

В. П. Пішак, Ю. Є. Роговий, О. Г. Ушенко, В. Г. Савка
**ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ
 GA-40 НА ІНТЕНСИВНІСТЬ, ЕЛІПТИЧНІСТЬ І ПОКАЗ-
 НИК ДВОПРОМЕНЕЗАЛОМЛЕННЯ КРИСТАЛІЧНОЇ
 РЕЧОВИНИ ПРИ КОРЕЛЯЦІЙНО-ОПТИЧНОМУ ДО-
 СЛІДЖЕННІ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-
 ІНТЕРСТИЦІЙНОГО СИНДРОМУ**

У дослідах на 36 білих нелінійних щурах-самцях ма-
 сою 0,16–0,18 кг встановлено, що застосування препарату
 GA-40 приводить до нормалізації характеристик інтен-
 сивності, еліптичності, показника двоприменезаломлення
 кристалічної речовини: середньої, дисперсії, асиметрії, екс-
 цесу — в кірковій, мозковій речовинах і сосочку нирок,
 що запобігає розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому
 на 30-ту добу сулемової нефропатії. Більш чутливи-
 ми критеріями для оцінки антинефросклеротичного впли-
 ву препарату GA-40 при тубуло-інтерстиційному синд-
 ромі за ступенем впливу на вміст кристалічної речовини
 як маркера колагену є асиметрія і ексцес, ніж середня і дис-
 персія.

Ключові слова: нирки, тубуло-інтерстиційний синд-
 ром, препарат GA-40, кореляційно-оптичне дослідження.

V. P. Pishak, Yu. Ye. Rohovyy, O. G. Ushenko, V. G. Savka
**PATHOPHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF THE INFLU-
 ENCE OF THE GA-40 AGENT ON THE INTENSITY, EL-
 LIPTICITY, AND BIREFRINGENCE INDEX OF A CRYST-
 ALLINE SUBSTANCE IN CASE OF A CORRELATING-
 OPTICAL STUDY OF THE KIDNEYS UNDER CONDI-
 TIONS OF THE DEVELOPMENT OF TUBULO-INTERSTI-
 TIAL SYNDROME**

In experiments on 36 albino nonlinear male rats, weigh-
 ing 0.16–0.18 kg it has been established that the use of the
 GA-40 medication results in a normalization of the charac-
 teristics of intensity, ellipticity, the birefringence index of a
 crystalline substance: median value, dispersion, asymmetry,
 excess in the cortical, medullary substance and renal papilla,
 preventing the development of tubulo-interstitial syn-
 drome on the 30th day of sublimate nephropathy. More sen-
 sitive criteria for an evaluation of the antinephrosclerotic
 effect of the GA-40 medication in case of tubulo-interstitial
 syndrome based on the degree of an influence on the con-
 tent of a crystalline substance as a marker of collagen, are
 asymmetry and excess than median value and dispersion.

Key words: kidneys, tubulo-interstitial syndrome, GA-40
 medication, correlating-optical investigation.

УДК 616-092.4:547.814.5-06

А. П. Левицький, *д-р біол. наук, проф., чл.-кор. УААН,*
 Л. М. Розсаханова, *канд. біол. наук*

ВПЛИВ БІОФЛАВАНІДІВ НА АКТИВНІСТЬ ФОСФОЛІПАЗ A_2 З ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ Й БДЖОЛИНОЇ ОТРУТИ

Інститут стоматології АМН України, Одеса

Фосфоліпаза A_2 (КФ 3.1.1.4) гідролізує складноєфірний зв'язок у положенні C_2 фосфогліцеридів з утворенням двох біологічно активних продуктів — арахідонової кислоти й лізофосфоліпідів [1–3]. Арахідонова кислота під впливом циклооксигенази і ліпоксигенази перетворюється в надзвичайно фізіологічно активні ейкозаноїди (простагландини, лейкотрієни й ін.), а лізофосфоліпіди впливають на судини, кардіоміоцити, нейтрофіли, злоскісні пухлини [4–6].

Аналіз численних даних літератури свідчить про те, що фосфоліпаза A_2 (ФЛА $_2$) відіграє центральну роль у

каскаді біохімічних реакцій, які розвиваються при виникненні патологічних станів у організмі [7; 8].

