

Вміст АТФ, кальцію та інозитолфосфатів у цитозолі нирок щурів при експериментальному гломерулонефриті, М±m

Групи тварин	Кальцій, ммоль/г білка	АТФ, мкмоль/г білка	ІФ ₁ , нмоль/г білка	ІФ ₂ , нмоль/г білка	ІФ ₃ , 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 рентгенівського 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., Эванз 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



мембран і загибелі клітин при різноманітних патологічних станах. Враховуючи важливу роль порушень прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в нейронній смерті при гіпоксії, все більша увага приділяється застосуванню антиоксидантів для запобігання або зменшення проявів ушкодження нервових клітин при гіпоксії. За даними літератури [2], припускають, що лікарським засобам адамантильної структури, до яких належить мемантин, властива протиішемічна та антигіпоксична дії. Їх позитивний ефект при гіпоксичо-ішемічних ушкодженнях нейронів пов'язують зі здатністю зменшувати дисбаланс між дофаміновою і глутаматною нейромедіаторними системами в неостріатумі та пригнічувати ексайтотоксичність збуджувальних амінокислот.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу мемантину на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у різних структурах головного мозку (гіпокамп, хвостате ядро, фронтальна кора та бліда куля) при гострій гіпоксії. Дослідження проводились у цих структурах, оскільки саме в них виявлено найбільшу кількість глутаматергічних синапсів, через які здійснює свою дію мемантин [3].

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведено на 28 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів віком 5–6 тиж, масою 65–75 г, оскільки у статевонезрілих тварин незрілий мозок чутливіший до дії окисного стресу при гострій гіпоксії [4].

За тиждень до початку дослідження визначали чутливість щурів до гіпоксії і в подальшому використовували лише помірно стійких тварин. Усіх щурів поділили на 4 групи: 1) контроль — з введенням фізіологічного розчину; 2) щури, яких піддавали дії гіпоксії з попереднім введенням

фізіологічного розчину; 3) тварини, яким вводили мемантин; 4) щури, яких піддавали дії гіпоксії з попереднім введенням мемантину. Мемантин («Акатинол-мемантин», «Мерц», Німеччина) вводили одноразово внутрішньочеревинно дозою 10 мг/кг [5] за 4 год до моделювання гіпоксії, враховуючи фармакокінетику препарату [6].

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали за допомогою проточної барокамери шляхом розрідження повітря до показників, еквівалентних висоті 12 000 м, зі швидкістю 50 м/с. На «висотному плато» щурів утримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали «спуск» на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Евтаназію щурів виконували шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії та швидко вилучали мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан антиоксидантної системи (АОС) досліджували в гомогенаті, виготовленому з наважок тканин фронтальної кори, блідій кулі, хвостатого ядра, гіпокампа, які виділяли на зрізах переднього мозку згідно з стереотаксичним атласом мозку статевонезрілих щурів [7].

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА), який визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [8], розраховуючи кількість МДА в мікромолях на грам тканини. Стан АОС мозку оцінювали за активністю основних ферментів — каталази [КФ 1.11.1.6] [9] і глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] [10]. Активність каталази виражали в мікромолях пероксиду водню, що розклався за 1 хв на 1 мг білка, а глутатіонпероксидази — в мілімолях окиснено-

го глутатіону за 1 хв на 1 мг білка. Вміст білка визначали за методом Лоурі — Фоліна. Математичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Дані, наведені в табл. 1 і 2, свідчать про значну активацію процесів ПОЛ (підвищення вмісту МДА) після дії гострої гіпоксії в усіх досліджуваних структурах головного мозку тварин. Так, у гіпокампі вміст МДА збільшувався на 21 % ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — на 53 % ($P < 0,001$); у корі — на 34 % ($P < 0,001$); у блідій кулі — на 45 % ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою. Одночасно значно пригнічувався стан антиоксидантного захисту нейронів, представлений каталазою та глутатіонпероксидазою. Показники активності антиоксидантних ферментів у гіпокампі, хвостатому ядрі, блідій кулі реєструвалися, головним чином, вірогідно нижчими ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Таке зростання вмісту продуктів ПОЛ і пригнічення активності АОС можна пов'язати з безпосереднім впливом гіпоксії на головний мозок тварин [1].

