЕ3, существенно уменьшала реактивный глиоз коры и положительно влияла на количество нейронов, предотвращая их потерю у взрослых и, особенно, у старых крыс.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, генная терапия, кора, структурные изменения, морфометрия, возрастные особенности.

UDC: 591.481.1-001:57.012.4

D. V. Savitska¹, S. A. Mikhalsky¹, V. V. Biloshytsky², N. V. Skrypnyk³, T. Yu. Kvitnytska-Ryzhova¹¹State Institution «D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS Ukraine»,²State Institution «A. P. Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS Ukraine»,³ESC «Institute of biology» National Taras Shevchenko University of Kyiv**STRUCTURAL AND MORPHOMETRIC INDICATORS OF SENSOMOTOR CORTEX REACTION OF RATS OF DIFFERENT AGES AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND GENE THERAPY**

Based on the model of severe traumatic brain injury (TBI) of adult and old Wistar rats has been shown substantial modifications of cortex cytoarchitectonic, that were reflected in the change of the normal structure of the nervous tissue, reducing the number of neurons and abrupt increase in neuroglia. «Loss of neurons» and rare apoptotic cells were observed more frequently in the layers of the cortex, located closer to the white fibers. Gene therapy by means of liposomal transfection brain tissue using plasmid vector carrying the gene apoE3, significantly decreased reactive gliosis of the cortex and positively affected the number of neurons, preventing their loss in adults and especially in old rats.

Keywords: brain injury, gene therapy, the cerebral cortex, structural changes, morphometry, age features.

Адреса для листування:

04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67
тел.: 044-430-40-68

Надійшла до редакції:

29.06.2013 р.

УДК 615.015^541.182.024(02):577.33

І. С. ЧЕКМАН, С. Б. ФРАНЦУЗОВА

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

ІСТОРИЧНІ ЕТАПИ РОЗВИТКУ ФАРМАКОЛОГІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ (ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ)

Присвячується пам'яті всесвітньо відомого вченого-біохіміка, члена-кореспондента НАН України, професора А.М. Утевського

В статті обобщены данные литературы и результаты собственных исследований, касающиеся исторических этапов развития фармакологической науки различных направлений: фенологической (физиологической), биохимической, молекулярной, физико-химической, квантовой, а также нанофармакологии. Сделан вывод, что молекулярные механизмы первичной фармакологической реакции лекарственных средств еще окончательно не установлены и остаются предметом дальнейших интенсивных исследований ученых различных специальностей.

Наукові дослідження з розробки нових лікарських засобів, дослідження механізму їх дії та застосування у клінічній практиці є основною метою спеціалістів різного профілю — хіміків, фармакологів, (провізорів), технологів, клініцистів. Встановлення механізму лікувальної дії медикаментів — первинної фармакологічної реакції, їх впливу на рецептори, функцію органів і систем організму, а також обмін речовин є важливим аспектом лікознавства. В науковій літературі, яка стосується досліджень механізмів первинної фармакологічної реакції лікарських засобів, виділяють декілька історичних етапів: феноменологічна (фізіологічна), біохімічна, молекулярна, фізико-хімічна, квантова фармакологія, а також нанофармакологія.

Феноменологічна (фізіологічна) фармакологія, як фундаментальна дисципліна, розгорнула експериментальні дослідження на тваринах для вивчення механізму дії лікарських засобів ще на початку XIX століття. На перших етапах зародження та еволюційного розвитку фармакології, як самостійної науки, дослідники вивчали вплив препаратів на діяльність органів і систем організму. Фармакологи реєстрували здебільшого функціональні зміни під впливом лікарських засобів, тобто проводили дослідження у галузі експериментальної або феноменологічної фармакології.

Експериментальні фармакологічні лабораторії були відкриті Р. Бухгеймом університеті м. Тарту (1847), О.О. Соколовським у — Московському університеті (1865) та І.В. Забелінін у Петербурзькій медико-хірургічній академії (1869). Одним з перших у світі дослідження з експериментальної (феноменологічної) фармакології розпочав завідувач кафедри фармакології університету Святого Володимира (м. Київ) В.І. Дибковський (1836-1870).

Дослідження з феноменологічної (фізіологічної) фармакології, які досягли кульмінації у 50–80 роках XX століття, тривають і донині. Науковці різних країн світу детально вивчили і продовжують вивчати вплив лікарських засобів на діяльність органів і систем організму, також розвиток побічних реакцій [2, 4]. Однак дослідження з феноменологічної (фізіологічної) фармакології не могли відповісти на питання: чому той чи інший лікарський засіб викликає певний, характерний саме для нього лікувальний або токсичний ефекти? Це слугувало підставою для виникнення біохімічної фармакології.

Біохімічна фармакологія. У 20-их роках XX століття зароджується новий напрямок досліджень — біохімічна фармакологія. Біохімічна фармакологія вивчає вплив лікарських засобів на

обмін речовин в організмі з метою встановлення біохімічних механізмів первинної фармакологічної реакції та нормалізації порушень метаболізму, які мають місце за умов патологічних станів. Результати досліджень у галузі біохімічної фармакології дали змогу з'ясувати особливості дії лікарських засобів на обмін речовин у різних органах організму і поглибити існуючі уявлення щодо первинної фармакологічної реакції [7, 10, 11, 14]. Одним із перших у світі дослідження з біохімічної фармакології започаткував видатний український учений академік О.І. Черкес. У 1926 році Олександр Ілліч публікує у журналі *Biochem. Zeitsch.* статтю: «Про дію наркотиків на хімічний склад головного мозку». Це була одна з перших наукових праць у новому напрямку фармакології — біохімічній фармакології. Коли у 1930 р. О.І. Черкеса обрали завідувачем кафедри фармакології Харківського медичного інституту, він і його співробітники розгорнули дослідження з біохімічної фармакології серцево-судинних засобів, зокрема, серцевих глікозидів. Завершальним підсумком цих розробок стала монографія «Експериментальні дослідження з фармакології серця» [11]. Дослідження з біохімічної фармакології серцевих глікозидів продовжували учні О.І. Черкеса: В.Ф. Мельникова, М.І. Сластьон, В.І. Сила, Е.М. Айрапетян, М.А. Ангарська, Н.М. Дмитрієва, В.А. Крементуло, М.Я. Тверська, Е. Аджикулов, В.Г. Дужак, І.С. Чекман, С.Б. Французова, К.І. Рубчинська, Н.О. Горчакова, Р.Д. Самілова, І.Ф. Полякова, О.П. Вікторов.

Значний внесок у розвиток біохімічної фармакології зробили українські дослідники: А.М. Утевський, Я.Б. Максимович, Ю.І. Іванов, Р.В. Рудий, Я.І. Хаджай, С.М. Кіт, Г.Є. Батрак, С.І. Хрустальов, М.С. Харченко, а також російські вчені — М.П. Кравков, В.С. Скворцов, С.В. Анічков, В.В. Закусов, М.Д. Машковський, А.В. Вальдман, К.М. Лакін, А.С. Саратиков, В.С. Заїконнікова, П.В. Сергеев та ін. Багато зробили в цьому напрямку і зарубіжні науковці: В. Блек, М. Фохт, О. Тренделенбург, Ф. Ейлер, Р. Алквіст, Ю. Аксельрод, Б. Броді та ін.

Фундаментальні дослідження з фармакології і біохімії катехоламінів, проведені академіком О.І. Черкесом і член-кореспондентом А.М. Утевським, сприяли впровадженню у медичну практику адреналіну, норадреналіну, з'ясуванню механізму дії ефедрину, резерпину та ін.

В світі досягнень щодо вивчення функції та обміну катехоламінів та розуміння їх ролі як об'єкту впливу лікарських засобів принципово новим був напрямок роботи академіка

О.І. Черкеса і його учнів в галузі біохімічної фармакології, що торкався саме виявлення адренергічних механізмів в дії низки серцево-судинних медикаментів (інгібітори моноаміноксидази, серцеві глікозиди, α та β — адреноблокатори, резерпін та інші антиадренергічні засоби, гіпотензивні препарати різних фармакологічних груп, інгібітори біосинтезу катехоламінів та ін.).

Починаючи дослідження автори цієї статті, на той час молоді науковці, в 1964 році прийняли участь в роботі науково — методичного семінару з біогенних амінів, що його проводив на своїй кафедрі професор А.М. Утевський. Особистість вченого, форма і зміст його чудових лекцій, рекомендації стосовно впровадження методів визначення катехоламінів в біологічних середовищах (органах та тканинах) не тільки вразили нас — молодих фармакологів, але й значно посилили інтерес до актуальної на той час проблеми.

В наступні роки був виконаний великий обсяг досліджень з цих питань, який дозволив сформулювати оригінальні і пріоритетні на той час висновки щодо адренергічних механізмів дії лікарських засобів. Отримані результати знайшли втілення в наступних дисертаційних роботах: І.С. Чекмана (кандидатська дисертація «Экспериментальные исследования фармакологии производных пропинамина» (1966); (докторська дисертація «Экспериментальные исследования механизмов действия антиадренергических средств» (1973); С.Б. Французові (кандидатська дисертація «Влияние гипотензивных средств на некоторые стороны обмена катехоламинов» (1968), (докторська дисертація «Адренергические механизмы в действии сердечно-сосудистых средств» (1978), а також у статтях, монографіях.

