

комбінації з тіотриазоліном у хворих з ендотоксикозом посттравматичного генезу є ефективним засобом фармакотерапії досліджуваного невідкладного стану. Ця комбінація лікарських засобів дозволяє досить швидко відновити основні клініко-біохімічні показники гомеостазу організму, зменшити ушкоджуючу дію токсичних метаболітів на клітинні мембрани, поліпшити детоксикуючу функцію печінки і нирок, а також реологічні властивості крові. Отримані результати дозволяють рекомендувати застосування даної комбінації лікарських засобів для лікування ендотоксикозу посттравматичного генезу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Оцінка ваги і прогноз травматичного шоку в потерпілих із поєднаною травмою* / В. Н. Денисенко, В. В. Бурлика, С. А. Король, В. В. Бондаренко // Проблеми військової охорони здоров'я. — К.: Янтар, 2002. — С. 8-15.
2. *Феськов А. Е., Ніконов В. В.* Практичне значення прогнозування при політравмі. — Там же. — С. 93-98.
3. *Дерябин И. И., Насонкин О. С.* Травматическая болезнь. — Л.: Медицина, 1987. — 306 с.
4. *Флорикян А. К.* Травматическая болезнь // *Международ. мед. журнал.* — 1999. — Т. 5, № 1. — С. 106-109.
5. *Методичні рекомендації по вивченню зв'язування лікарських засобів з білками сироватки крові* / О. І. Луйк, В. Д. Лук'ячук, Д. В. Кравець, О. А. Коробок. — К.; Луганськ: ІБОНХ, ЛДМУ, 1999. — 70 с.
6. *Мищенко О. М., Коробок О. А.* Теоретичне обґрунтування комбінованої фармакотерапії синдрому трива-

лого роздавлювання // *Тези доповідей IV міжнарод. медичного конгресу студентів і молодих вчених.* — Тернопіль, 2001. — С. 159.

7. *Основи патогенезу і підходи до фармакотерапії синдрому тривалого роздавлювання: Метод. рекомендації* / В. Д. Лук'ячук, О. М. Мищенко, О. А. Коробок, Д. М. Болгов. — Луганськ, 2001. — 26 с.

8. *Козловская Л. В., Николаев А. Ю.* Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. — М.: Медицина, 1985. — 288 с.

9. *Савченкова Л. В., Болгов Д. М., Коробок О. А.* Обґрунтування шляхів фармакокорекції шахтної травми // *Проблеми військової охорони здоров'я.* — К.: Янтар, 2002. — С. 441-443.

10. *Методы определения токсичности и опасности химических веществ* / АМН СССР / Под ред. И. У. Саночкого. — М.: Медицина, 1970. — 343 с.

УДК 612.821.6:612.17+577.17

Т. В. Горбач

## ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЗМУ ФОСФОІНОЗИТИДІВ У НИРКАХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТІ

Харківський державний медичний університет

Сьогодні у прогресуванні гломерулонефриту (ГН) головну роль відводять медіаторам запалення, що синтезуються клітинами імунної системи, а також гемодинамічним і метаболічним порушенням [1]. Тимчасом відомо, що біологічна дія багатьох гормонів, факторів росту, різних нейротрансмітерів, антигенів та інших біологічно активних речовин реалізується за допомогою активації фосфоліпази С, що здійснює гідроліз фосфатидилінозитів. Гідроліз фосфатидилінозитол-4,5-біфосфату (ФІФ<sub>2</sub>) з утворенням інозитол-1,4,5-трифосфату і діацилглицеролу — один із ранніх сигнальних механізмів, за допомогою яких різноманітні ліганди антигенної і мітогенної природи активують лімфоцити [2].

Виявлено, що при імунозапальних захворюваннях у нирках відзначається високий вміст антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів клітинних

мембран, у тому числі і до фосфоінозитидів (ФІ), що впливає на їх метаболізм [3]. Зокрема показано [4], що при експериментальному ГН у цитоплазматичних мембранах нефроцитів, тромбоцитів знижується процентний вміст ФІ. Наведені факти дають підстави припускати, що в патогенезі розвитку і прогресування ГН мають значення порушення в обміні ФІ. Тому вивчення їхнього спектра в мембранах нефроцитів при розвитку ГН є актуальним питанням нефрології. У зв'язку з цим метою нашого дослідження було визначити особливості метаболізму ФІ в динаміці ГН, а також вивчити зв'язок метаболізму ФІ з динамікою внутрішньоклітинного кальцію й АТФ при розвитку ГН.

### Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведено на щурах-самцях лінії Вістар ма-

сою 150–180 г, що утримувалися в стандартних умовах віварію. Моделювання ГН виконувалося одноразовим введенням нефротоксичної сироватки дозою 1,5 мл/100 г [5]. Титр антиниркових антитіл сироватки в реакції пасивної гемаглютинації — 1: 2560, у реакції зв'язування комплекменту — 1:1280. Тварин виводили з експерименту на 4-ту, 8-му і 20-ту добу після введення сироватки шляхом декапітації. Контрольною групою були інтактні тварини, яким замість нефротоксичної сироватки вводили фізіологічний розчин.

Нирки перфузували охолодженим середовищем, що містить 0,25М трис-НСІ (рН 7,5), гомогенізували в цьому ж середовищі в гомогенізаторі Поттера з розрахунку 1 г нирок у 2 мл середовища. Мембрани виділяли методом диференційного центрифугування [6]. У супернатанті визначали вміст



загального білка, кальцію (набори фірми Lachema), АТФ [7], фракцій ІФ [6]. У мембранній фракції визначали вміст білка. Екстрагування ФІ здійснювали за методом В. Л. Зубера [8]. Розділення ФІ виконували методом тонкошарової хроматографії на пластинах Silufol (Чехія), попередньо оброблених 1%-м розчином калію щавлевокислого [8]. Кількісне визначення ФІ здійснювали за фосфором.

### Результати дослідження та їх обговорення

Як видно з отриманих даних (табл. 1), у цитоплазматичних мембранах нефроцитів інтактних тварин у кількісному співвідношенні переважає фракція фосфатидилінозиту (Ф). Молярне співвідношення фосфатидилінозитолмонофосфату (ФІФ) до Ф становить 0,1, а співвідношення ФІФ<sub>2</sub>/ФІФ дорівнює 1,5. У латентній фазі (4-та доба) захворювання ці співвідношення зберігаються, хоча відзначається зменшення сумарної кількості фосфоінозитидів. У розпалі захворювання (8-ма доба) співвідношення ФІФ/Ф збільшується, а співвідношення ФІФ<sub>2</sub>/ФІФ — зменшується. Такі зміни, очевидно, пояснюються масивним гідролізом ФІФ<sub>2</sub>. Очевидно, у цей період захворювання активується синтез ФІФ і ФІФ<sub>2</sub>, однак одночасно значно збільшується швидкість гідролізу ФІФ<sub>2</sub>, причому ступінь активації гідролізу ФІФ<sub>2</sub> вищий, ніж синтезу. Цікаво, що аналогічні дані про співвідношення фракцій ФІ отримано в експерименті на мишах із полікістозом нирок [9]. Автори показали, що в мишей з полікістозом нирок, порівня-

но зі здоровими, збільшується співвідношення ФІФ/Ф і знижується співвідношення ФІФ<sub>2</sub>/ФІФ. Більше того, доведено, що співвідношення ФІФ<sub>2</sub>/ФІФ можна використовувати як показник прогресування захворювання (чим нижчий коефіцієнт, тим вищий ступінь змін у нирках). Як видно з табл. 1, на 20-ту добу коефіцієнт ФІФ<sub>2</sub>/ФІФ ще більше знижується, хоча в цей період клінічні ознаки захворювання значно зменшуються (нормалізується артеріальний тиск, зникають набряки, зменшується протеїнурія). Можливо, зниження коефіцієнта пояснюється склеротизацією частини нефронів у цей період захворювання. На 20-ту добу захворювання зменшується сумарний вміст ФІ в мембранах нефроцитів (порівняно з контрольною групою та з 8-ю добою), що, очевидно, пов'язано зі зменшенням їх синтезу в нирках.

Вивчення вмісту ІФ у цитоплазматичній фракції нирок показало, що у розпал захворювання у нирках збільшується вміст інозитолмонофосфату (ІФ<sub>1</sub>) та інозитолтрифосфату (ІФ<sub>3</sub>) при зменшенні вмісту інозитолдифосфату (ІФ<sub>2</sub>).