Після введення мемантину нормоксичним тваринам спостерігалось зниження вмісту МДА у блідій кулі. При цьому активність глутатіонпероксидази у фронтальній корі зростала, а в інших досліджуваних структурах знижувалася разом з активністю каталази на фоні збереження вмісту вторинного продукту ПОЛ (МДА) на рівні показників у контрольних тварин. Такі результати можуть свідчити про нормалізуючий вплив мемантину на прооксидантно-антиоксидантний баланс у структурах головного мозку нормоксичних тварин.

Введення мемантину перед дією гіпоксії призводило до



Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у фронтальній корі та гіпокампі щурів при гострій гіпоксії та введенні мемантину, $M \pm m$, $n=7$

Групи тварин	Кора (фронтальна частина)			Гіпокамп		
	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка
Контроль	3,930±0,601	2,550±0,450	1,770±0,371	3,360±0,580	4,790±0,403	0,490±0,095
Гіпоксія	5,290±0,867*	1,130±0,130*	0,720±0,120*	4,090±1,111	3,350±0,274*	0,630±0,055
Мемантин	4,020±0,320	2,270±0,411	2,210±0,198*	3,210±1,019	2,490±0,157*	0,300±0,030*
Мемантин + гіпоксія	3,730±0,612**	1,470±0,332* **	1,600±0,286**	2,370±0,570* **	1,380±0,365* **	0,290±0,063* **

Примітка. У табл 1 і 2: * — відмінності вірогідно відрізняються від показників контролю ($P < 0,05$); ** — зміни вірогідно відрізняються від показників у тварин, які знаходились у гіпоксії без попереднього введення мемантину ($P < 0,05$); МДА — малоновий діальдегід; ГП — глутатіонпероксидаза.

Таблиця 2

Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в структурах стріопалідарної системи головного мозку (хвостате ядро, бліда куля) щурів при гострій гіпоксії та введенні мемантину, $M \pm m$, $n=7$

Групи тварин	Хвостате ядро			Бліда куля		
	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка
Контроль	3,050±0,210	4,160±0,305	6,630±1,375	2,060±0,289	2,770±0,431	4,120±0,714
Гіпоксія	4,690±0,852*	3,340±0,297*	2,010±0,470*	3,000±0,520*	1,680±0,237*	2,320±0,307*
Мемантин	3,050±0,521	2,360±0,305*	2,600±0,304*	1,470±0,150*	1,570±0,298*	2,670±0,435*
Мемантин + гіпоксія	3,470±0,423**	1,480±0,197* **	1,570±0,164* **	1,560±0,333* **	0,700±0,120* **	1,370±0,431**

зниження показників вмісту МДА: у гіпокампі — в 1,7 разу ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — в 1,4 разу ($P < 0,001$); у корі — в 1,5 разу ($P < 0,001$); у блідій кулі — в 1,9 разу ($P < 0,001$) порівняно з тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин замість мемантину. Водночас активність каталази в гіпокампі знижувалась у 2,4 разу ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — в 2,3 разу ($P < 0,001$); у блідій кулі — у 2,4 разу ($P < 0,001$); а в корі, навпаки, спостерігалось зростання порівняно з групою, яка знаходилась при гіпоксії без введення мемантину. Активність глутатіонпероксидази у тварин, яким перед гіпоксією вводили мемантин, зменшувалась в гіпокампі на 54 % ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — на 22 % ($P < 0,05$); у блідій кулі — на 41 % ($P < 0,001$) порівняно з групою

тварин, які знаходились при гіпоксії без введення мемантину. Водночас у корі великих півкуль головного мозку активність глутатіонпероксидази підвищувалась на 55 % ($P < 0,001$).

Отже, попереднє введення мемантину запобігало посиленню ПОЛ при дії гострої гіпоксії в усіх досліджуваних структурах головного мозку щурів і водночас нормалізувало активність глутатіонпероксидази та підвищувало активність каталази у фронтальній ділянці кори великих півкуль. Такий вплив мемантину можна пояснити його антиглутаматною дією [5], оскільки глутамат є нейромедіатором збудження і сприяє активації ПОЛ [2]. Водночас активність антиоксидантних ферментів в інших структурах головного мозку (гіпокамп, хвостате ядро і бліда куля)

після застосування мемантину знижувалась на фоні зменшення вмісту МДА. При цьому в гіпокампі і блідій кулі вміст МДА реєструвався на рівнях нижчих, ніж у контрольних тварин. Показники низької активності ферментів АОС у гіпокампі та структурах стріопалідарної системи після введення мемантину можна пояснити одночасно порівняно нижчою інтенсивністю ПОЛ і відповідним збереженням загальної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в нейронах.

