

5. *Владимирова М. П.* Механизмы повреждения и компенсации почек при гентамициновой нефропатии // Матер. наукової конф. «IV читання ім. В. В. Підвисоцького»: Тези доп. — Одеса, 2005. — С. 29.

6. *Возіанов О. Ф., Гоженко А. І., Федорук О. С.* Гостра ниркова недостатність. — Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2003. — 376 с.

7. *Гоженко А. І., Войтенко А. М., Грач Ю. І.* Методи изучения почек при токсикогигиенических исследованиях: Метод. рекомендації. — Одесса, 1991. — 21 с.

8. *Інформаційні повідомлення* Центру побічної дії ліків фармакологічного комітету МОЗ України: Про гостру ниркову недостатність, яку спричиняють лікарські засоби // Ліки. — 1999. — № 2. — С. 113-114.

9. *Наточин Ю. В.* Физиология почки: формулы и расчеты. — Л.: Наука, 1974. — 59 с.

10. *Тубулоинтерстициальные* нарушения при нефротоксическом действии антибиотиков / А. В. Потапова, Ф. У. Дзгоева, И. М. Кутырина и др. // Урология и нефрология. — 1995. — № 3. — С. 11-14.

11. *Appel G. B.* Aminoglycoside nephrotoxicity // Am. J. Med. — 1990. — Vol. 88, N 3. — P. 16-20.

12. *Gentamicin treatment induces* simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats / Carlos Martinez-Salgado, Eleno Nelida, Morales Ana I. et al. // Kidney International. — 2004. — Vol. 65. — P. 2161-2171.

13. *Mingeot-Leclercq M., Tulkens P. M.* Aminoglycosides: nephrotoxicity // Antimicrob. Agents Chemother. — 1999. — Vol. 43. — P. 1003-1012.

УДК 615.246.9:546.289:591.47-001

В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна,
О. Е. Марцинко, В. М. Ткаченко

СКРИНІНГ І ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСОБІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ СЕРЕД КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК ГЕРМАНІЮ З БІОЛІГАНДАМИ ПРИ СИНДРОМІ ТРИВАЛОГО РОЗЧАВЛЮВАННЯ

Луганський державний медичний університет,
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

До важкого виду травми, особливо актуального для промислового регіону Донбасу та достатньо складного у патогенетичному плані, належить синдром тривалого розчавлювання (СТР) м'яких тканин, що, в першу чергу, обумовлено його тяжким клінічним перебігом і високою летальністю. За даними [1], ця травма становить у середньому 30 %, а при розвитку гострої ниркової недостатності — 70 %. Висока летальність при СТР спричинена, перш за все, відсутністю високоефективних засобів лікування цього невідкладного стану на дошпитальному етапі, тобто у ранньому посткомпресійному періоді, які б впливали одночасно на більшість ланок патогенезу цієї патології. Це особливо

важливо в плані запобігання формуванню поліорганної недостатності та травматичного шоку на фоні ендогенної інтоксикації.

Тому пошук і розробка високоефективних і безпечних засобів детоксикації СТР — пріоритетний напрямок сучасної фармакології.

Сьогодні синтезовано велику кількість германійорганічних сполук різної хімічної структури з широким спектром фармакологічної активності. Так, численні координаційні сполуки германію чинять нейротропну, анальгезуючу, гіпотензивну, гепатопротекторну, противірусну, антималярійну, антирадіаційну, антиоксидантну, протизапальну дію. Відомі також детоксикаційні властивості цих сполук при отруєннях

ртуттю, кадмієм та іншими важкими металами [2]. Тому великий інтерес становить подальше вивчення детоксикаційних властивостей координаційних сполук германію з біолігандами, що і стало теоретичною підставою для проведення скринінгових досліджень цих сполук за умов СТР.

Мета роботи — скринінг і порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біолігандами на експериментальній моделі ендотоксикозу посттравматичного генезу.

Матеріали та методи дослідження

Досліди виконано на 80 білих безпородних щурах обох статей масою 180–200 г, яких



утримували в умовах віварію ЛугДМУ, згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України [3].