Саме величезний комплекс біохімічних досліджень дозволив О.І. Черкесу сформулювати оригінальне уявлення про трофічну дію серцевих глікозидів на міокард і їх властивість відновлювати метаболізм міокарда, який страждає за умов патології [11].

Молекулярна фармакологія. На підмурівках біохімічної фармакології та

завдяки досягненням теоретичної біофізики та біохімії почала розвиватися молекулярна фармакологія, що досліджує вплив лікарських засобів на функцію рецепторів, синапсів, іонних каналів, клітинних і субклітинних мембран, структурно-функціональні зміни в молекулах білків, ліпідів, вуглеводів. Завдяки досягненням з молекулярної фармакології синтезовані і впроваджені у медичну практику агоністи та

антагоністи рецепторів, а також медикаменти на основі хімічної подібності до ендогенних фізіологічно активних сполук організму [1, 12, 13].

Фізико-хімічна фармакологія вивчає особливості взаємодії медикаментів з біомолекулами та компонентами біомембран [3]. Дослідження з фізико-хімічної фармакології проводяться в Одеському національному університеті ім. І. Мечнікова (академік АМН України М.Я. Головенко), Одеському національному медичному університеті (член-кореспондент АМН В.Й. Кресюн), Інституті фармакології і токсикології (чл.кор. НАМН України Т.А. Бухтіярова), Національному фармацевтичному університеті (член-кореспондент НАН України В.П. Черних), Луганському медичному університеті (професор В.Д. Лук'янчук), Дніпропетровській медичній академії (професор В.Й. Мамчур) та ін.

Дослідження проведені в лабораторії кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця виявили, що лікарські засоби утворюють комплекси різної стійкості з основними мембранозв'язуючими біолігандами: амінокислотами, ліпідами, вуглеводами, аденіновими нуклеотидами, нікотинамідами коферментами, біометалами [7].

Нанофармакологія вивчає фізико-хімічні, фармакодинамічні, фармакокінетичні властивості розроблених на основі нанотехнологій нанопрепаратів, показання, протипоказання до їх застосування, можливі побічні ефекти. Нанофармація (Nanopharmacy) досліджує технології розробки лікарських форм нанопрепаратів для ефективного застосування у медичній практиці [5, 8, 15, 16]. Більшість органел клітин, біологічних речовин, лікарських засобів, фізіологічно активних речовин організму людини і рослин мають нанорозміри, що зумовлює їх високу біохімічну та фармакологічну активність, властивість регулювати обмін речовин в організмі людини. Дослідження з нанофармації інтенсивно проводяться в інститутах НАН і НАМН, університетах України.

За ініціативи академіка Б.Є. Патона і академіка В.Ф. Москаленка створена спільна лабораторія між Інститутом електрозварювання ім. С.О. Патона та Національним медичним університетом ім. О.О. Богомольця «Електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини», у якій розроблено технологію отримання наночастинок заліза, міді, срібла та інших металів, проводиться вивчення їх фармакологічної активності [6].

За понад двадцятирічний період розвитку **квантової фармакології** основні положення цьо-

го напрямку можна визначити в таких аспектах: дослідження просторової будови та електронної структури молекули лікарських засобів; встановлення зв'язку між хімічною структурою та фармакологічною активністю медикаментів (QSAR); роль розчинника в механізмі дії препаратів; визначення фармакофорів лікарських засобів; розробка de novo дизайну засобів для лікування різних захворювань; прогнозування фармакологічної активності лікарських засобів, білок-лігандні взаємодії при реакції між фізіологічно активними речовинами препаратів та біомолекулами, дослідження первинних механізмів дії лікарських засобів [9, 17, 18].

На кафедрі фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця проведені дослідження по вивченню квантово-фармакологічних властивостей препаратів різних хімічних груп та механізму їх дії: серцево-судинних (каптоприл, лізиноприл, уфібрат, дигоксин), медіаторних (адреналін, атенолол, ацетилхолін, карведилол, мезатон, метопролол, пропранолол), метаболічних (ацетилцистеїн, кверцетин, нікотинамід, таурин, тіотриазолін, яктон) препаратів, похідних ксантину (кофеїн, пентоксифілін) [9].

Заключення. Історичні етапи розвитку фармакології свідчать, що дана наука пройшла тривалий період свого розвитку. Створені нові ефективні препарати для лікування різних захворювань, встановлені механізми їх лікувальної дії. Разом з тим молекулярні механізми первинної фармакологічної реакції лікарських засобів остаточно не встановлені, і становлять предмет подальших інтенсивних досліджень науковців різних спеціальностей.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авакян О.М. Фармакологическая регуляция функции адренорецепторов. — М.: Медицина, 1988. — 256 с.
2. Аничков С.В. Избирательное действие медиаторных средств. — М.: Медицина, 1974. — 295 с.
3. Головенко М.Я. Фізико-хімічна фармакологія: Монографія. — Одеса: Астропринт, 2004. — 720 с.
4. Закусов В.В. Фармакология центральных синапсов. — М.: Медицина, 1973. — 271 с.
5. Борисевич В.Б., Каплунович В.Г., Косінов М.В., Борисович Б.В. і співав. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. — К.: ВД «Авіцена», 2010. — 416 с.
6. Патон Б.Є., Москаленко В. Ф., Чекман І. С., Мовчан Б. О. Нанофармація і нанотехно-

- логії: технічний, медичний та соціальний аспекти // Вісн. НАН України. — 2009. — №6. — С. 18–26.
7. Чекман І.С. Биохимическая фармакодинамика. — К.: Здоровья, 1991. — 200 с.
 8. Чекман І.С. Нанофармакологія. — Київ: Видавництво ПВП «Задруга». — 2011. — 423 с.
 9. Чекман І.С. Квантова фармакологія. — Київ: Науково-виробниче підприємство «Видавництво «Наукова думка» НАН України». — 2012. — 181 с.
 10. Чекман І.С., Горчакова Н.А., Французова С.Б., Нагорна Е.А. Метаболитные и метаболитоторпные препараты в системе кардио- и органопротекции. — Киев: 2009. — 155 с.
 11. Черкес А.И. Фармакодинамика сердечных гликозидов в биохимическом аспекте. В кн. «Достижения современной фармакологии». Л. Медицина. — 1976. — С. 49–58.
 12. Французова С.Б. Действие сердечных гликозидов и процесс адренергической медиации // Фармакология и токсикология. — 1977. — №6. С. 733–745.
 13. Черкес А.И., Французова С.Б. Особенно-сти действия сердечных гликозидов на некоторые показатели медиаторного обмена миокарда в условиях экспериментальной патологии // Бюллетень эксп. биол и мед. — 1972. — №12. — С. 52–54.
 14. Французова С.Б. Ингибиторы биосинтеза катехоламинов // Фармакология и токсикология. — 1973. — №5. — С. 624–628.
 15. Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M. Nanotechnological application in medicine // Curr. Opin. Biotechnol. — 2007. — Vol. 18, №1. — P. 26–30.
 16. Medina C., Santos-Martinez M.J., Radomski A. et al. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance // Br. J. Pharmacol. — 2007. — Vol. 150. — P. 552–558.
 17. Popelier P.L., Smith P.J. QSAR models based on quantum topological molecular similarity // Eur. J. Med. Chem. — 2006. — Vol. 41, № 5. — P. 862–873.
 18. Yong D.C. Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real-world problems. — New-York: Wiley J.& Sons, Inc., 2001. — 370 p.

UDK.615.015`54.182.024(02):577.33

І. С. Чекман, С. Б. Французова

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

ІСТОРИЧНІ ЕТАПИ РОЗВИТКУ ФАРМАКОЛОГІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ (ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ)

В статті узагальнені дані літератури та результати власних досліджень, що торкаються історичних етапів розвитку фармакологічної науки різних напрямків: феноменологічної (фізіологічної), біохімічної, молекулярної, фізико-хімічної, квантової, а також нанофармакології. Звернуто увагу, що молекулярні механізми первинної фармакологічної реакції лікарських засобів остаточно не встановлені і залишаються предметом інтенсивних досліджень науковців різних спеціальностей.

Исторические этапы развития фармакологии: достижения, перспективы исследований (взгляд на проблему) И.С. Чекман, С.Б. Французова Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

UDC.615.015`54.182.024(02):577.33

I. S. Chekman, S. B. Frantsuzova

A. A. Bogomoletz National medical university

A. A. Bogomoletz Institute of physiology, National Academy of Sciences of Ukraine

HISTORICAL PERIODS OF PHARMACOLOGY DEVELOPMENT: ACHIEVEMENTS, PERSPECTIVES OF INVESTIGATIONS (OUTLOOK ON THE PROBLEM)

The paper generalized the data of literature and the results of own investigations concerning historical periods of pharmacological science development: phenomenological (physiological), biochemical, molecular, physic-chemical, quantum pharmacology, and also nanopharmacology. The attention was drawn to the fact that molecular mechanisms of primary pharmacological drug reactions are not fixed yet and are the subject of intensive investigations of scientists of different specialties.