З позицій патогенетичної терапії, інгібування ФЛА $_2$ може бути вирішальним моментом у лікуванні й профілактиці багатьох захворювань [2]. У тих випадках, коли запалення розглядається як небажана відповідна реакція організму (при гіперреактивності) пригнічення запального процесу є бажаною акцією, яку можна розглядати як своєрідну адаптацію до дії патогенів.

Відомо, що найбільш універсальними адаптогенами багатопланової дії є біофлава-

ноїди (БФ) [9]. Одним із механізмів їхньої дії є інгібування ФЛА $_2$ [10].

Можливо, саме ця реакція біофлаванідів визначає, головним чином, їх протизапальну, ангіопротекторну й протиракову дію.

Враховуючи, що клас біофлаванідів нараховує більше 5 тис. сполук, які розрізняються за своєю будовою й фізико-хімічними властивостями [11], значний інтерес становить вивчення впливу на ФЛА $_2$ біофлаванідів різного походження й будови.

Метою цього дослідження стало вивчення впливу на активність ФЛА $_2$ з підшлункової

залози й бджолоїної отрути біофлаваноїдів кверцетину, геністеїну, геністеїн-софорикиози-ду, біофлаваноїдів розторопші.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використали ФЛА₂ з підшлункової залози свині ("Fluka", активність 500 од/мг) і ФЛА₂ із бджолоїної отрути (препарат ліофільно висушеної бджолоїної отрути, що містить 98 % білка (активність 151,3 од/мг), кверцетин (чда, «Макрохім»), геністеїн ("Sigma", Німеччина). Препарати геністеїну софорикиози-ду та біофлаваноїдів розторопші були люб'язно надані проф. В. І. Литвиненком (Харків, ДНЦЛЗ).

Активність ФЛА₂ визначали шляхом вимірювання зони просвітлення лецитин-агарозного гелю на чашках Петрі за методом Е. Habermann, К. L. Hardt, (1972) [12] у модифікації Н. М. Литвинко, М. А. Кисель (1991) [2]. Панкреатичну ФЛА₂ застосували в концентрації 0,45 мг/мл, ФЛА₂ бджолоїної отрути в концентрації 1 мг/мл.

Розчини біофлаваноїдів готували на дистильованій воді, препарати із софори й розторопші — на 10%-му диметилсульфоксиді з розрахунку 1 мг/мл.

Інгібування визначали шляхом внесення в лунку суміші 25 мкл розчину ФЛА₂ й 10 мкл розчину біофлаваноїду. Обчислення результатів проводили через 20 год інкубації при +50 °С шляхом вимірювання площі просвітлення.

Активність ФЛА₂ визначали таким способом. Спочатку вимірювали радіус зони просвітлення й радіус лунки. Потім за формулою $S = \pi \cdot R^2$ розраховували площу просвітлення (S_n):

$$S_n = \pi R_1^2 - \pi R_2^2,$$

де R_1 — радіус зони просвітлення; R_2 — радіус лунки (у наших дослідах дорівнює 2 мм).

Активність ФЛА₂ розраховували за формулою

$$A = \frac{S_n}{20 \cdot 60 \cdot 0,025} = \frac{S_n}{30},$$

де A — активність, мм²/(хв·мл) (од/мл); S_n — зона просвітлення, мм²; 20 — час інкубації, год; 60 — перерахування на хвилини; 0,025 — об'єм ферментного розчину, мл; 20 — час інкубації, год.

Інгібуючу активність (ІА) розраховували (Δ од/мг інгібітора) за формулою:

$$IA = \frac{(A_k - A_0) \cdot 0,025}{0,01 \cdot C},$$

де A_k — активність ФЛА₂ у контролі (без інгібітора); A_0 — активність ФЛА₂ у досліді (з інгібітором); 0,025 — об'єм розчину ФЛА₂, мл; 0,01 — об'єм розчину інгібітора, мл; C — концентрація інгібітора, мг/мл.

Другий варіант розрахунку ІА (мг ФЛА₂/мг інгібітора) здійснювали за формулою:

$$IA = \frac{(A_k - A_0) \cdot 0,025}{0,01 \cdot C \cdot PA},$$

де PA — питома активність використаного препарату ФЛА₂, од/мг білка.