Таким чином, одержані нами результати підтверджують дані про те, що гостра гіпоксична гіпоксія спричинює зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі у бік посилення процесів вільнорадикального окислення [1], а попереднє введення мемантину нормалізує цю рівновагу,



підвищуючи стійкість нейронів, особливо кори, до недостатності кисню.

Висновки

Введення мемантину перед гострою гіпоксією запобігає активації ПОЛ і нормалізує стан антиоксидантної рівноваги в окремих структурах головного мозку лабораторних щурів, особливо у фронтальній корі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лукьянова Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. exper. биол. и мед. — 1997. — Т. 124, № 9. — С. 244-253.
2. Вовлечение глутаматных рецепторов (NMDA-типа) в реакции

нейронов мозга на аноксию различной длительности / М. О. Самойлов, А. А. Мокрушин, Д. Г. Семенов и др. // Там же. — 1998. — Т. 125, № 1. — С. 503-505.

3. Мошарова И. В. Типы глутаматных рецепторов и их роль в осуществлении синаптической передачи // Нейрохимия. — 2001. — Т. 18, № 1. — С. 3-18.

4. Заморський І. І., Кметь О. Г. Модель виявлення вікової чутливості до дії ксенобіотиків за ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку // Тези доп. наук. конф. «Вікові аспекти чутливості організму до ксенобіотиків». — Чернівці: Медик, 2002. — С. 6.

5. Гмиро В. Е., Сердюк С. Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA/каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — Т. 63, № 1. — С. 7-13.

6. Spanagei R., Eilbacher B., Wilke R. Memantine-induced dopamine release in the prefrontal cortex and striatum of the rat — a pharmacokinetic microdialysis study // Eur. J. of Pharm. — 1994. — Vol. 262. — P. 21-26.

7. Sherwood N., Timiras P. Astero-taxic atlas of the developing rat brain. — Los Angeles; London: University of California press; Berkeley, 1970. — 204 p.

8. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 252 с.

9. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

10. Геруш І. В., Мецишен І. Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настійки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біол. та мед. — 1998. — № 7. — С. 10-15.

УДК 616.441-008.61:612.018

В. М. Кравченко, Т. С. Божко, Л. М. Вороніна, І. В. Комарова

ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВОЇ СПОЛУКИ НА ЕУТИРЕОЇДНІЙ ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ ЛЮДИНИ

Національний фармацевтичний університет, Харків,
Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України, Харків

Тиреоїдна патологія є найбільш розповсюдженою в структурі ендокринних захворювань. Очевидно, така тенденція збережеться і в майбутньому, бо останніми десятиріччями відмічається неухильне збільшення розповсюдження захворювань щитоподібної залози (ЩЗ) [1].

Для України вивчення проблеми розповсюдження патологій ЩЗ та їх медикаментозної корекції є особливо актуальним у зв'язку з наслідками аварії на Чорнобильській АЕС, недостатнім рівнем забезпеченості населення країни йодом, іншими негативними факторами навколишнього середовища. Так, рівень захворюваності на тиреотоксикоз із дифузним токсичним зобом в Україні, за

даними на 2001 р., становив 96,4 випадку на 100 тис. населення [2], тобто розповсюдженість цієї патології в країні перевищує середньостатистичні дані для населення земної кулі [3].

Одним із методів лікування тиреотоксикозів сьогодні є терапія тиреостатичними засобами, з-поміж яких найбільш поширеним в Україні є мерказоліл. Проте, як відомо, мерказоліл поряд зі специфічною антитиреоїдною дією може спричинити негативні побічні ефекти [4]. Тому надзвичайно важливим напрямком сучасної фармакології є пошук і вивчення сполук з новим механізмом дії, які не поступаються за антитиреоїдною активністю мерказолілу і тим же часом мають мало

побічних ефектів і не володіють високою токсичністю.

У Національному фармацевтичному університеті було проведено цілеспрямований синтез хімічних сполук із передбачуваною антитиреоїдною активністю, з-поміж яких виявлено сполуку, похідну малонової кислоти (умовна назва тетракон), з вираженою специфічною активністю і низькою токсичністю (LD₅₀ для щурів дорівнює 6380 мг/кг при пероральному введенні), яка вивчається всебічно як потенційний тиреостатичний лікарський засіб. Метою нашого дослідження було вивчення специфічної активності тетракону на органній культурі щитоподібної залози людини відповідно до методичних рекомендацій з