На 20-ту добу захворювання вміст ІФ<sub>1</sub> вірогідно вищий за показник у контрольних тварин, але нижчий, ніж на 8-му добу. Концентрація ІФ<sub>2</sub> вища, ніж у розпал захворювання. Рівень ІФ<sub>3</sub> на 20-ту добу трохи нижчий, ніж у розпал захворювання, але вищий, ніж у контрольній групі. Ці дані підтверджують припущення про перевагу гідролізу ФІФ<sub>2</sub> над його синтезом протягом 20 днів з моменту введення нефротоксичної сироватки. Цікаво відзначити, що

маса нирок позитивно корелює ( $r = 0,62$ ;  $P = 0,02$ ) з величиною співвідношення ІФ<sub>3</sub>/сума ІФ у цитоплазмі нефроцитів. Очевидно, величина коефіцієнта відповідає ступеню активності імунзапального процесу в нирках.

Вивчення вмісту ІФ у сироватці крові показало, що характер зміни фракцій такий самий як і в нирках. Коефіцієнт ІФ<sub>3</sub>/сума ІФ збільшується вже в латентній фазі захворювання (у 1,5 разу), на 8-му добу відбувається подальше його збільшення, а на 20-ту добу він залишається значно вищий, ніж у групі контролю, але нижчий, ніж на 8-му добу. Відзначається кореляційний зв'язок між коефіцієнтом ІФ<sub>3</sub>/сума ІФ у сироватці крові й у нирках ( $r = 0,87$ ;  $P = 0,02$ ).

Відомо, що при підвищенні рівнів ІФ<sub>1</sub> та ІФ<sub>2</sub> активується надходження кальцію в клітину, а при підвищенні рівня ІФ<sub>3</sub> — вихід кальцію з внутрішньоклітинних депо. Як видно з табл. 2, в експериментальних тварин у розпал захворювання та у період ремісії (20-та доба) концентрація кальцію в цитоплазмі значно вища, ніж у контрольних тварин.

Встановлено, що внутрішньоклітинний кальцій опосередковує дію багатьох регуляторних пептидів, є фізіологічним медіатором скорочення гладком'язових і мезангіальних клітин, проліферації, росту клітин, а також секреторних процесів (включаючи агрегацію білків позаклітинного матриксу), бере участь у синтезі факторів росту, простаноїдів, активує протеїнкінази і, тим самим, утворення оксидантів, що під-

Таблиця 1

Склад фосфоінозитидів цитоплазматичних мембран нефроцитів щурів при експериментальному гломерулонефриті, мкг/мг білка,  $M \pm m$ ,  $n=30$

Групи тварин	Ф	ФІФ	ФІФ <sub>2</sub>	ФІФ <sub>2</sub> /ФІФ	ФІФ/Ф
Контрольна	1,70±0,12	0,17±0,01	0,254 ±0,020	1,53±0,09	0,12±0,01
ГН, 4-та доба	1,32±0,11*	0,13±0,01*	0,198±0,010*	1,54±0,08	0,12±0,01
ГН, 8-ма доба	0,72±0,06*	0,105±0,010*	0,075±0,001*	0,71±0,03*	0,15±0,01*
ГН, 20-та доба	0,54±0,04*	0,078±0,001*	0,048±0,002*	0,62±0,04*	0,14±0,01

Примітка. У табл. 1 і 2: \* — вірогідна відмінність порівняно з показниками контрольної групи тварин.



Вміст АТФ, кальцію та інозитолфосфатів у цитозолі нирок щурів при експериментальному гломерулонефриті,  $M \pm m$

Групи тварин	Кальцій, ммоль/г білка	АТФ, мкмоль/г білка	ІФ <sub>1</sub> , нмоль/г білка	ІФ <sub>2</sub> , нмоль/г білка	ІФ <sub>3</sub> , нмоль/г білка
Контрольна	2,15±0,17	3,25±0,22	0,87±0,05	1,90±0,12	0,53±0,03
ГН, 8-ма доба	4,09±0,21*	1,55±0,11*	1,52±0,12*	0,52±0,03*	0,99±0,02*
ГН, 20-та доба	3,14±0,11*	2,09±0,13*	1,34±0,09*	0,67±0,02*	0,78±0,03*