Результати дослідження та їх обговорення

На рис. 1 показана фотографія однієї з чашок Петрі з результатами визначення активності ФЛА₂.

У табл. 1 наведені результати визначення активності ФЛА₂ з підшлункової залози й бджолоїної отрути. Питома активність препарату ФЛА₂ з підшлункової залози свині майже в 3 рази вища, ніж відповідний

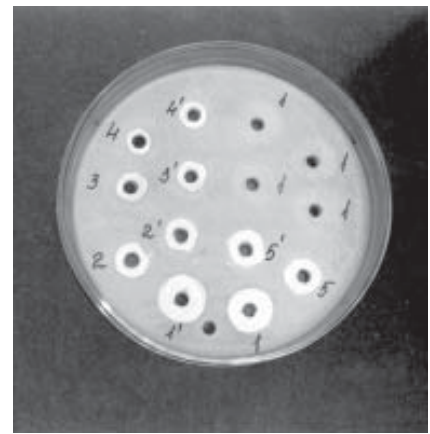


Рис. 1. Визначення активності ФЛА₂: 1 — ФЛА₂ із підшлункової залози; 2 — ФЛА₂ + геністеїн; 3 — ФЛА₂ + кверцетин; 4 — ФЛА₂ + софорикиозид; 5 — ФЛА₂ із бджолоїної отрути

показник для ФЛА₂ із бджолоїної отрути.

На рис. 2 показана залежність активності ФЛА₂ від концентрації ферменту. Видно, що в межах обраних концентрацій зберігається практично лінійний характер залежності активності від концентрації ферменту.

У табл. 2 наведені результати визначення інгібуючої дії деяких біофлаваноїдів на активність ФЛА₂ з підшлункової залози свині. Як видно з цих даних, усі досліджені БФ здатні гальмувати активність ферменту, причому найбільшою мірою — БФ розторопші. Приймаючи молекулярну масу ФЛА₂ за 14 тис. Да, а молекулярну масу БФ — за 380, було зроблено розрахунок молярного співвідношення. Видно, що для повного пригнічення активності ФЛА₂ необхідно 10 молекул геністеїну або кверцетину й 5–6 молекул БФ із софори.

Таблиця 1

Активність ФЛА₂ підшлункової залози й бджолоїної отрути (1 од = Δ мм²/хв)

ФЛА ₂	Конц., мг/мл	Активність		Питома активність од/мг білка
		од/мл	од/мг	
Підшлункова залоза	0,45	4,48±0,27	9,95±0,61	11,06
Підшлункова залоза	0,226	2,28±0,15	10,13±0,08	11,26
Бджолоїна отрута	1,5	5,42	3,61	4,01
Бджолоїна отрута	1,0	3,20	3,20	3,55
Бджолоїна отрута	0,5	1,70	3,40	3,78

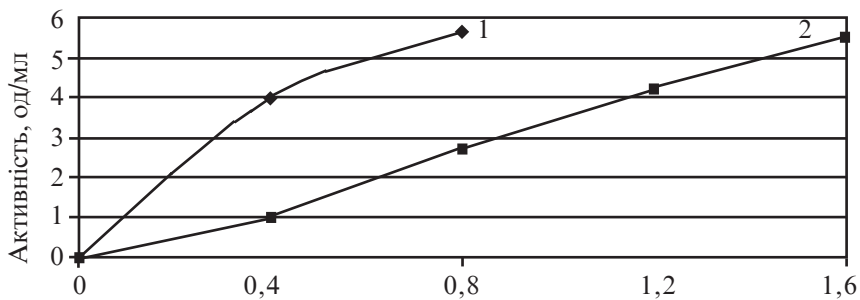


Рис. 2. Залежність активності ФЛА₂ від концентрації ферменту: 1 — ФЛА₂ із підшлункової залози; 2 — ФЛА₂ із бджолиної отрути