Адреса для листування:

04114, м. Київ, вул. Ежена Пот'є, 14

Надійшла до редакції:

25.06.2013 р.

UDK 615.31:547.857.4`572.3/6`211.024:615-222

О. С. Шкода, М. В. Дячков, К. В. Александрова, І. Ф. Бєленгєв

Запорізький державний медичний університет

ПОШУК МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧИХ БАР СЕРЕД БЕНЗІЛІДЕНГІДРАЗІДІВ 3-БЕНЗИЛКСАНТИНІЛ-8-МЕТИЛТІОАЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ.

В статті представлені результати досліджень антиоксидантної активності бензіліденгідразидів 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти з використанням in vitro методу шляхом неферментативного ініціювання вільнорадикального ліпоперекиснення, визначені певні закономірності «структура — біологічна дія» та встановлений ймовірний механізм антиоксидантної дії.

Ключові слова: похідні 3-бензилксантину, АОА, ПОЛ.

ВСТУП

Сучасна медицина розглядає біологічну мембрану не тільки як оболонку, що огорожує клітину від навколишнього середовища, але і як один з найактивніших учасників метаболічного процесу [9]. Біологічна мембрана забезпечує транспорт речовин, виконує каталітичну та регуляторну функції, приймає безпосередню участь в енергопродукції [2]. Згідно з уявленнями інтегративної медицини біологічна мембрана забезпечує біологічну цілісність організму [8].

Порушення структури і як наслідок дисбаланс в мембранних функціях викликають патологічні зміни в тканинах і органах і призводять до відповідних органічних патологій. Одними з найбільш деструктивних факторів, що впливають на біомембрані є активні метаболіти кисню (АМК). Безпосередньо шкідлива дія АМК впливає на найважливіші компоненти біомембран — ліпіди і призводить до перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [11].

Таким чином, органопротекція, реалізована через мембраностабілізуючу дію антиоксидантних лікарських препаратів, що пригнічують ПОЛ, є однією з актуальних проблем медицини.

Враховуючі те, що антиоксидантна дія 3-метилксантинів достатньо висвітлена в літературі [4;5;6], метою нашого дослідження став пошук антиоксидантів в ряді отриманих нами раніше нових бензіліденгідразидів 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти [7].

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Антиоксидантну активність (АОА) визначали з використанням in vitro-методу шляхом не-

ферментативного ініціювання вільнорадикального ліпоперекиснення [1, 10].

В якості субстрату використовували суспензію яєчних ліпопротеїнів. Робоча кількість ліпопротеїнів, приготованих із розрахунку: ліпопротеїни: 0,15 М КСІ=1:1, розводять в 10 раз 0,04 М фосфатним буфером до рН=7,4. До 4 мл суспензії додавали 1 мл розчину речовини, що досліджується (в концентраціях 10⁻³, 10⁻⁵ та 10⁻⁷ моль/л) в об'ємі 0,5 мл та 1,0 мл 0,025 М розчину FeSO₄·7H₂O (розчин готують ex tempore; ферум (II) сульфат повинен бути свіжокристалізованим зі спирту). Суміш інкубували 30 хв при температурі 37°C. Реакцію зупиняли розчином 0,5 мл 20 % трихлороцтової кислоти (ТХО), що містить 250 мг/100 мл трилону Б для зв'язування іонів феруму (II) та зупинки ВРО. Після центрифугування при 2000 об/хв протягом 15 хв відбирали надосадкову рідину, вносили у пробірку з 1 мл 0,8 % тіобарбітурової кислоти та розміщували на 30 хв на киплячій водяній бані. Після охолодження забарвлений комплекс виділяли додаванням до проби 4 мл бутанолу-1, струшували та центрифугували 15 хв при 2000 об/хв. Ретельно відбирали верхній шар дозатором та спектрофотометрично при λ = 532 нм проти бутанолу-1 визначали оптичну щільність. В якості етанолу порівняння використовували дибунол. Результати дослідження АОА наведені в таблиці 1.

Розрахунок квантово-механічних енергетичних дескрипторів граничних молекулярних орбіталей: (E_{ВМО}) — енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі та E_{НМО} — енергія нищої вакантної молекулярної орбіталі для синтезованих сполук був проведений в програмному комплексі WinMorac (ver 7.2, дескриптори —

НOMOEnergy, LUMOEnergy, напівемпіричний метод AM1, з параметрами: Calculation = SinglePoint, WaveFunction = ClosedShell (RHF) [13].

Показник ліпофільності (LogP) був розрахований в програмному комплексі ChemAxon (chemicalize.org) [12].

Результати дослідження оброблені сучасними методами аналізу [3] з використанням стандартного пакету програм Microsoft Office 2007 (Microsoft Excel) та «STATISTICA for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Достовірність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Використовували рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень — $p < 0,05$

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

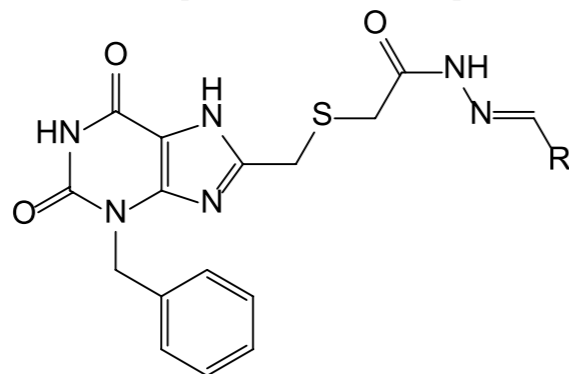
Як видно із даних, наведений в таблиці 1, досліджувані бензіліденгідразиди 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти вияв-

ляють антиоксидантну активність в концентраціях 10^{-3} моль/л, 10^{-5} моль/л та 10^{-7} моль/л, за винятком сполуки А-77, яка в концентрації 10^{-7} моль/л виявляє слабкі прооксидантні властивості. Серед вивчаємих сполук в концентрації 10^{-3} моль/л найбільш активною виявилась сполука А-90 (п-метоксибенілметиліденгідрозид 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти), АOA становить 67,71%, що вище за АOA референс-препарату дибунолу на 54,31%. Слід зазначити, що в концентрації 10^{-3} моль/л всі сполуки без винятку виявляють високий антиоксидантний ефект, що перевищує еталонний препарат.

При зміні концентрації до 10^{-5} моль/л АOA сполук дещо зменшується і тільки три з них мають показники АOA дещо вищі за дибунол. Це сполуки А-74, А-102 та А-103, які містять в складі ариліденового фрагменту молекули електроноакцепторні замісники.

Таблиця 1

Антиоксидантна активність досліджуваних речовин *in vitro* (n = 5) при ініціації вільнорадикального ліпоперекиснення



Сполука	R	10^{-3} моль/л		10^{-5} моль/л		10^{-7} моль/л	
		МДА, мкмоль/л	АОА, %	МДА, мкмоль/л	АОА, %	МДА, мкмоль/л	АОА, %
А-74	m-нітрофеніл	0,13 ± 0,002*	53,82	0,19 ± 0,002*	32,99	0,24 ± 0,004*	16,32
А-77	p-гідроксифеніл	0,11 ± 0,003*	61,11	0,22 ± 0,006*	22,22	0,30 ± 0,003*	-4,86
А-90	p-метоксифеніл	0,09 ± 0,003*	67,71	0,21 ± 0,001*	26,74	0,23 ± 0,002*	20,49
А-93	феніл	0,15 ± 0,004*	47,92	0,26 ± 0,006*	8,68	0,24 ± 0,002*	15,28
А-102	p-бромофеніл	0,17 ± 0,003*	39,93	0,20 ± 0,004*	28,82	0,2 ± 0,001*	30,56
А-103	p-хлорофеніл	0,13 ± 0,005*	55,56	0,20 ± 0,002*	29,17	0,20 ± 0,001*	31,94
А-110	p-толіл	0,12 ± 0,005*	59,37	0,21 ± 0,001*	25,35	0,20 ± 0,003*	30,90
Інтакт		0,08±0,001	—	0,08±0,001	—	0,08±0,001*	—
Контроль		0,29 ± 0,003					
Дибунол		0,22±0,033	13,4	0,185±0,02	27,1	0,199±0,018	21,6

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Для сполук А-102 та А-103 ця тенденція зберігається і в концентрації 10^{-7} моль/л. АOA сполуки А-74 знижується.

Аналіз хімічної структури бензіліденгідразидів 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти та характеру АOA дії дозволяє зробити припущення, що досліджувані сполуки за механізмом дії можна віднести до «скавенджерів» вільних радикалів або «спінових пасток». В якості обґрунтування даної гіпотези нами був проведений кореляційний аналіз між квантово-механічними енергетичними та молекулярними дескрипторами сполук і АOA, що вони виявляють (табл. 2).

Як видно з даних таблиці 2 енергетичні параметри E_{HOMO} — енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі (дескриптор НOMO_{Energy}) та E_{LUMO} — енергія вакантної молекулярної орбіталі (дескриптор LUMO_{Energy}) з найбільшим ступенем впливають на значення АOA. При цьому, як для параметра E_{HOMO} так й для параметра E_{LUMO}

найбільший коефіцієнт зворотної кореляції розрахований для концентрації 10^{-5} моль/л та становить відповідно $R = -0,7743$ та $R = -0,7786$. Це можна пояснити наявністю в структурі досліджуваних молекул атому Сульфуру, який при утворенні інтермедіатів з вільними радикалами може виступати в якості донору або акцептору електронів.