Експериментальною моделлю ендотоксикозу посттравматичного генезу слугував патологічний процес, який розвивавсь у тварин у результаті розчавлювання м'яких тканин задніх кінцівок протягом 5 год у спеціальному приладі з манометричним контролем тиску (15 кг/см²), сконструйованому на кафедрі фармакології ЛугДМУ [1]. У скринінговій серії вивчали координаційні сполуки германію з різними біолігандами, а саме: комплекс тетрахлориду германію з ніотиновою кислотою (МІГУ-1), комплекс тетрахлориду германію з нікотинамідом (МІГУ-2), германій-бурштинова кислота (МІГУ-3), координаційна сполука на основі германію, ніотинової та оксіетилідендифосфонової кислот (МІГУ-4), координаційна сполука на основі германію, нікотинамідом й оксіетилідендифосфонової кислоти (МІГУ-5), комплексна сполука на основі германію, магнію та оксіетилідендифосфонової кислоти (МІГУ-6), координаційна сполука на основі германію, ніотинової та лимонної кислот (МІГУ-8), координаційна сполука на основі германію, нікотинамідом та лимонної кислот (МІГУ-9), координаційна сполука на основі германію та винної кислоти з нікотинамідом (ОК-4) і комплексна сполука на основі германію, яблучної та ніотинової кислот (ОК-5), синтезованих на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова.

Усі досліджувані сполуки, вводили щурам дозою 100 мг/кг у вигляді 1%-го водного розчину внутрішньоочередово за 30 хв до початку компресії та через 6 год після неї. При виборі режиму дозування координаційних сполук германію виходили з особливостей їх

фармакокінетики [4]. Тваринам контрольної групи в аналогічному режимі вводили еквівалентний об'єм ізотонічного розчину хлориду натрію. Препаратом порівняння був тіотриазолін (АТ «Галичфарм», Україна), який вводили щурам встановленою раніше оптимальною дозою 117,4 мг/кг за 30 хв до компресії та через 6 год після неї [5]. Кількісними критеріями детоксикаційної ефективності досліджуваних сполук в умовах ендотоксикозу на фоні СТР слугували показники концентрації кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенаті печінки щурів, які надають можливість встановити ступінь ушкодження клітинних і субклітинних мембран [6] та рівень молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові щурів — загальновідомий універсальний маркер ендогенної інтоксикації [7]. Рівень МСМ визначали за методом [8] через 14 год після компресії (раніше встановлений нами пік концентрації МСМ у контрольних тварин), концентрацію ТБК-реактивних досліджували за допомогою методу [9]. Для детальнішої оцінки детоксикаційної активності досліджуваних сполук оцінювали перебіг клінічної картини посткомпресійного періоду.

Отримані в експерименті дані статистично обробляли за допомогою t-критерію Стюдента [10].

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані в експерименті дані (табл. 1) свідчать, що всі досліджувані сполуки виявляють детоксикаційну активність різного ступеня, на що вказує зменшення МСМ у сироватці крові.

Результати визначення рівня МСМ у сироватці крові щурів на фоні ендотоксикозу при СТР доводять, що максимальний детоксикаційний ефект виявляє комплексна сполука на основі германію, магнію й ок-

сіетилідендифосфонової кислоти (МІГУ-6). Про це свідчить її здатність значно (на 49,13 %) знижувати концентрацію МСМ порівняно з контролем, що навіть перевищує досліджуваний показник при застосуванні референтного препарату (тіотриазоліну).

У групах щурів, яким вводили МІГУ-4, МІГУ-5 і ОК-4, спостерігається менш виражений детоксикаційний ефект, який реалізується зменшенням рівня МСМ у сироватці крові щурів на 40,83–44,64 % порівняно з контрольною групою тварин (див. табл. 1).

Подальший аналіз отриманих в експерименті даних свідчить, що доволі незначний детоксикаційний ефект виявляють координаційні сполуки МІГУ-8 і МІГУ-9, при застосуванні яких рівень МСМ у сироватці крові щурів знижується на 37,02 %.

Ще менший детоксикаційний ефект спричинюють такі координаційні сполуки, як МІГУ-1 і МІГУ-3, на фоні застосування яких концентрація МСМ у сироватці крові щурів вірогідно ($P < 0,01$ – $0,001$) знижується на 32,53–33,56 % порівняно з контролем.

