субстратний потенціал, а з іншого боку — ефективну утилізацію недоокиснених субстратів і мобілізацію їх в окиснювальних процесах, що веде до високої інтенсивності окиснювально-відновних реакцій, до синтезу макроергічних інтермедіаторів і активності анаболічного обміну, що, власне, і підтримує високу ефективність ферментативного антиоксидантного захисту [10].

Фенольні сполуки з двома і більше гідроксильними групами в бензольному ядрі в орто-, пара- або метаположенні відрізняються великою різноманітністю хімічних властивостей і біологічної активності. Ці класи фенольних сполук у фізіологічних умовах утворюють буферну окиснювально-відновну систему.

Антиоксидантні властивості фенолів пов'язані з наявністю в їхній структурі слабких фенольних гідроксильних груп, що легко віддають свій атом водню при взаємодії з вільними радикалами. В цьому випадку феноли виступають у ролі пасток вільних радикалів, перетворюючись на малоактивні феноксильні радикали.

Виходячи з отриманих під час дослідження результатів, можна стверджувати, що вивчені БАС виявляють виражені антиоксидантні властивості при ураженні діоксидом азоту і чадним газом. З огляду на вкрай низьку токсичність еномеланіну і пектину, вони можуть бути запропоновані для подальшого скринінгу з метою створення лікарських форм.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Галкин Б. Н.* Фармакологическая коррекция токсического действия диоксида азота: Дис. ... канд. биол. наук. — Одесса, 1995.

2. *Баринова И. Е.* Фармакологическая коррекция гемической гипоксии аргинином, ацетилцистеином и эномеланином: Дис. ... канд. биол. наук. — Одесса, 1997.

3. *Лукьянова Л. Д.* Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюлл. эксп. биол. и медицины. — 1997. — Т. 124, № 9. — С. 244-254.

4. *Jaite M., Emilio de J., Inmaculada S.* Oxigen-induced mitochondrial damage and aging // Free radicals and aging / Eds. J. Emerit, B. Chance. — Basel: Birkhauser, 1992. — P. 47-57.

5. *Волков Н. И., Хоронюк С. Л.* Применение антиоксидантов полифенольного ряда для коррекции тканевой гипоксии при мышечной деятельности. Антигипоксанты и актопротекторы. Итоги и перспективы. — СПб., 1994. — С. 180.

6. *Другов Ю. С., Баликов А. П.* Методы анализа загрязнителей воздуха. — М.: Химия, 1984. — 364 с.

7. *Асатиани В. С.* Ферментные методы анализа. — М.: Наука, 1969. — С. 428-430.

8. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — М.: Высш. школа, 1975. — 320 с.

9. *Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биол. — 1991. — Т. 113, вып. 4. — С. 442-455.

10. *Nakachima M.* Involvement of free radicals in cerebral vascular reperfushion injury evaluated in a trancient focal cerebral ishemia model of rats // Free. Radic. Biol. Med. — 1999. — Vol. 26, N 5-6. — P. 722-729.

УДК 616-092.4:661.734.17:549/462/94-599-323

В. Н. Горохівський, А. П. Левицький, О. В. Дєньга, О. А. Макаренко, Ю. В. Зеленіна

ВПЛИВ СОЄВИХ ІЗОФЛАВОНІВ НА СТАН ПРОТЕОЛІЗУ В КІСТКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ФТОРИДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Інститут стоматології АМН України, Одеса

У нашій попередній роботі [1] у дослідах на щурах-самицях була встановлена захисна дія кальцію цитрату (препарат «КальЦит») за умов гострої фторидної інтоксикації.

Метою даної роботи стало вивчення впливу на стан протеолізу в кістках при гіперфторозі іншого препарату, а саме — соєвих ізофлавонів, які мають остеотропні властивості [2]. Виходячи з того, що в основі метаболізму кісткової тканини лежить протеоліз [3; 4], ми вважали за доцільне вивчити вплив фториду на активність протеолітичних ферментів у кістках та можливість її корекції за допомогою препарату соєвих ізофлавонів [5].