Вплив біофлаваноїдів на активність ФЛА₂ з підшлункової залози свині

Таблиця 2

Біофлаваноїди	Активність ФЛА ₂ , од/мл	Інгібуюча активність		Молярне співвідношення
		од/мг БФ	мг ФЛА ₂ /мг БФ	
Відсутні	4,48±0,27	0	0	—
Геністеїн	2,96±0,44 P<0,05	3,80	0,35	1:10
Кверцетин	2,82±0,68 P<0,05	4,15	0,38	1:10
Софорикозид геністеїну	2,07±0,47 P<0,001	6,03	0,55	1:6
Біофлаваноїди розторопші	1,78±0,55 P<0,001	6,75	0,61	1:5

Таблиця 3

Вплив біофлаваноїдів на активність ФЛА₂ з бджолиної отрути

Біофлаваноїди	Активність ФЛА ₂ , од/мл	Інгібуюча активність		Молярне співвідношення ФЛА ₂ /БФ
		од/мг БФ	мг ФЛА ₂ /мг БФ	
Відсутні	5,42	0	0	—
Геністеїн	4,00	3,55	0,93	1:4
Кверцетин	4,00	3,55	0,93	1:4
Софорикозид геністеїну	3,35	5,1	1,34	1:2
Біофлаваноїди розторопші	3,35	5,1	1,34	1:2

У табл. 3 наведені аналогічні дані інгібування ФЛА₂ із бджолиної отрути. У цьому випадку всі досліджувані препарати БФ спричинили інгібуючу дію на фермент, причому, як й у випадку із ФЛА₂ з підшлункової залози, більшою мірою інгібували активність БФ із софори та розторопші. Молярне співвідношення, з огляду на недостатній ступінь очищення препарату ФЛА₂ із бджолиної отрути, становило 1:4 для геністеїну й кверцетину і 1:2 для БФ софори та розторопші.

Таким чином, отримані нами дані свідчать про те, що здатність інгібувати ФЛА₂ є, очевидно, універсальною здатністю всіх БФ. Саме ця властивість визначає, як видно, основний механізм їхньої лікувально-профілактичної дії при багатьох захворюваннях, у патогенезі яких істотно місце посідає ФЛА₂.

Висновки

1. Встановлено оптимальні параметри методики визначен-

ня інгібуючої дії біофлаваноїдів на ФЛА₂.

2. Визначено, що всі досліджувані препарати БФ (геністеїн, кверцетин, софорозид геністеїну та біофлаваноїди розторопші) інгібують активність ФЛА₂ з підшлункової залози й бджолиної отрути.

3. Найбільшою мірою інгібуюча ФЛА₂ активність властива БФ із софори й розторопші.

ЛІТЕРАТУРА

1. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты. — М.: Мир, 1978. — 396 с.
2. Литвинко Н. М., Кисель М. А. Эндогенные фосфолипазы А₂. Структура и функции. — Минск: Наука и техника, 1991. — 270 с.
3. Murakami M., Kudo I. Phospholipase A₂ // J. Biochem. — 2002. — Vol. 131, N 3. — P. 285-292.
4. Грибанов Г. А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопр. мед. химии. — 1991. — Т. 37, № 4. — С. 2-10.
5. Влия на ангиогенез і протипухлинна дія фосфоліпази А₂ бджолиної отрути / Н. І. Шарикіна, Б. М. Бондаренко, Л. А. Могирьова та ін. // Експерим. та клінічна фізіол. і біохімія. — 2004. — № 1. — С. 29-33.
6. Lysophosphatidylcholine generates superoxide anions through activation of phosphatidylinositol 3-kinase in human neutrophils / H. Nishioka, H. Horiuchi, H. Arai, T. Kita // FEBS Lett. — 1998. — Vol. 441, N 1. — P. 63-66.
7. Зубачик В. М. Біологічна роль фосфоліпази А₂ (огляд літератури) // Журн. АМН України. — 1999. — Т. 5, № 4. — С. 627-642.
8. Chaminade B., Le Balle F., Fourcade O. New developments in phospholipase A₂ // Lipids. — 1999. — Vol. 34. — Suppl. — P. 49-55.
9. Левицкий А. П., Воскресенский О. Н., Носичук С. В. Роль полифенолов пищи в формировании местной неспецифической резистентности тканей ротовой полости // Вісн. стоматології. — 2005. — № 3. — С. 2-8.
10. Lindabe M., Tagesson C. Selective inhibition of group II phospholipase A₂ by quercetin // Inflammation. — 1993. — Vol. 17, N 5. — P. 573-582.
11. Тутельян В. А., Батурич А. Х., Мартинчик Э. А. Флавоноиды: содержание в пищевых продуктах, уровень потребления, биодоступность // Вопр. питания. — 2004. — Т. 73, № 6. — С. 43-48.
12. Habermann E., Hardt K. L. // Anal. Biochemistry. — 1972. — Vol. 50, N 2. — P. 163-173.

