ВИЯВЛЕННЯ І ВИВЧЕННЯ ЦИРКАДІАННОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПАЗИ IN VITRO

А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко, В.В.Чаусов

Національна фармацевтична академія України

Ключові слова: ліпаза; хронобіологія; циркадіанні ритми; ліпазотропна активність; циркадіанна активність

Вперше в експериментах, проведених in vitro, виявлені та описані параметри циркадіанної активності ізольованої ліпази рослинного походження (нігедази). Встановлені періодичні зміни активності ліпази протягом доби. Результати визначення циркадіанної активності ліпази утворювали складну криву з екстремумом максимальної дії від 17 до 21 години. Екстремум мінімальної дії спостерігається близько 8-9-ї години. Визначені параметри складної кривої періодичної активності ліпази. Виявлена циркадіанна активність ліпази може бути використана для правильного вибору оптимального часу прийому ліків з метою одержання найбільшого фармакологічного ефекту і може служити обгрунтуванням для одноразового добового прийому лікарських засобів, до складу яких входять рослинні ферментні групи ліпази.

Відомо, що організм представляє собою складну багаторівневу ієрархічну систему, функціональна діяльність якої підлягає певним біофізичним ритмам. В літературі описано більше 300 фізіологічних процесів в організмі людини, які змінюються в різному часовому ритмі: хвилинному, годинному, добовому, річному і т.д. [1, 9].

Історично склалося так, що в першу чергу були вивчені ритми моторної і секреторної діяльності різних відділів травного тракту. Перші достовірні дані в цій галузі були одержані в кінці минулого століття в лабораторії І.П.Павлова [8, 10, 11].

Для секреції підшлункової залози людини, яка спостерігається після прийому їжі, характерна ультрагодинна періодичність і фазовість. Незначна кількість робіт присвячена вивченню ритмічних коливань активності самих ферментів у живому організмі. Так, в експерименті in vivo була виявлена добова періодичність активності кислої фосфатази та інших гідролаз слизової оболонки шлунка у пацюків. Максимальна активність спостерігалась близько 24-ї і 18-ї годин, мінімальна — між 6-ю і 12-ю годинами [8].

Здійснюючи пошук біологічно активних речовин, які мають ліпазотропну активність — інгібуючу чи активуючу, ми помітили, що активність ізольованої ліпази рослинного походження (нігедази) [6] в контрольних дослідах може бути різною [2-5]. Причому показники активності у вечірні години значно перевищують аналогічні ранкові показники. Це і стало обгрунтуванням хронобіологічного вивчення ліпазної активності протягом доби.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження була вибрана ліпаза (нігедаза), одержана з чорнушки посівної (Nigella damascena L.).

Дослідження проводили в різні пори року, вимірюючи активність ліпази цілодобово через кожну годину. Дослід проводили один-два рази на місяць. У результаті вивчення було виявлено, що ізольованій ліпазі рослинного походження притаманна циркадіанна активність.

Методика визначення відносної активності (А відн.) ліпази детально описана нами раніше. Вона грунтується на здатності ліпази взаємодіяти з олією в поверхневому шарі на розподілі жир-вода. Тому збільшення реакційної поверхні ліпази в мономолекулярному шарі протягом певного часу характеризує її відносну активність [2-5]. Питому активність ліпази розраховували за формулою:

$$A\ (\text{пит., мм/хв.} \cdot \text{мг}) = A\ \text{відн.}/M,$$

де: M — маса ферменту в 1-й краплі;

$$M = C \cdot V = 1{,}4 \cdot 10^{-6}\ \text{мг/мл} \cdot 0{,}02\ \text{мл} = 28 \cdot 10^{-6}\ \text{мг},$$

де: C — концентрація ліпази, мг/мл; V — об'єм краплі ліпази, мл.