Матеріали та методи дослідження

Експеримент було проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар віком 2 міс (середня маса — (100±5 г)). Загальна кількість тварин (45 осо-

бин) була поділена на 5 груп: 1-ша — контроль; 2-га — тварини, які отримували з питною водою фторид натрію (NaF) з розрахунку 10 мг фтору на 1 кг живої маси; 3-тя — щури, які отримували NaF + препарат соєвих ізофлавонів дозою 3 мг/кг (щоденно, через зонд); 4-та — аналогічна групі 3, однак замість чистих соєвих ізофлавонів отримували лікувально-профілактичний препарат «ЕКСО» дозою 300 мг/кг (ця доза відповідає за вмістом ізофлавонів дозі препарату чистих ізофлавонів); до 5-ї групи увійшли тварини, які отримували NaF + препарат соєвих ізофлавонів (3 мг/кг) й додатково цитрат кальцію дозою 15 мг на одного щура.

Тривалість експерименту становила 30 діб, після чого тварин піддавали евтаназії під легким ефірним наркозом, отримували сироватку крові та виділяли велику гомілку.

Гомогенати кісток готували на цитратному буфері (pH-6,1) з розрахунку 75 мг/мл і використовували надосадову рідину. Визначали загальну протеолітичну активність (ЗПА) за гідролізом казеїну при pH-7,6 [6], активність еластази за гідролізом синтетичного субстрату BOC-L-аланін-4-нітрофеніловий ефір [7], а також активність катепсину D за гідролізом гемоглобіну при pH-3,5 [6].

У сироватці крові визначали ЗПА [5], катепсин D [5] та вміст інгібіторів трипсину (ІТ) за гальмуванням гідролізу синтетичного субстрату БАПНА кристалічним трипсином [8].

Результати дослідження та їх обговорення

Результати біохімічних досліджень наведено в табл. 1 і 2. Можна зробити висновок, що фторидна інтоксикація викликає значні зміни в системі протеолізу в кістковій тканині: майже втричі знижується ЗПА, яка має пряме відношення до біосинтезу колагену [9; 10], суттєво підвищується активність катепсину D і еластази (табл. 1). У сироватці крові значно змінюється лише ЗПА: збільшується при фторидній інтоксикації вдвічі (табл. 2).

Застосування соєвих ізофлавонів, у тому числі й препарату «ЕКСО», відновлює в кістках ЗПА, суттєво знижує активність еластази, однак значно підвищує активність катепсину D. Навпаки, в сироватці крові ізофлавони мало впливають на ЗПА і рівень інгібіторів трипсину, однак суттєво знижують активність катепсину D.

Комбінація ізофлавонів і цитрату кальцію (5-та група) спричинює значне пригнічення активності еластази в кістках, що можна вважати позитивним явищем, оскільки з еластазою пов'язують деструктивні процеси у кістковій тканині [11]. Спрямованість протеолізу в кістковій тканині на остеогенез відображає співвідношення ЗПА й активності еластази, що ілюструє рисунок. Отже, гіперфтороз викликає зниження цього коефіцієнта в 3,7 разу. Введення ізофлавонів його відновлює, а комбінація ізофлавонів та кальцію цитрату навіть збільшує вдвічі.

Водночас, співвідношення в сироватці крові інгібіторів

Таблиця 1

Вплив соєвих ізофлавонів на активність протеаз великої гомілки щурів при фторидній інтоксикації

Групи	Характеристика груп	ЗПА, мккат/кг	Еластаза, мкат/кг	Катепсин D, мккат/кг
1-ша	Контроль	121,7±2,8	1,58±0,18	80,1±5,3
2-га	Фторидна інтоксикація (ФІ)	38,4±2,4 P<0,001	1,86±0,17 P>0,1	94,8±2,7 P<0,05
3-тя	ФІ + ізофлавони	106,4±6,3 P>0,05 P_1<0,001	1,30±0,16 P>0,1 P_1<0,05	99,5±4,0 P<0,05 P_1>0,4
4-та	ФІ + ЕКСО	111,2±3,4 P>0,05 P_1<0,001	1,20±0,19 P>0,1 P_1<0,05	150,6±9,0 P<0,001 P_1<0,001
5-та	ФІ + ізофлавони + КальЦит	114,2±5,7 P>0,3 P_1<0,001	0,70±0,19 P<0,01 P_1<0,001	118,7±3,3 P<0,01 P_1<0,001