ВПЛИВ БІОФЛАВАНОЇДІВ НА АКТИВНІСТЬ ФОСФОЛІПАЗ А₂ З ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ Й БДЖОЛИНОЇ ОТРУТИ

Встановлено оптимальні параметри методики визначення інгібуючої дії біофлаваноїдів на фосфоліпазу (ФЛА₂) з підшлункової залози і бджолоїної отрути. Вивчено вплив на активність ФЛА₂ біофлаваноїдів кверцетину, геністеїну, геністеїн-софорикозиду, біофлаваноїдів розторопші. Встановлено, що найбільшою мірою інгібуюча активність властива біофлаваноїдам із софори та розторопші.

Ключові слова: біофлаваноїди, фосфоліпаза А₂, інгібіція.

THE INFLUENCE OF BIOFLAVANOIDS ON THE ACTIVITY OF PHOSPHOLIPASES A₂ OF PANCREAS AND BEE POISON

The optimal parameters of the bioflavonoids inhibitor action on phospholipase A₂ (PLA₂) from pancreas and bee poison were studied. The influence of bioflavonoids of quercetin, genisteine, genisteine-sophoricoside, silybum. bioflavonoids on PLA₂ activity was investigated. The inhibitive activity was revealed to be characteristic most of all to bioflavonoids from sophora and silybum.

Key words: bioflavonoids, phospholipase A₂, inhibition.

УДК 612.621.31:618.14-006.5

В. Г. Дубініна, канд. мед. наук, доц.

ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ ПРИ РІЗНИХ ВИДАХ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Питання клініки, діагностики і лікування гіперпластичних процесів ендометрія (ГПЕ) сьогодні у центрі уваги не тільки акушерів-гінекологів і клінічних патологів, але й онкогінекологів усього світу. Це пов'язано зі значним поширенням даної патології у жінок різних вікових груп і високою частотою рецидивів, а також імовірністю розвитку онкологічних захворювань на фоні даної патології [1–4; 6; 7; 9].

Клінічні прояви захворювання у жінок характеризуються виникненням рецидивних маткових кровотеч, що призводять до тимчасової втрати працездатності в найбільш активний період життя. Аномальні маткові кровотечі на фоні ГПЕ нерідко супроводжуються виникненням вторинних постгеморагічних анемії, в

окремих випадках із розвитком геморагічного шоку. Рецидивні кровотечі порушують психоемоційний стан хворих, взагалі погіршуючи якість життя пацієнток. Нерідко ГПЕ є причиною безплідності жінок. Питання про частоту малігнізації ГПЕ залишається дискусійним, але концепція про можливість пухлинної трансформації атипової гіперплазії ендометрія визнана безперечною більшістю вітчизняних і закордонних учених. У зв'язку з цим пацієнткам репродуктивного віку нерідко виконують радикальне оперативне лікування з приводу атипової гіперплазії ендометрія. Сьогодні, незважаючи на той факт, що впровадження ендоскопічних технологій у процес хірургічного лікування ГПЕ дозволило поліпшити показники ефективності втручання, проблема виникнення у хворих ре-

цидивів захворювання після лікувального впливу на ендометрій залишається досить серйозною та актуальною [2; 3; 5; 8].

Нині існують різні підходи до лікування хворих на ГПЕ з урахуванням віку, супровідної соматичної та гінекологічної патології, морфологічної структури гіперплазії. Проте не вирішені питання тактики введення хворих залежно від клініко-патогенетичного варіанта ГПЕ. Відповідно до сучасних поглядів, найбільш об'єктивною ознакою гормональної чутливості тканини є наявність стероїдних рецепторів гормонів. Але дотепер залишається не вивченим взаємозв'язок між рівнем експресії рецепторів стероїдних гормонів і морфологічною структурою ГПЕ, відсутні публікації стосовно оцінки ефективності лікування хворих на