Слабка кореляційна залежність між квантово-хімічними енергетичними дескрипторами та АOA в концентрації 10^{-3} моль/л та 10^{-7} моль/л свідчить, що в більшій концентрації досліджувані сполуки можуть переважно виступати в якості донорів електронів, а в низькій — акцепторів.

Також нами був досліджений взаємозв'язок дескриптора LogP, який характеризує здатність сполуки розчинятися в ліпідному бішарі мембран та показника АOA (табл. 2). В цьому випадку найбільша залежність спостерігається в концентрації 10^{-7} моль/л, оскільки коефіцієнт кореляції в даному випадку становив $R = 0,7538$.

Таблиця 2

КВАНТОВО-МЕХАНІЧНІ ЕНЕРГЕТИЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ ДЕСКРИПТОРИ ДОСЛІДЖУВАНИХ РЕЧОВИН

Сполука	E_{HOMO} , eV	E_{LUMO} , eV	LogP
А-74	-1,12526	-9,16944	2,1
А-77	-0,9165	-9,13519	2,33
А-90	-0,82139	-9,11464	2,58
А-93	-0,70536	-9,07008	2,36
А-102	-0,99654	-9,19113	3,23
А-103	-0,98053	-9,18782	3,08
А-110	-0,75239	-9,09709	2,86

ВИСНОВКИ

В результаті проведених *in vitro* досліджень АOA шляхом неферментативного ініціювання вільнорадикального ліпоперекиснення було встановлено, що бензіліденгідразиди 3-бензилксантиніл-8-метилтіоацетатної кислоти виявляють виражену антиоксидантну активність, показники якої корелюються з квантово-механічними енергетичними та молекулярними дескрипторами. Проведене дослідження свідчить, що досліджувані сполуки можуть бути віднесені до групи скавенджерів або «спінових пасток» з вираженою мембраностабілізуючою дією.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Ванін А. Ф. Динитрозольные комплексы железа и S-нитротиолы — две возможные формы стабилизации и транспорта оксида

азота в биосистемах / А. Ф. Ванін // Биохимия. — 1998. — Т. 63, Вып.7. — С. 924-938.
 2. Д. Г. Дерябин. Функциональная морфология клетки. — М.: КДУ, 2005.
 3. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика : Учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. — 2-е изд. — СПб. : ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2006. — 432 с.
 4. Патент України 38583 МПК C07D473/00 (8-N-бензиламінотеофілініл-7)ацетатної кислоти (1-фенілетиліден) гідрозид який виявляє антиоксидантну дію / Юрченко Д. М., Беленічев І. Ф., Александрова К. В., Романенко М. І., Бухтіярова Н. В. (Україна). — № u201114381; Заяв. 05.12.11 ; Опубл. 10.07.12. Бюл. № 13.
 5. Патент України 38873 МПК C07D473/00 8-N-(фурил-2)метиламіно-p-хлоробензил-

- теобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Іванченко Д. Г., Романенко М. І., Самура Б. А., Крісанова Н. В. (Україна). — № u200809552; Заяв. 21.07.08; Опубл. 26.01.09. Бюл. № 2.
6. Патент України 71209 МПК C07D473/00 (3-метил-7-п-хлорбензил-8-п-хлорбензилліденгідразиноксантин, який виявляє антиоксидантну дію / Романенко М. І., Євсєєва Л. В., Крісанова Н. В. (Україна). — № u200809550; Заяв. 21.07.08; Опубл. 12.01.09. Бюл. № 1.
7. Синтез і фізико-хімічні властивості гідразидів та іліденгідразидів 3-арил(аралкіл)ксантиніл-8)метилтіоацетатних кислот / М. В. Дячков, О. С. Шкода, К. В. Александрова [та ін.] // Запорізький медичний журнал. — Запоріжжя, 2012 — № 3 (72) — С. 53-57.
8. Шифрин Г.А. Краткий курс управления биостойчивостью организма/Г.А. Шифрин, А.Г. Шифрин. — 2009, 144 с.
9. Bruce Alberts, et al. *Molecular Biology Of The Cell*. — 5th ed. — New York: Garland Science, 2007
10. Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. et al. // *Free Radikal Biol. Med.* — 1991. — Vol. 11, N12. — P. 161- 165.
11. Halliwell B. *Free Radicals in Biology and Medicine* / B. Halliwell, J. M. Gutteridze. — Clarendon Press, Oxford, 2007. — Ed 4. — 704 p.
12. <http://www.chemicalize.org>.
13. <http://www.psu.ru/science/soft/winmopac/index.html>.

UDC: 615.31:547.857.4'572.3/.6'211.024:615-222

А. С. Шкода, М. В. Дячков, Е. В. Александрова, И. Ф. Беленичев
Запорожский государственный медицинский университет

ПОИСК МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩИХ БАВ СРЕДИ БЕНЗИЛИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ 3-БЕНЗИЛКСАНТИНИЛ-8-МЕТИЛТИОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ.

В статье представлены результаты исследований антиоксидантной активности бензилденгидразидов 3-бензилксантинил-8-метилтиоуксусной кислоты с использованием *in vitro* метода путем неферментативной инициации свободнорадикального липоперекисления, установлены определенные закономерности «структура — биологическое действие» и установлен вероятный механизм антиоксидантного действия.

Ключевые слова: производные 3-бензилксантина, АОА, ПОЛ.

UDC: 615.31:547.857.4'572.3/.6'211.024:615-222

A. S. Shkoda, M. V. Dyachkov, E. V. Aleksandrova, I. F. Belenichev
Zaporizhzhya state medical university

SEARCH BAC STABILIZATORS OF MEMBRANES AMONG BENZYLILIDENHYDRAZIDE 3-BENZYL- XANTHINYL- 8 — THIOACETIC ACID.

In the article the results of researches of antioxidant activity of benzylilidenhydrazide 3- benzylxanthinil- 8 — thioacetic acid re presented with the use of *in vitro* of method by notenzymic initiation of free-radical lipooveroxidation, certain conformities to law are set a “structure is a biological action” and the credible mechanism of antioxidant action is set.

Key words: derivatives 3-benzylxanthines, antioxidant activity, peroxide oxidization of lipids.

Адреса для листування:

69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26

Надійшла до редакції:

25.06.2013 р.

УДК: 547.857.4.057.03/.04:543.422.27/.4:57.021

Д. Г. ІВАНЧЕНКО, М. І. РОМАНЕНКО, О. М. КАМИШНИЙ, Н. М. ПОЛЩУК
Запорізький державний університет

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 8-БЕНЗИЛІДЕНГІДРАЗИНО-1-ЕТИЛТЕОБРОМІНІВ

*Розроблені прості препаративні методи синтезу неописаних раніше в літературі 1-етил-8-бензиліденгідразинотеобромінів — потенційних біологічно активних сполук. Будова синтезованих сполук доведено даними елементного аналізу та ПМР-спектроскопії. За допомогою розрахованих молекулярних дескрипторів показано перспективність подальших досліджень *in vitro* та *in vivo* синтезованих речовин. Вивчено протимікробну, протигрибкову та антиоксидантну активність одержаних сполук.*

Ключові слова: теобромін, синтез, ПМР-спектроскопія, біологічна дія, протимікробна дія, протигрибкова дія, антиоксидантна активність.

ВСТУП

Сучасні антибіотики і синтетичні антимікробні препарати займають провідне місце в лікуванні бактеріальних інфекцій [1-3]. Незважаючи на високу вибірковість дії, антибіотики викликають ряд побічних ефектів: алергічні реакції, суперінфекції (дисбактеріоз, ослаблення імунітету) і токсичні явища (диспепсію, флебіти, порушення функції печінки і нирок та ін) [4-6]. Слід зазначити, що в останні роки значно зросла частота грибкових захворювань. Це пов'язано з різким збільшенням числа факторів ризику розвитку мікозів (активна антибіотикотерапія, проведення реанімаційних заходів, використання глюкокортикоїдних і імуносупресивних препаратів та ін.).

На сьогоднішній день досить актуальною є проблема перекисного окислення ліпідів. Даний процес є складовою частиною оксидативного стресу, який лежить в основі різноманітних хвороб серцево-судинної системи. Слід зазначити, що оксидативний стрес викликає не тільки ковалентну модифікацію ліпідів, а й білків, нуклеотидів, вітамінів та ін.

Виходячи з вищевказаного, розробка сучасних фармакологічних препаратів з протимікробною, протигрибковою, антиоксидантною дією є актуальним і перспективним напрямком сучасної фармацевтичної науки.

Раніше нами була показана перспективність пошуку антиоксидантів серед похідних теоброміну [7-11].

Метою даної роботи є розробка простих лабораторних методів синтезу неописаних в літера-

турі 1-етил-8-бензиліденгідразинотеобромінів та вивчення їх протимікробної, протигрибкової та антиоксидантної дії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконано на приладі Elementar Vario L cube, ПМР-спектри були зняті на спектрометрі Bruker SF-400 (робоча частота 400 МГц, розчинник ДМСО-d6 або ДМСО-d6 + CDCl₃, внутрішній стандарт — ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Аналітичні дані синтезованих сполук наведено в таблицях 1, 2.