Примітка. У табл. 1, 2: P — показник вірогідності різниці з 1-ю групою; P_1 — показник вірогідності різниці з 2-ю групою.

Таблиця 2

Вплив соєвих ізофлавонів на активність протеаз і вміст інгібіторів трипсину в сироватці крові щурів при фторидній інтоксикації

Групи	Характеристика груп	ЗПА, нкат/л	Катепсин D, нкат/л	Інгібітор трипсину, г/л
1-ша	Контроль	1,04±0,25	7,14±0,37	0,70±0,02
2-га	Фторидна інтоксикація (ФІ)	2,00±0,22 P<0,01	7,04±0,41 P>0,6	0,67±0,02 P>0,1
3-тя	ФІ + ізофлавони	1,78±0,14 P<0,05 P_1>0,1	5,43±0,40 P<0,05 P_1<0,05	0,61±0,05 P>0,05 P_1>0,1
4-та	ФІ + ЕКСО	2,04±0,13 P<0,01 P_1>0,6	4,87±0,23 P<0,01 P_1<0,02	0,77±0,05 P>0,05 P_1>0,05
5-та	ФІ + ізофлавони + КальЦит	1,94±0,20 P<0,01 P_1>0,8	6,07±0,33 P<0,05 P_1>0,05	0,67±0,05 P>0,3 P_1=1

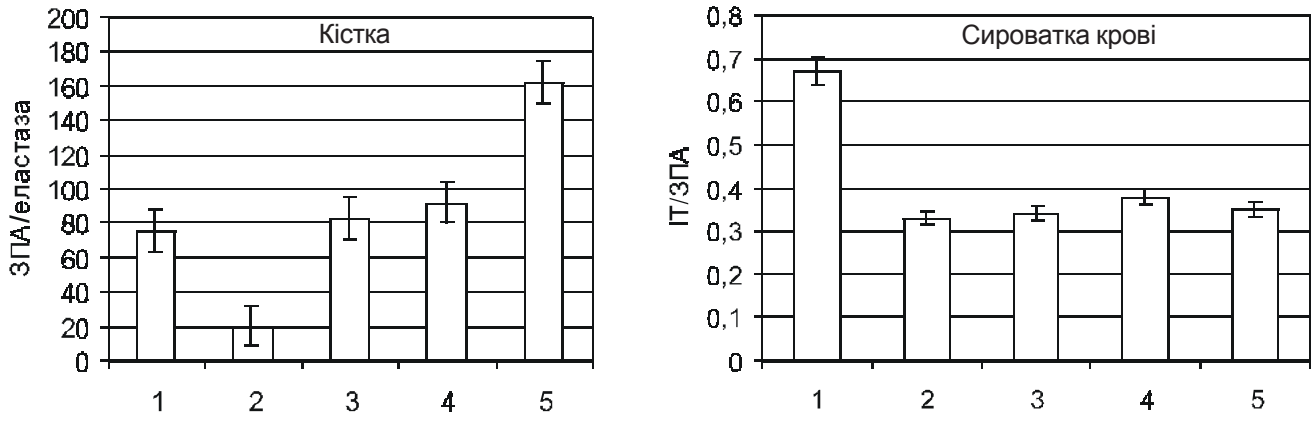

Рисунок. Вплив препаратів соєвих ізофлавонів на стан протеолізу в кістках і крові щурів при гіперфторозі: *1* — контроль; *2* — питна вода + NaF; *3* — NaF + ізофлавони сої; *4* — NaF + ЕКСО; *5* — NaF + ізофлавони сої + КальЦит

трипсину і ЗПА, яке характеризує стан адаптивно захисних систем організму, вдвічі знижується при фторидній інтоксикації й залишається на такому низькому рівні і після введення ізофлавонів (див. рисунок). Це свідчить, що реакція організму на надлишок фтору не усувається під дією використаних нами остеотропних препаратів (ізофлавони і цитрат кальцію) і потребує застосування інших засобів. Проте, слід відмітити, що в дослідах на самицях цитрат кальцію виявляв деякою мірою гепатопротекторну активність при гіперфторозі [1].