силує опосередковане нейтрофілами ушкодження клітин [10]. Тому виявлені нами зміни у вмісті кальцію при ГН можуть істотно позначитися на функції нирок і сприяти прогресуванню захворювання. Відомо, що при перевантаженні клітин кальцієм мітохондрії накопичують його, при цьому знижується продукція АТФ. Очевидно, цей процес наявний при ГН: вміст АТФ у нирковій тканині знижується у розпал захворювання вдвічі, що, з огляду на енергозалежність процесів фільтрації, секреції та реабсорбції, має чимале значення в патогенезі ГН. Таким чином, отримані нами результати свідчать про порушення метаболізму ФІ при розвитку ГН і про зв'язок цих порушень із прогресуванням захворювання.

#### Висновки

1. При розвитку ГН збільшується швидкість обміну ФІ і

підсилюється швидкість гідролізу фосфатидилінозитол-4,5-біфосфату.

2. Особливості обміну фосфоінозитидів при ГН сприяють збільшенню внутрішньоклітинної концентрації кальцію і, можливо, розвитку енергодефіцитного стану у нирках.

3. Величина коефіцієнта інозитол-3-фосфат/сума інозитолфосфатів у сироватці крові може характеризувати ступінь метаболічних порушень у нирках при ГН.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бреннер Б. М. Механізми прогрессирования болезней почек // Нефрология. — 1999. — № 4. — С. 23-27.
2. Матишевська П. О. Утворення інозитолтрифосфату в лімфоцитах селезінки щурів на ранньому етапі після рентгеновського опромінення // Укр. біохім. журн. — 1998. — Т. 70, № 4. — С. 94-99.
3. Massengill S. F., Hendrick C. Antiphospholipid antibodies in pediatric lupus nephritis // Amer. J. Kidney Dis. — 1997, May. — Vol. 29, N 3. — P. 355-361.

4. Горбач Т. В. Порушення ліпідного складу мембран ниркових клітин у щурів різного віку, хворих на гломерулонефрит, та можливі шляхи його корекції // Матер. XIII Всеукр. конф. нефрологів «Хронічна ниркова недостатність». 5-6 жовтня 1999 р. — Харків, 1999. — С. 60-64.

5. Саркисов Д. С., Ремизов П. И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте. — М.: Медгиз, 1960. — 780 с.

6. Финдлей Дж., Эванс У. Биологические мембраны. Методы. — М.: Мир, 1990. — 423 с.

7. Ещенко Н. Д. Определение содержания АТФ в тканях // Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. — С. 256-258.

8. Зубер В. Л. Выделение полифосфоинозитидов. Разделение фосфоинозитидов методом тонкослойной хроматографии // Там же. — С. 75-79.

9. Aukema H. M., Yamaguchi T., Tomoto K. Diet and disease alter phosphoinositide composition and metabolism in murine polycystic kidneys // Jour Nutrition. — 1995, May. — Vol. 125, N 5. — P. 1183-1191.

10. Руководство по иммуноферментологии / Под ред. М. М. Дейл, Дж. К. Формен. — М.: Медицина, 1998. — 250 с.

УДК 616.831-001.8-085.21

І. І. Заморський, О. Г. Кметь

## ВПЛИВ МЕМАНТИНУ НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ У СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ГОСТРІЙ ГІПОКСІЇ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

#### Вступ

Гіпоксія — поширений патологічний стан, який виникає як за умов дефіциту кисню у зовнішньому середовищі, так і внаслідок різноманітних патологій, пов'язаних, зокрема, з порушенням функцій дихаль-

ної та серцево-судинної систем, транспортної функції крові. В усіх випадках у остаточному підсумку відбувається зниження доставки кисню до тканин до рівня, недостатнього для підтримки функцій, метаболізму і структури клітин. Це визначає актуальність проблеми та її

важливість для практичної та теоретичної медицини [1].

Загальновідомо, що виникнення окисного стресу внаслідок зміщення окисно-відновної рівноваги у бік збільшеної продукції вільних радикалів є провідним патогенетичним механізмом руйнування клітинних