Молекулярні дескриптори розраховували за допомогою комп'ютерних програм ALOGPS та DRAGON. Біологічні властивості синтезованих сполук розраховувались за допомогою GUSAR та ACD/Percepta Platform.

Синтез 8-гідразино-1-етилтеоброміну (2). Суміш 2,87 г (0,01 моль) 8-бромо-1-етилтеоброміну (1) [12], 5 мл (0,1 моль) гідразину гідрату, 40 мл Н₂О, 10 мл діоксану кип'ятять 1 годину, охолоджують. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, сушать. Кристалізують із водного діоксану.

Синтез 1-етил-8-п-метилбензиліденгідразинотеоброміну (3). Суміш 1,2 г (5 ммоль) 8-гідразино-1-етилтеоброміну (2), 1 мл (6 ммоль) *p*-метилбензальдегіду, 15 мл Н₂О, 30 мл етанолу, 5 крапель НСl кип'ятять 10 хвилин, охолоджують. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, пропанолом-2, естером, сушать.

Аналогічно отримують сполуки (4–7).

Для первинного скринінгового дослідження новосинтезованих речовин застосовано еталонні тест-культури як грам-позитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфологічними властивостями клінічно значущих груп збудників інфекційних захворювань. У якості набору стандартних тест-штамів взято *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Усі тест-штами отримано з баклабораторії ДУ «Запорізький обласний лабораторний Центр держсанепідслужби України». Чутливість мікроорганізмів до новосинтезованих перспективних протимікробних сполук визначали відповідно до методичних рекомендацій [13]. Під час досліджень готували ряд двократних серійних розведень препарату у бульйоні Мюллер-Хінтона в об'ємі 1 мл, після чого додавали у кожну пробірку по 0,1 мл мікробної завісі (106 КУО/мл).

Визначали мінімальні інгібуючу концентрацію (МІК). В якості розчинника сполук в дослідженнях використовували диметилсульфоксид, вихідні розчини доводили до концентрації 1 мг/мл. Додатково проведено контроль поживних середовищ і розчинника за допомогою загальноприйнятих методик.

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окиснення [14, 15].

Дані з біологічної дії похідних 8-амінозаміщених 1-бензилтеобромінів наведено в таблиці 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Взаємодією 8-бромо-1-етилтеоброміну (1) з гідразину гідратом був отриманий 8-гідразино-1-етилтеобромін (2), подальша взаємодія якого з відповідними ароматичними альдегідами, піридин-3-карбальдегідом в середовищі ізопропілового спирту в присутності каталітичної кількості хлоридної кислоти привела до утворення неописаних раніше в літературі 1-етил-8-бензиліденгідразинотеобромінів (3–7) (схема 1).

Будову синтезованих сполук однозначно доведено даними ПМР-спектроскопії (табл. 2). Так, у ПМР-спектрах одержаних сполук 3–7 реєструються сигнали етильного залишку у вигляді кватернів при 3,91–3,78 м.ч. з інтенсивністю 2 протонні одиниці (метиленові протони) та триплетів при 1,13–1,01 м.ч. з інтенсивністю 3 протонні одиниці (метильні протони). Наявність N⁷- та N³-метильних груп в молекулі ксантину підтверджується сигналами в ділянці 3,96–3,87

м.ч. та 3,41–3,28 м.ч. відповідно у вигляді інтенсивних синглетів. Протони гідразинового фрагменту зафіксовані в слабкому полі (11,97–11,31 м.ч.) у вигляді синглетів, а N=CH угруповання — у вигляді синглетів при 8,99–7,96 м.ч. Наявність ароматичного залишку в сполуках 3, 4 та 7 підтверджується наявністю двох дублетів з інтенсивністю у 2 протонні одиниці в ділянках 7,56–7,53 м.ч. та 7,40–7,21 м.ч. Розташування атому хлору в орто-положенні ароматичного замісника підтверджується синглетом при 7,94 м.ч. та мультиплетом в ділянці 7,45–7,34 м.ч. Форма, розташування та інтенсивність сигналів протонів залишків у положенні 8 повністю відповідає їх будові.

Попередньо були проведені розрахунки властивостей синтезованих сполук на відповідність «правилам п'яти» Ліпінські [16], адже сполуки з поганою проникністю вважаються малоперспективними. Було встановлено, що всі одержані сполуки відповідають вимогам «правил п'яти», тобто індекс Ліпінські для всіх речовин дорівнює 0 (табл. 4). Надалі був використаний фільтр Гхоша [17]. Як видно із наведених в таблиці 4 даних, значення полярної поверхні (*Polar Surface Area*) та молекулярної рефракції не перевищують 140 Å² та 130 м³/моль відповідно, а отже сполуки відповідають критеріям Гхоша.

Використання ACD/Percepta Platform дало змогу розрахувати абсорбційні характеристики, проникність через гематоенцефалічний бар'єр та встановити ймовірні транспортні форми крові синтезованих сполук. Так, передбачається, що синтезовані речовини стабільні при рН=2 та пасивно абсорбуються в тонкому кишечнику (табл. 5). Сполуки 3-6 ймовірно транспортуватимуться в комплексі з ліпопротеїнами плазми крові, а 1-етил-8-(піридин-3-іл)метиліденгідразинотеобромін (7) буде переважно зв'язуватись з кислими α₁-глікопротеїнами та альбумінами. Як видно із наведених в таблиці 5 даних, для всіх синтезованих сполук характерна гарна проникність через гематоенцефалічний бар'єр.

Надалі нами був розрахований показник гострої токсичності для щурів та мишей. За цим показником синтезовані речовини належать до IV класу токсичності (табл. 6).

Таким чином отримані дані показують доцільність подальших досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Дослідження *in vitro* показали, що всі сполуки (за винятком 1-етил-8-(піридин-3-іл)метиліденгідразинотеоброміну (7)) за показником АОА в концентрації 10⁻³ моль/л перевищують еталони порівняння (табл. 3). Найактивнішою сполукою

в зазначеній концентрації є 1-етил-8-*n*-метилбензиліденгідразинотеобромін (3). Заміщення метильного радикала в *para*-положенні бензиліденгідразинового фрагменту на ізопропіловий призводить до зниження АОА, а заміна на атом хлору — майже не змінює показник антиоксидантної дії відносно сполуки 4. Слід зазначити, що наявність атому хлору в молекулі 1-етил-8-*o*-хлорбензиліденгідразинотеоброміну (5) не викликає різкого зниження показника АОА і в концентрації 10⁻⁷ моль/л зазначена сполука активніша за аскорбінову кислоту на 14,1 %. Наявність розгалуженого радикала в структурі 1-етил-8-*n*-ізопропілбензиліденгідразинотеоброміну (4) призводить до різкого зниження антиоксидантної дії із зменшенням концентрації: різниця між показниками АОА в концентрації 10⁻³ моль/л та 10⁻⁷ моль/л складає 65,53 %.

Антиоксидантна активність 1-етил-8-(піридин-3-іл)метиліденгідразинотеоброміну (7) порівнянн з активністю аскорбінової кислоти (поступаючись 10,84 % та 7,22 % в концентраціях 10⁻³ моль/л та 10⁻⁷ моль/л відповідно).

Таким чином серед перспективних антиоксидантів можна виділити сполуки 3, 4 та 7.

У ході первинного скринінгового дослідження протимікробної активності 8-бензиліденгідразинопохідних відносно референтних штамів мікроорганізмів і грибів роду *Candida* встановлено, що серед досліджених речовин найбільш активною виявилась сполука 3. 1-Етил-8-*n*-метилбензиліденгідразинотеобромін (3) виявив високу протимікробну активність до *Staphylococcus aureus* і за цим показником наближається до ампіциліну. Високу протигрибкову активність до тест-штаму *Candida albicans* виявили 1-етил-8-*n*-ізопропілбензиліденгідразинотеобромін та сполука 3, активність яких прирівнюється до ністатину.

Для остаточних висновків необхідно провести додаткові дослідження. Робота в даному напрямку триває.

ВИСНОВКИ

Розроблено доступні лабораторні методи синтезу 1-етил-8-бензиліденгідразинотеобромінів, будова яких доведена даними елементного аналізу, ПМР-спектроскопії.

Були використані методи молекулярного моделювання для прогнозування властивостей одержаних речовин.