Результати та їх обговорення

Визначена питома активність ліпази протягом доби має різні значення з максимумом активності у вечірні години. Спосте-

А.М.Ковальова — к.ф.н., доцент кафедри фармакогнозії Національної фармацевтичної академії України (м. Харків)

Таблиця 1

Циркадіанна активність рослинної ліпази (n=6)

№ п/п	Час, год., хв.	Питома активність, мм/хв. · мг	Довірчий інтервал: верхня межа/нижня межа, мм/хв. · мг
1	0:00-0:20	2188,2	2519,19/1857,21
2	1:00-1:20	1589,8	2591,05/588,55
3	2:00-2:20	2171,8	3333,8/1009,8
4	3:00-3:20	1940,2	2661,59/1218,81
5	4:00-4:20	2082,8	2683,74/1481,86
6	5:00-5:20	2106,8	2857,66/1355,94
7	6:00-6:20	1876,2	2706,3/1046,11
8	7:00-7:20	1312,4	1806,97/817,83
9	8:00-8:20	720,4	915,64/525,16
10	9:00-9:20	861,8	1268,67/454,93
11	10:00-10:20	1202,8	1720,25/685,35
12	11:00-11:20	1746,2	2785,6/706,8
13	12:00-12:20	1664	3177,92/150,08
14	13:00-13:20	1099,4	1813,1/385,7
15	14:00-14:20	778,6	1283,38/273,82
16	15:00-15:20	1330,4	2461,79/199,01
17	16:00-16:20	1429,4	2312,32/546,48
18	17:00-17:20	3380,8	5888,9/872,71
19	18:00-18:20	7157	9502,29/4811,71
20	19:00-19:20	6435,2	8786,45/4083,96
21	20:00-20:20	4467	6312,53/2621,47
22	21:00-21:20	3447,6	5081,44/1813,76
23	22:00-22:20	2168,4	4548,81/1788
24	23:00-23:20	1790,4	2626,3/954,5

Примітка: $p<0,05$.

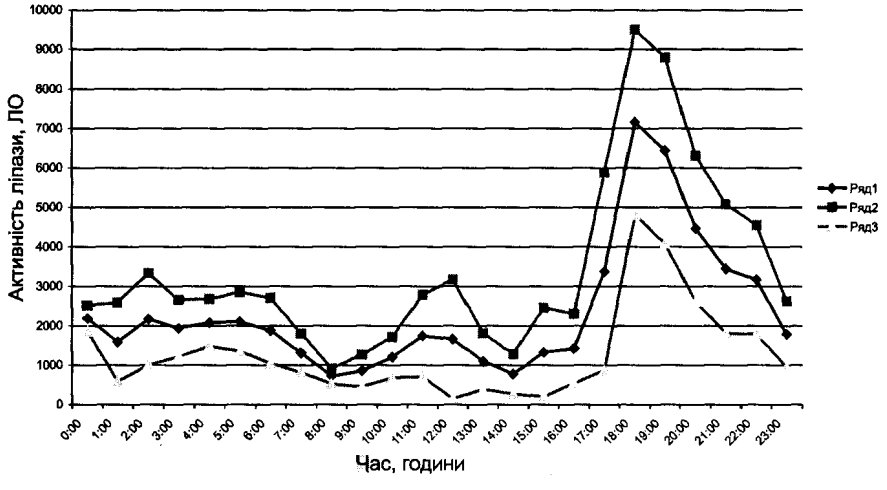

Рис. 1. Динаміка циркадіанної активності ліпази

рігається ритмічність зміни активності з періодом, тривалість якого становить добу. Значення середньостатистичної активності ліпази з довірчими інтервалами наведені в табл. 1.

Середньоквадратичне відхилення (хронодесм) для екстремумів мінімальної активності ліпази складає 106,13 ЛО, для екстремумів максимальної активності — 2439 ЛО (табл. 2). Коливання активності ліпази ми віднесли до класу релаксійних, тому що вони не описують просту синусоїду, а утворюють криву з декількома перегинами на підйомі і на спуску кривої (рис. 1).