Висновки

1. Фторидна інтоксикація викликає значні зміни у системі кісткового протеолізу (знижується ЗПА, збільшується активність катепсину D і еластази, в 3,7 разу знижується співвідношення ЗПА/еластаза).

2. Соєві ізофлавони відновлюють ЗПА, знижують активність еластази і суттєво підвищують співвідношення ЗПА/еластаза.

3. У сироватці крові за умов фторидної інтоксикації збільшується ЗПА і значно знижується співвідношення інгібітори трипсину/ЗПА. Соєві ізофлавони не впливають суттєво на ЗПА і зазначене співвідношення в сироватці крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Вплив* цитрату кальцію на перебіг гострої фтористої інтоксикації у щурів / О. А. Макаренко, А. П. Левицький, І. В. Ходаков та ін. // Одес. мед. журнал. — 2003. — № 6 (80). — С. 20-23.

2. *Остеотропная* активность соевого препарата «ЕКСО» / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Л. Н. Россаханова, Н. Ю. Лерфина // Вісн. стоматології. — 2000. — № 4. — С. 5-9.

3. *Кудрин А. В.* Металлы и протеолитические ферменты // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. — 1999. — № 3. — С. 19-24.

4. *Regulation* of osteoclast protease expression by RANKL / Y. Wittrant, S. Theoleyre, S. Covillaud et al. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 2003. — Vol. 310, N 3. — P. 774-778.

5. *Спосіб* одержання біологічно активного засобу і біологічно активний засіб «ЕКСО», який має остеотропну активність / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, О. В. Дєньга, Ю. Г. Чумакова // Патент України № 58471 МКИ А61К 35/78, А61 Р19/00, 15.08.2003. По заявке № 2000020574 от 02.02.2000. Опубл. Бюл. № 8.

6. *Калликреины* и неспецифические протеазы в слюне больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / А. П. Левицкий, В. М. Коновец, И. Ф. Львов и др. // Вопр. мед. химии. — 1973. — Т. 19, № 6. — С. 633-638.

7. *Visser L., Brouf E. R.* The use of p-nitrophenyl-N-tret-butyl-oxycarbonyl-L-alanin as substrate for elastase // Biochim. and Biophys. Acta. — 1972. — Vol. 268, N 1. — P. 275-280.

8. *Адамовская В. Г., Левицкий А. П., Вовчук С. В.* Взаимосвязь между уровнем протеиназ, их ингибированием и хозяйственно-полезными признаками зерна пшеницы // Научно-техн. бюлл. ВСТИ. — 1980. — № 3 (37). — С. 25-30.

9. *Влияние* соевых изофлавонов на протеолиз в костной ткани при экспериментальном остеопорозе / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Дюдина, Ю. В. Зеленина // Труды Всерос. конф. «Проблемы мед. энзимологии». — М., 2002. — С.139-140.

10. *Григоровский В. В., Магомедов С.* Биохимические показатели метаболизма межклеточного вещества соединительной ткани, коррелирующие с морфометрическими признаками поражения длинной кости при открытом асептическом переломе // Укр. биохим. журнал. — 1999. — Т. 71, № 1. — С. 67-72.

11. *Эластаза* нейтрофилов и α_1-протеиназный ингибитор в десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями пародонта / Е. В. Боровский, Т. С. Пасхина, Е. В. Пустовойт и др. // Стоматология. — 1988. — Т. 67, № 3. — С. 25-27.