Вивчено протимікробну, протигрибкову та антиоксидантну дію синтезованих сполук, встановлені пріоритети для подальшого пошуку біологічно активних сполук.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хуснутдиева Л.М. Межбактериальные взаимодействия // Журн. микробиол. — 2003. — №4. — С.3–8.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Издательство Новая волна», 2005. — 1200 с.
3. Крюков А.И., Туровский А.Б. Этиотропная терапия бактериального синусита // Consilium medicum: пульмонология (прилож.). — 2005. — Т. 7, № 1. — С. 7-10.
4. Pallasch T.J. Global antibiotic resistance and its impact on the dental community. Medscape Newsletters // J. N. J. Dent. Assoc. — 2000. — Vol. 71, № 2. — P. 14–15.
5. Kish M.A. Guide to development of practice guidelines // Clin. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 32. — P. 851–854.
6. Health care Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing health-care associated pneumonia, 2003: recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee / O.C. Tablan, L.J. Anderson, R. Besser et al. // MMWR Recomm. Rep. — 2004. — Vol. 53, № 3. — P. 1–36.
7. Пат. № 18713 Україна, МПК C07D 473/00. 1-п-Метилбензил-8-м-метоксибензиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко, Р. В. Жмурін, І. Ф. Беленічев — №u200605854 ; заявл. 29.05.06 ; опубл. 15.11.06 , Бюл. № 11 .
8. Пат. № 21412 Україна, МПК C07D 473/00. 1-п-Хлорбензил-8-(піридиніл-3)метиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, Р. В. Жмурін, І. Ф. Беленічев, Г. М. Милосердова — № u200610204 ; заявл. 25.09.06 ; опубл. 15.03.07, Бюл. № 3 .
9. Пат. № 38873 Україна, МПК C07D 473/00. 8-N-(фурил-2)метиламіно-1-п-хлорбензилтеобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, Б. А. Самура, Н. В. Крісанова — № u200809552 ; заявл. 21.07.08 ; опубл. 26.01.09 , Бюл. № 2 .
10. Синтез та вивчення антиоксидантної активності 8-*R*-аміно-1-бензилтеобромінів / Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, К. В. Александрова, Н. В. Крісанова, О. О. Мартинюк // Вісник фармації. — 2009. — № 1 (57). — С. 3-6.

ЗМІСТ

ТЕЗИ

11. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних ксантину. П. 1-п-хлоробензил-8-амінотеоброміни / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, А.В. Таран, В.І. Корнієнко // Актуальні питання фарм. і мед. науки та практики. — Запоріжжя. — 2012. — №2 (8). — С. 44-47.
12. Синтез та фізико-хімічні властивості 1,8-дизамічених теоброміну — потенційних біоактивних сполук / Д.Г. Іванченко, М.В. Назаренко, М.І. Романенко, О.О. Пахомова // Укр. хім. журн. — 2013. — Т.79, № 6. — С. 115–121.
13. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : Метод. реком. / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; . — К. : ДФЦ МОЗ України, 2004. — 38 с.
14. Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonic dialdehydes and 4-hydroxy-2-enaldehydes as indexes of lipid peroxidation, kits for use in said method and their preparation / D. Gerard-Monnier, I. Erdelmeir, J. Chaudiere, J. Yadan. — appl. №702197, date of patent Mar. 10, 1998.
15. Беленічев І. Ф. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах in vitro : Метод. реком. / І. Ф. Беленічев, Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, С. І. Коваленко. — К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. — 26 с.
16. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / Ch. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney // Adv. Drug Del. Rev. — 2001. — № 46. — P. 3-26.
17. Ghose A. K. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases / A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski // J. Comb. Chem. — 1999. — № 1. — P. 55-68.

УДК: 547.857.4.057.03/.04:543.422.27/.4:57.021

Д. Г. Іванченко, Н. І. Романенко, А. М. Камышний, Н. Н. Полищук

Запорожский государственный медицинский университет

СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 8-БЕНЗИЛЕНГИДРАЗИНО-1-ЭТИЛТЕОБРОМИНОВ

Разработаны простые препаративные методики синтеза неописанных ранее в литературе 8-бензилиденгидразино-1-этилтеоброминов — потенциальных биологически активных соединений. Строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа и ПМР-спектроскопии. С помощью рассчитанных молекулярных дескрипторов показана перспективность дальнейших исследований in vitro и in vivo синтезированных веществ. Изучены противомикробная, противогрибковая и антиоксидантная активности полученных соединений.

Ключевые слова: теобромин, синтез, ПМР-спектроскопия, биологическое действие, противомикробное действие, противогрибковое действие, антиоксидантная активность.

UDC: 547.857.4.057.03/.04:543.422.27/.4:57.021

D. G. Ivanchenko, M. I. Romanenko, A. M. Kamyshny, N. M. Polishchuk

Zaporizhzhya state medical university

SYNTHESIS, PHYSICAL-CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF 8-BENZYLIDENHYDRAZINO-1-ETHYLTHEOBROMINES

Simple preparative synthesis methods for previously undescribed 8-benzylidenhydrazino-1-ethyltheobromines — potential biologically active compounds have been developed. The structures of synthesized compounds have been proven by the data of elemental analysis and NMR-spectroscopy. Using the calculated molecular descriptors, the prospective viability of further studies in vitro and in vivo synthesized substances has been shown. The antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of the obtained compounds have been explored.

Key words: theobromine, synthesis, NMR-spectroscopy, biological action, antimicrobial action, antifungal action, antioxidant activity.

Адреса для листування:

69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26

Надійшла до редакції:

25.06.2013 р.

ЗВ'ЯЗОК BSM1-ARA1-TAQ1 ГАПЛИТИПВ ГЕНА VDR З ІНДЕКСОМ МАСИ ТІЛА У ХВОРИХ НА ШЕМИЧНИЙ ІНСУЛЬТ

О. В. Атаман, О. А. Обухова, В. В. Будко, В. Ю. Гарбузова 8

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ОКСАМОЇЛЬНИХ ПОХІДНИХ АМІНОЕТАНОВОЇ ТА АМІНОБУТАНОВОЇ КИСЛОТ

Н. І. Банна, В. М. Савченко 8

WINE YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE FOR GRAPE POMACE FERMENTATION AND ETHANOL PRODUCTION FOR PHARMACEUTICAL INDUSTRY

V. N. Bayraktar 9

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТА В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ОВУЛЯЦІЇ І ІМПЛАНТАЦІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ

Т. В. Блашків, Р. І. Ячній 11

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ НА ГЕНОМ КЛІТИН КУМУЛЮСНОГО ОТОЧЕННЯ ООЦИТІВ У МИШЕЙ

Т. Ю. Вознесенська, Т. М. Бризгіна, В. С. Сухіна, К. Г. Максимчук, Т. В. Блашків . . . 12

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕАКЦІЙ ОРГАНІЗМУ СТУДЕНТІВ ГРОМАДЯН КИТАЮ ПРИ ПОРУШЕННЯХ ПРОЦЕСУ АДАПТАЦІЇ

Е. О. Глазков 12

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ ВПЛИВУ АМІНОГУАНІДИНУ НА РОЗВИТОК СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

М. Р. Хара, Н. А. Головач 13

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ
ГЛУТАТІОНТРАНСФЕРАЗИ МІОКАРДА
ЩУРІВ ПРИ СТРЕСІ**

Є. Р. Грабовецька 14

**КЛІНІКО-БІОХІМІЧНА ОЦІНКА НОВОЇ
СТОМАТОЛОГІЧНОЇ НАСТОЙКИ У ПІДГОСТРОМУ
ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ
СТАН НИРОК У ЩУРІВ**

Л. І. Шульга, Л. В. Яковлева, С. А. Гращенкова, І. В. Стефанів 14

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ
ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЛЕЙКОЦИТАХ
КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ІНГІБІТОРІВ ПОЛІ
(АДР-РИБОЗО) ПОЛІМЕРАЗИ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТИ**

М. М. Гузик, К. О. Дякун, Л. В. Яніцька, Т. М. Кучмеровська 15

**СТАН ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ
СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ**

Н. В. Давидова, Н. П. Григор'єва, І. М. Яремій 16

**ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ
В СИСТЕМІ УПРАВЛІННЯ ДАНИМИ ПРИ КЛІНІЧНИХ
ВИПРОБУВАННЯХ**

К. Л. Ратушна, Н. С. Мазур, К. О. Зупанець, В. Є. Добрава 17

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТАБЛЕТОК
ИЗ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ НА МОДЕЛИ
ФОРМАЛИНОВОГО ВОСПАЛЕНИЯ**

Анас Фаттал, Н. В. Деркач, Л. Н. Малоштан 17

**ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ФЕРМЕНТУРІЇ ЩУРІВ
ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТУ «ФЛАРОСУКЦИН»
ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ОКСОНАТ-ІНДУКОВАНОЇ
ГІПЕРУРИКЕМІЇ**

І. А. Зупанець, Т. І. Єрмоленко, І. А. Отрішко 18

**ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ УРОЛІТІАЗУ
ТА СУЧАСНІ ПОДХОДИ ДО ЙОГО КОРЕКЦІЇ**

І. А. Зупанець, Т. С. Жулай, О. О. Андреева 19

**ПОШУК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК СЕРЕД
8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ 1-(2-ОКСОПРОПІЛ) ТЕОБРОМІНУ**

Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, Г. М. Романенко, Т. А. Шарапова 20

**ВПЛИВ ПОТЕНЦІЙНОГО ІНГІБІТОРУ 11-БЕТА-
ГІДРОКСИСТЕРОЇД-ДЕГІДРОГЕНАЗИ 1 ТИПУ
НА ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ У ЩУРІВ З
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ**

Н. Красова, О. Гладких, Ж. Лещенко, Т. Зубатюк, В. Ліпсон, В. Полторак 20

**ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ЕНДОГЕННИЙ БІОСИНТЕЗ
ПРОСТАГЛАНДИНІВ У НИРКАХ І ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ
IN VITRO**