Найменшу детоксикаційну активність виявила координаційна сполука МІГУ-2, при застосування якої вміст МСМ у сироватці крові щурів знижується лише на 14,53 %. Сполука ОК-5 майже не чинить детоксикаційного ефекту і не впливає на рівень МСМ.

Наступним етапом дослідження було вивчення впливу координаційних сполук германію на концентрацію ТБК-реактивних у гомогенаті печінки щурів за умов ендотоксикозу при СТР. Аналіз даних у табл. 2 дає підставу стверджувати, що максимальну здатність знижувати концентрацію ТБК-реактивних порівняно з контрольною групою виявляє також сполука МІГУ-6 (на 77,10 %).

У групі щурів, яким попередньо вводили МІГУ-5, від-



**Вплив сполук, що вивчаються, на рівень молекул
середньої маси у сироватці крові щурів
у посткомпресійному періоді СТР, $M \pm m$, $n=6-10$**

Групи тварин	Рівень МСМ, ум. од.	Зменшення рівня МСМ порівняно з контролем, %	Збільшення рівня МСМ порівняно з інтактними тваринами, %
Інтактна	0,108±0,006	62,63	—
Контрольна	0,289±0,010 $P_1 < 0,001$	—	62,60
Тіотриазолін (препарат порівняння)	0,159±0,004 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,001$	44,98	62,63
МІГУ-1	0,192±0,008 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	33,56	70,60
МІГУ-2	0,247±0,010 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,001$	14,53	46,50
МІГУ-3	0,195±0,002 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	32,53	64,10
МІГУ-4	0,160±0,004 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	44,64	73,20
МІГУ-5	0,171±0,007 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	40,83	75,50
МІГУ-6	0,142±0,008 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	49,13	77,10
МІГУ-8	0,182±0,008 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,01$	37,02	68,96
МІГУ-9	0,182±0,018 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$ $P_3 > 0,05$	37,02	66,01
ОК-4	0,160±0,005 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$ $P_3 > 0,05$	44,64	73,21
ОК-5	0,287±0,003 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,001$	1,50	27,47

Примітка. У табл. 1 і 2: P_1 — порівняно з інтактною групою; P_2 — порівняно з контрольною групою; P_3 — порівняно з тіотриазоліном.

мічається зниження концентрації ТБК-реактивів на 75,50 % порівняно з контролем ($P < 0,001$).

Досить помітний ефект щодо зниження концентрації ТБК-реактивів у печінці щурів також спостерігається на фоні введення МІГУ-1, МІГУ-4 та ОК-4 на 70,6–73,2 % порівняно з контрольною групою тварин ($P < 0,001$).

На фоні ж застосування координативних сполук МІГУ-3, МІГУ-8 і МІГУ-9 відмічається лише помірне зниження рівня ТБК-реактивів у гомогенаті печінки щурів — на 64,10–69,96 % порівняно з контролем.

Аналіз отриманих результатів доводить, що дуже низьку детоксикаційну активність має сполука МІГУ-2, що підтверджується зниженням концентрації ТБК-реактивів при її введенні лише на 46,5 %.

Найменшу протекторну активність щодо зниження кінцевих продуктів ПОЛ в умовах даного експерименту реалізує сполука ОК-5.

Слід підкреслити, що тіотриазолін (препарат порівняння) знижує рівень ТБК-реактивів на 74,84 %, це дещо нижче, ніж при застосуванні МІГУ-6.

Отримані дані дістали повне підтвердження і при аналізі клінічної картини СТР за умов застосування досліджуваних координативних сполук германію.

На фоні застосування МІГУ-6 спостерігається найбільш сприятливий перебіг клінічної картини даного екстремального стану порівняно не лише з контролем, а й з групами тварин, яким вводили інші досліджувані сполуки германію. Це виявляється відносно раною (через 1 год) нормалізацією дихання у тварин, яким вводили МІГУ-6, а також доволі швидким відновленням рухової активності. Так, уже через 2 год після декомпресії щури вільно пересувалися по клітці, вживали їжу, пили воду,



Таблиця 2

Вплив сполук, що вивчаються, на рівень ТБК-реактивів у гомогенаті печінки щурів, $M \pm m$, $n=6-10$