Реальний хід циркадіанного функціювання ліпази кожної наступної доби не співпадає в деталях: змінюються всі параметри — період, ортофаза, парафаза, екстремуми максимальної і мінімальної активності, середня тенденція процесу тощо. Дані зміни зумовлені як випадковими, так і систематичними причинами. Перші належать до погрішностей при розрахуванні параметрів ритму. А систематичні залежать від багатьох об'єктивних причин: температури і вологості повітря, атмосферного тиску, а, можливо, від сезону року та ін. Вплив останніх є предметом нашого подальшого самостійного аналізу. Тому, виявлення ритму активності ліпази і оцінку його параметрів проводили, виходячи з припущення суворо рівнозначної періодичності.

Згідно з даними діаграми (рис. 2) спостерігається п'ять від'ємних екстремумів близько 1-ї, 3-ї, 8-ї, 14-ї і 23-х годин та шість додатніх екстремумів близько 0-ї, 2-ї, 11-ї, 15-ї, 18-ї та 22-х годин. Максимальна активність (екстремум y_{max}) ліпази спостерігається від 17-ї до 19-ї години. Екстремум мінімальної активності (y_{min}) спостерігається від 8-ї до 9-ї годин кожної доби. Ортофаза складного процесу (φ_{max}) відповідає 18-й годині, а парафаза (φ_{min}) — 8-й годині. Середня тенденція процесу або медіана статистичного розподілу спостерігається на рівні 2330 ЛО. Тривалість періоду між послідовними мезофазами складає 24 години.

З біологічної точки зору більший інтерес викликає час максимальної активності — ортофаза — з 17-ої по 19-ту годину доби.

Виявлена циркадіанна активність ліпази може служити для правильного підбору оптимального часу прийому ліків з метою одержання найбільшого фармакологічногоо ефекту. Вона може бути обгрунтуванням для одноразового прийому лікарських засобів, до складу яких входить рослинна ліпаза.

Таблиця 2

Мінімальна і максимальна циркадіанна активність ліпази

№ досліду і активність (A_i)	$A_i$min (y_{min}) (ЛО)	$A_i$max (y_{max}) (ЛО)
1.A_1	654	10720
2.A_2	388	7886
3.A_3	403	4870
4.A_4	403	4820
5.A_5	406	9740
6.A_6	450	7160
Середнє значення А	445,67	7532,67
Середньоквадратичне відхилення $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (A_i - A)}{n}}$	±106,13	±2439
Середньостатистичне значення	445,67±106,13	7532,67±2439

1-й ряд - середньостатистична динаміка активності.
2-й і 3-й ряди - динаміка активності в довірчих інтервалах.