О. В. Кузнецова 21

ВИВЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ КОМБІНОВАНИХ ПЕСАРІЇВ

Ю. В. Левачкова, Т. Г. Ярних, Л. М. Малоштан 22

**МУКОЗАЛЬНЫЕ ГЕЛИ — ЭФФЕКТИВНАЯ
ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА ПРИ СТОМАТОГЕННОЙ
ПАТОЛОГИИ**

А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. П. Ступак, Н. Л. Хлыстун,
Л. Н. Хромагина, И. А. Селиванская 23

**ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ СИНЕРГИЗМ
ФЛАВОНОИДА, ПРЕБИОТИКА И ЦИТРАТА КАЛЬЦИЯ**

А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко, О. Ю. Цисельская, 23

**ПОШУК СПОЛУК З АНТИРАДИКАЛЬНОЮ
АКТИВНІСТЮ СЕРЕД ПОХІДНИХ 3-АРИЛ (АРАЛКІЛ)-8-
МЕТИЛКСАНТИНІВ**

С. В. Левіч. 24

ВПЛИВ МЕТАНАНДАМІДУ НА ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО ХОЛЕСТЕРИНУ В АДРЕНОКОРТИКОЦИТАХ ЩУРІВ IN VITRO	
Н. І. Левчук, О. В. Калініченко	25
ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВЗАЄМОДІЇ ЛЮДИНИ ТА ДЕЛЬФІНА У ПРОЦЕДУРАХ ДЕЛЬФІНОТЕРАПІЇ	
Л. М. Лукіна, К. К. Горбачова	26
ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ІМІДАЗОЛІНВМІСНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ	
І. Г. Максимова	26
АКТИВНІСТЬ СИНТАЗ ОКСИДУ АЗОТУ В ТКАНИНІ ХРОНІЧНОГО ТИРЕОЇДИТУ	
Т. М. Мищуніна, О. В. Калініченко	27
КОРЕКЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ МЕЛАНІНОМ ЗА УМОВ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ	
К. С. Непорада, А. А. Сухомлин, Т. В. Берегова	28
СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «ЛІПІН»	
Л. Г. Нетюхайло, Т. А. Сухомлин	29
МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ АЦЕТОНЕМІЧНОГО СИНДРОМУ У ДІТЕЙ З ПАТОЛОГІЄЮ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ	
О. В. Ніколаєва, О. В. Бачуріна	29
ВЛИЯНИЕ ГИПЕРКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЫ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭКЗОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА.	
О. В. Николаева, М. В. Ковальцова, С. В. Татарко	30

ИБС-АССОЦИИРОВАННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ	
Н. А. Клименко, Е. А. Павлова	31
ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА МАССЫ ТЕЛА СЛЕПЫХ И СЛАБОВИДЯЩИХ ДЕТЕЙ СРЕДНЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА	
Н. Б. Пилькевич	31
BIOCHEMICAL PROPERTIES GREEN AND RED MACROPHYTE SPECIES FROM LITTORAL WATERS OF ESTUARY	
V. N. Bayraktar, L. A. Polukarova	32
БІОХІМІЧНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ АНТИЛІПОКСИГЕНАЗНОГО КОМПОНЕНТУ У МЕХАНІЗМІ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ МІГРЕПІНА	
Г. О. Сирова	33
ВПЛИВ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ НА ЖИВІ ОРГАНІЗМИ	
С. М. Смірнов, Г. А. Дубова, Ю. М. Дубова, Д. П. Татаренко	34
ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПОКАЗНИКІВ ЛЕПТИНУ І С-РЕАКТИВНОГО БІЛКУ У ВАГІТНИХ ЖІНОК З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ОЖИРІННЯ	
К.В. Тарасенко	34
СПОСІБ ПРЕПАРУВАННЯ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ	
Д. П. Татаренко, К. П. Харченко	35
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ МАЗЕЙ НА УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КРОВИ	
О. В. Ткачева, Л. В. Яковлева	35
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ НА ПЕРЕБІГ АЛЬТЕРАТИВНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ФУРАЗОЛІДОН-ІЗАДРИНОВОГО МІОКАРДИТУ	
К. М. Ткаченко	36

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ НА РОЗВИТОК НЕКРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ В СЕРЦІ	
М. Р. Хара, О. В. Шкумбатюк	37
ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА РОЗВИТОК НЕКРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ В СЕРЦІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ	
М. Р. Хара, З. С. Головецька	38
РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ЗДАТНОСТІ МЕЛАТОНІНУ РЕАЛІЗУВАТИ КАРДІОПРОТЕКТОРНІ ЕФЕКТИ	
М. Р. Хара, Л. І. Кучирка	38
СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ СТРЕСРЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ЗМІШАНОЇ СЛИНИ	
В. Ю. Цубер, Л. М. Тарасенко	39
ПОШУК АНТИАГРЕГАНТНИХ СПОЛУК СЕРЕД ПОХІДНИХ 7-В-ГІДРОКСИ-Г-(4'-ХЛОРОФЕНОКСИ) ПРОПІЛКСАНТИНУ	
О. Ю. Черчесова, І. М. Романенко, М. І. Романенко, І. М. Білай, А. О. Остапенко	39
ВЛИЯНИЕ НАТРИЯ НУКЛЕИНАТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ	
А. Н. Шевченко, Л. И. Коваленко	40
МЕХАНІЗМ ДІЇ ІНТЕРФЕРОНУ-А НА КУМУЛЮСНІ КЛІТИНИ ФОЛІКУЛІВ МИШЕЙ В УМОВАХ ІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ	
О. А. Шепель, С. А. Циганков, Янчій Р. І.	41
КАРДІОПРОТЕКТОРНА ДІЯ ОМЕГА-3 ПНЖК ПРИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОМУ УРАЖЕННІ СЕРЦЯ ТА ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ	
А. М. Шиш, А. С. Жуковська, О. О. Мойбенко	42
ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ІНТОКСИКОВАНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ	
І. М. Яремій, Н. В. Давидова, Н. П. Григор'єва	42

СПОСОБЫ ОПТИМИЗАЦИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА СОВРЕМЕННЫХ КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
С. В. Мисюрева, В. В. Прописнова, Н. С. Мазур	43
ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ АНТАЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ	
В. А. Мороз, Е. Ф. Гринцов, Т. С. Сахарова	44

СТАТТІ

ANTAGONISTIC EFFECT OF THE LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE CAMEL MILK ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN YOGHOURT MANUFACTURING	
Arezki Bitam, Belkis Abdessemed.	46
ДОСЛІДЖЕННЯ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ВПЛИВУ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН НЕЙРОНІВ НОВОГО ПОХІДНОГО КСАНТИНУ С-3 В УМОВАХ РОЗВИТКУ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ	
К. В. Александрова, Д. М. Юрченко, М. І. Романенко, Н. В. Крісанова, С. В. Левіч, О. С. Шкода, Л. В. Євсєєва, О. Б. Ма- коїд, Н. П. Рудько, Л. Є. Білоконь	54
ВПЛИВ 7, 8-ДИЗАМІЩЕНИХ-3-МЕТИЛКСАНТИНІВ НА ВІСЦЕРАЛЬНУ СТИМУЛЯЦІЮ ТА ПЕРЕБІГ ФЛОГОГЕННОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ	
М. Г. Бакуменко	59
ДОСЛІДЖЕННЯ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ 8-МОНОЗАМІЩЕНИХ 3-МЕТИЛКСАНТИНУ	
М. Г. Бакуменко	67
ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТУ КОРИ ОСИКИ	
Анас Фаттал, Л. М. Малоштан, Н. В. Деркач.	72

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ.

М.В. Дікал 77

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДАА. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко,
С. В. Заика, Э. Л. Торяник. 80**МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ ПРОТИПУХЛИННОГО АНТИБІОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПОХІДНИМИ ГЛЮКОЗАМІНУ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЯМИ**

І. А. Зупанець, К. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Е. Л. Торяник 87

ДОСЛІДЖЕННЯ JNK-КІНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ) БЕНЗАМІДІВС. М. Коваленко, С. В. Власов, О. В. Ткаченко, Л. В. Євсєєва,
А. Л. Загайко, О. А. Красильникова. 91**МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ**

П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, І. І. Герасимець, Н. І. Руснак, В. П. Пида 98

ВПЛИВ БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО НА ВМІСТ БІЛКІВ P53 ТА VCL-2 У МОНОНУКЛЕАРНИХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУМ. І. Лупак, О. П. Канюка, Г. Я. Клевета, Я. П. Чайка, М. І. Скибіцька,
Н. О. Сибірна. 104**ХАРАКТЕРИСТИКА ДІЇ ПОХІДНИХ (3-R-ОКСО-2H-[1,2,4]-ТРИАЗИНО-[2,3-С]-ХІАЗОЛІН-6-ІЛ) КАРБОНОВИХ КИСЛОТ НА ДИНАМІЧНУ ТА СТАТИЧНУ ВИТРИВАЛІСТЬ ЩУРІВ**О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван,
С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойнік 108**СТРУКТУРНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕАКЦІЇ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ І ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ**Д. В. Савіцька, С. А. Михальський, В. В. Білошицький,
Н. В. Скрипник, Т. Ю. Квітницька-Рижова. 112**ІСТОРИЧНІ ЕТАПИ РОЗВИТКУ ФАРМАКОЛОГІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ (ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ)**

І. С. Чекман, С. Б. Французова 119

ПОШУК МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧИХ БАР СЕРЕД БЕНЗИЛІДЕНГІДРАЗИДІВ 3-БЕНЗИЛКСАНТИНІЛ-8-МЕТИЛТІОАЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ

О. С. Шкода, М. В. Дячков, К. В. Александрова, І. Ф. Беленічев 123

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 8-БЕНЗИЛІДЕНГІДРАЗИНО-1-ЕТИЛТЕОБРОМІНІВ

Д. Г. Іванченко, М. І. Романенко, О. М. Камишний, Н. М. Поліщук 127

СОДЕРЖАНИЕ

ANTAGONISTIC EFFECT OF THE LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE CAMEL MILK ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN YOGHOURT MANUFACTURING
Arezki Bitam, Belkis Abdessemed 46

ИССЛЕДОВАНИЕ
МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ И ВЛИЯНИЯ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН НЕЙРОНОВ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА С-3 В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
Е. В. Александрова, Д. Н. Юрченко, Н. И. Романенко, Н. В. Крисанова, С. В. Левич, А. С. Шкода, Л. В. Евсеева, О. Б. Макоед, Н. П. Рудько, Л. Е. Белоконь..... 54

ВЛИЯНИЕ 7, 8-ДИЗАМЕЩЕННЫХ-3-МЕТИЛКСАНТИНОВ НА ВИСЦЕРАЛЬНУЮ СТИМУЛЯЦИЮ И ТЕЧЕНИЕ ФЛОГОГЕННОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ
М. Г. Бакуменко..... 59

ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ 8-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА
М. Г. Бакуменко..... 67

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ТАБЛЕТОК ИЗ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ
Анас Фаттал, Л. Н. Малоштан, Н. В. Деркач 72

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК КРЫС ПРИ УСЛОВИЯХ ТОКСИЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА КАДМИЯ
М. В. Дикал 77

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА
А. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко, С. В. Заика, Э. Л. Торьяник 80

CONTENTS

ANTAGONISTIC EFFECT OF THE LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE CAMEL MILK ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN YOGHOURT MANUFACTURING
Arezki Bitam, Belkis Abdessemed 46

THE INVESTIGATION OF NEW XANTHINE DERIVATIVE C-3 INFLUENCE ON ENERGY METABOLISM AND IT NEURONAL MEMBRANE PROTECTION UNDER GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA DEVELOPMENT
K. V. Alexandrova, D. M. Yurchenko, M. I. Romanenko, N. V. Krisanova, S. V. Levich, O. S. Shkoda, L. V. Yevseeva, O. B. Makoyid, N. P. Rudko, L. E. Bilokon 54

THE INFLUENCE OF 7, 8-DISUBSTITUTED-3-METHYL XANTHINE – AT THE VISCERAL STIMULATION AND THE FLOGOGENNY INFLAMMATORY REACTION
M. G. Bakumenko..... 59

THE INVESTIGATION OF ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF 8-MONO-SUBSTITUTED 3 – METHYLXANTHINE
M. G. Bakumenko..... 67

HEPATOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PILLS FROM THE ASPEN BARK EXTRACT
Anas Fattal, L. N. Maloshtan, N. V. Derkach 72

THE EFFECT OF MELATONIN ON THE FUNCTIONAL CONDITION OF THE RATS KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF A TOXIC ACTION OF CADMIUM CHLORIDE
M.V. Dikal..... 77

RESEARCH OF THE LIPOTROPIC ACTIVITY OF GRAPE SEEDS POLYPHENOLIC CONCENTRATE
A. L. Zagayko, O. A. Krasilnikova, A. B. Kravchenko, S. V. Zaika, E. L. Toryanik..... 80

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИБИОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛЮКОЗАМИНА И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ
И. А. Зупанец, Е. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Э. Л. Торьяник 87

ИССЛЕДОВАНИЯ JNK-КИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ N-(3-ЦИАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГИДРО-1-БЕНЗОТИЕНИЛ-2-ИЛ) БЕНЗАМИДА
С.Н. Коваленко, С.В. Власов, Е.В. Ткаченко, Л.В. Евсеева, А.Л. Загайко, О.А. Красильникова 91

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПОРАЖЕНИЯ НИТРИТОМ НАТРИЯ
П. Г. Лихацкий, Л. С. Фира, И.И. Герасимец, Н. И. Руснак, В. П. Пуда 98

ВЛИЯНИЕ БЕЗАЛКАЛОИДНОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ P53 И BCL-2 В МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА
М. И. Лупак, О. П. Канюка, Г. Я. Клевета, Я. П. Чайка, М. И. Скибицкая, Н. О. Сибирная 104

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ (3-R-ОКСО-2Н-[1,2,4]-ТРИАЗИНО-[2,3-С]-ХИНАЗОЛИН-6-ИЛ) КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ДИНАМИЧЕСКУЮ И СТАТИЧЕСКУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ КРЫС
Е. В. Почелова, Г. И. Степанюк, Н. Г. Черноиван, С. И. Коваленко, А. Ю. Воскобойник 108

СТРУКТУРНЫЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕАКЦИИ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ
Д. В. Савицкая, С. А. Михальский, В. В. Белошицкий, Н. В. Скрипник, Т. Ю. Квитницькая-Рыжова 112

PROSPECTS USE OF GLUCOSAMINE'S DERIVATIVES AND ITS COMPOSITIONS FOR CORRECTION OF TOXITY OF ANTICANCER THERAPY
I. A. Zupanets, K. V. Vetrova, T. S. Sakharova, E. L. Toryanik 87

RESEARCH JNK-N-KINASE ACTIVITY OF (3-CYANO-4,5,6,7-TETRAHYDRO-1-BENZOTHIENYL-2-YL) BENZAMIDE
S. N. Kovalenko, S. V. Vlasov, E. V. Tkachenko, L. V. Evseeva, A. L. Zagayko, O. A. Krasil'nikova..... 91

METHABOLIC ABNORMALITIES IN THE ORGANISM OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF SODIUM NITRITE DAMAGE
P. G. Lyhatskiy, L. S. Fira, I. I. Gerasymets, V. P. Puda, N. I. Rusnak 98

THE INFLUENCE OF ALKALOID-FREE FRACTION OF GALEGA OFFICINALIS EXTRACT ON THE P 53 AND BCL — 2 PROTEINS CONTENT OF RATS MONONUCLEAR LEUKOCYTES UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE
M. Lupak, O. Kanyuka, G. Kleveta, Ya. Chajka, M. Shybitska, N. Sybirna 104

CHARACTERISTIC ACTION DERIVATIVES (3-R-OXO-2H-[1,2,4]-TRIAZINE-[2,3-C]-QUINAZOLIN-6-YL) CARBOXYLIC ACID ON THE DYNAMIC AND STATIC ENDURANCE RATS
E. V. Pochelova, G. I. Stepanjuk, N. G. Chernoi van, S. I. Kovalenko, A. U. Voskobojnik..... 108

STRUCTURAL AND MORPHOMETRIC INDICATORS OF SENSOMOTOR CORTEX REACTION OF RATS OF DIFFERENT AGES AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND GENE THERAPY
D. V. Savitska, S. A. Mikhalsky1, V. V. Biloshytsky, N. V. Skrypnyk, T. Yu. Kvitnytska-Ryzhova1 112

ІСТОРИЧНІ ЕТАПИ РОЗВИТКУ ФАРМАКОЛОГІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ (ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ)	HISTORICAL PERIODS OF PHARMACOLOGY DEVELOPMENT: ACHIEVEMENTS, PERSPECTIVES OF INVESTIGATIONS (OUTLOOK ON THE PROBLEM)
<i>I. С. Чекман, С. В. Французова 119</i>	<i>I. S. Chekman, S. B. Frantsuzova 119</i>
ПОИСК МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮ- ЩИХ БАВ СРЕДИ БЕНЗИЛИДИДЕНГИ- ДРАЗИДОВ 3-БЕНЗИЛКСАНТИНИЛ-8- МЕТИЛТИОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ.	SEARCH BAC STABILIZATORS OF MEMBRANES AMONG BENZYLIDENHYDRAZIDE 3- BENZYL- XANTHINYL- 8 — THIOACETIC ACID.
<i>А. С. Шкода, М. В. Дьячков, Е. В. Александрова, И. Ф. Беленичев 123</i>	<i>A. S. Shkoda, M. V. Dyachkov, E. V. Aleksandrova, I. F. Belenichev 123</i>
СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 8-БЕНЗИЛЕДЕНГИДРАЗИНО-1- ЭТИЛТЕОБРОМИНОВ 121	SYNTHESIS, PHYSICAL-CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF 8-BENZYLIDENHYDRAZINO-1- ETHYLTHEOBROMINES
<i>Д. Г. Иванченко, Н. И. Романенко, А. М. Камышный, Н. Н. Полищук 127</i>	<i>D. G. Ivanchenko, M. I. Romanenko, A. M. Kamyshny, N. M. Polishchuk 127</i>