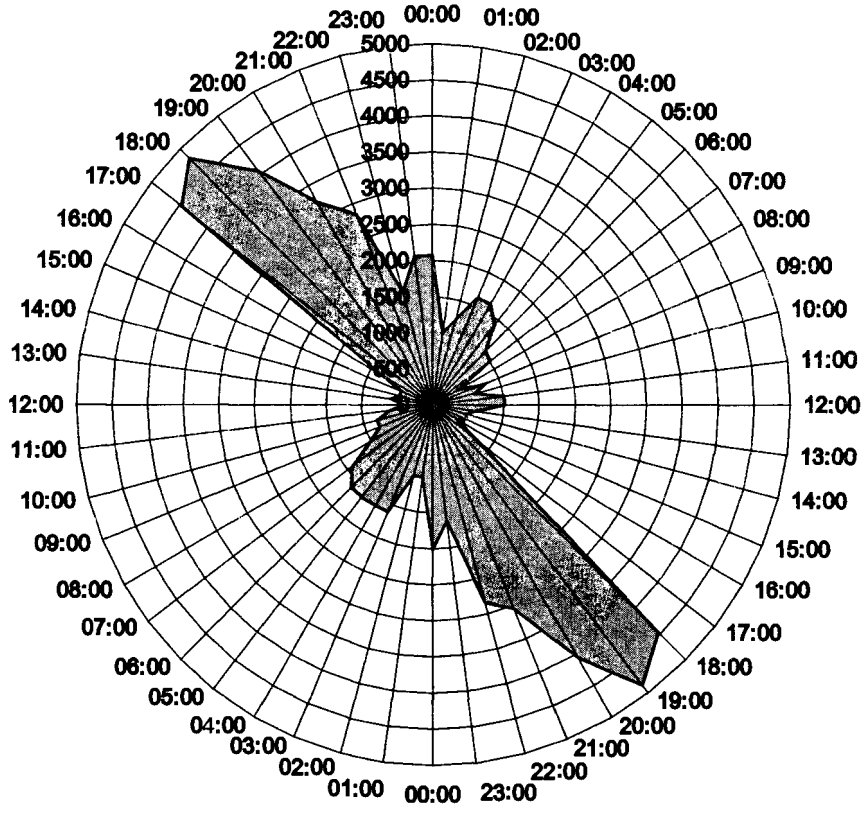

Рис. 2. Динаміка активності ліпази протягом двох діб (21.02-22.02.2000)

Фармакотерапія з урахуванням циркадіанної активності препаратів та систем організму з успіхом застосовується при лікуванні кортикостероїдами, при прийомі фізіотерапевтичних процедур, у терапії вегетосудинних розладів, бронхіальної астми, хронічної ІХС, гіпертонічної хвороби, захворювань [7, 8].

ВИСНОВКИ

1. Для ліпази рослинного походження виявлена циркадіанна активність in vitro: період ритмічної зміни діяльності ліпази складає 24 години.

2. Екстремум максимуму ліпазної активності спостерігається з 17-ї по

19-у годину; екстремум мінімальної активності спостерігається близько 8-9 години.

3. Виявлена закономірність може знайти застосування для визначення більш оптимального часу прийому ліків, які містять рослинні ферменти групи ліпази.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ашофф Ю. Биологические ритмы: Пер.с англ. — М., 1984. — Т. 1. — 414 с.; Т. 2. — 262 с.*
2. *Ковальова А.М. //Вісник фармації. — 1999. — °1. — С. 25-28.*
3. *Ковалева А.М. //Провизор. — 1999. — №5. — С.47-48.*
4. *Комиссаренко А.Н., Ковалева А.М., Ковалев С.В. //Провизор. — 1999. — №6. — С. 46-47.*
5. *Комісаренко А.М., Котов А.Г., Ковальова А.М. та ін. //ФАР. — 1999. — №1. — С. 47-48.*
6. *Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х т. — Т. 2. — 13-е изд. — Х.: Торсинг, 1997. — 592 с.*
7. *Оранский И.Е., Царфис П.Г. Биоритмология и хронотерапия (хронобиология и хронобальнеофизиотерапия). — М.: Высш. шк, 1989. — 159 с.*
8. *Хронобиология и хрономедицина / Под.ред. Ф.И.Комарова. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.*
9. *Aschoff J. Circadian systems //Pflugers Arch. — 1985. — Vol. 403. — Suppl. — P. 1.*
10. *Halberg F. //Chronobiologia. — 1983. — Vol. 10, №5. — P. 409-424.*
11. *Ultradian rythms in physiology and behaviour / Eds.H.Schulz, P.Lavie. — Berlin: Springer Verlag, 1985. — 326 S.*

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (0572) 45-00-86.
Національна фармацевтична
академія України

Надійшла до редакції 24.02.2000 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного науково-експертного центру лікарських засобів МОЗ України

Про побічну дію препарату **"Омез"** (табл. по 0,02 г) виробництва компанії "Dr. Reddy's Laboratories" (Індія)

У хворого на виразку 26 років шлунка після призначення в комплексній фармакотерапії (одночасно пацієнт отримував метронідазол, амоксицилін та де-нол) омезу перорально по 0,02 г один раз на добу на 3 день з'явився запор. Препарат не відміняли, корекцію дози не робили, лікування продовжували. Для усунення побічного явища призначали відповідну дієту, що привело до нормалізації випорожнення.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на лікарські засоби або хімічні речовини в минулому не відомі.

Інформація надійшла з Вінницького регіонального відділення ДНЕЦЛЗ МОЗ України.