Групи тварин	Рівень ТБК-реактивів, нмоль/л	Зменшення рівня ТБК-реактивів порівняно з контролем, %	Збільшення рівня ТБК-реактивів порівняно з інтактними тваринами, %
Інтактні	64,10±3,31	80,40	—
Контроль	327,00±18,00	—	80,40
Тіотриазолін (препарат порівняння)	82,26±8,34 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$	74,84	22,08
МІГУ-1	96,15±7,21 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	70,60	33,30
МІГУ-2	175,00±11,30 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	46,50	63,37
МІГУ-3	117,50±9,46 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,01$	64,10	45,45
МІГУ-4	87,60±10,02 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	73,20	26,83
МІГУ-5	80,13±5,90 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	75,50	20,00
МІГУ-6	74,80±6,76 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	77,10	14,30
МІГУ-8	101,49±9,85 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	68,96	56,84
МІГУ-9	107,90±7,10 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	66,01	40,60
ОК-4	87,60±10,02 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	73,21	26,83
ОК-5	237,18±7,22 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	27,47	72,97

адекватно реагували на тактильні й звукові подразники, а через 4 год тварини ставали на задні лапки. При цьому протягом усього посткомпресійного періоду відмічається відсутність носової кровотечі, значне зменшення набряку задніх кінцівок, а також снюшності ротової порожнини, що спостерігалися в контрольній серії.

Аналізуючи отримані результати, можна дійти висновку, що найвищу детоксикаційну активність в умовах ендотоксикозу посттравматичного генезу при СТР виявляє сполука під лабораторним шифром МІГУ-6, введення якої з лікувально-профілактичною метою характеризується значним зниженням рівня МСМ і ТБК-реактивів і сприятливішим перебігом клінічних симптомів посткомпресійного періоду СТР. Усе це спонукає до подальшого поглибленого вивчення більш тонких детоксикаційних механізмів МІГУ-6.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лук'яничук В. Д., Савченкова Л. В., Болгов Д. М. Синдром тривалого роздавлювання: сучасні уявлення про механізми формування (огляд літератури і власних досліджень) // Журнал АМН України. — 2002. — Т. 8, № 3. — С. 441-455.
2. Кресюн В. Й., Шемонаєва К. Ф., Видавська А. Г. Фармакологічна характеристика сполук германію // Клін. фармація. — 2004. — № 4. — С. 65-68.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / Під ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2002. — 567 с.
4. Биокинетические свойства новых производных германія / В. Й. Кресюн, И. И. Сейфуллина, Е. Ф. Шемонаева, А. Г. Видавская // Досягнення біології та медицини. — 2003. — № 1. — С. 38-44.
5. Болгов Д. М. Лікувально-профілактична ефективність тіотриазоліну при синдромі тривалого роздавлювання: Автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.03.05 / Інститут фармакології та токсикології АМН України. — К., 2003. — 20 с.



6. *Токсикологические* последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев, Е. Л. Левицкий и др. // *Современные проблемы токсикологии*. — 2005. — № 3. — С. 20-26.

7. *Корякина Е. В., Белова С. В.* Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболичес-

ких нарушений (обзор литературы) // *Клин. лабор. диагностика*. — 2004. — № 3. — С. 3-7.

8. *Первушин Ю. В., Бондар Т. П.* Лабораторные методы диагностики синдрома эндогенной интоксикации: Метод. рекомендации. — Ставрополь, 1993. — 86 с.

9. *Стальная И. Д., Гаршвили Г. Г.* Метод определения малоново-

го диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии* / Под ред. В. И. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 57-59.

10. *Иванов Ю. И., Похорелюк О. Н.* Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. — М.: Медицина, 1990. — 219 с.

УДК 577.15(088.8)

І. І. Романовська, І. К. Тагунова, С. М. Пухлік, Р. І. Чаланова

ІММОБІЛІЗАЦІЯ ЛІТИЧНОГО ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ *STREPTOMYCES RECIFENSIS VAR. LYTICUS*

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,
Одеський державний медичний університет

Арсенал застосовуваних літичних ферментів у біотехнології, генній інженерії, медичній практиці оснований на їх безпосередній дії на клітинну стінку мікроорганізмів як антимікробних препаратів [1–4], обмежений переважно лізоцимом. Тому пошук ефективних літичних ферментів, перш за все, мікробного походження, цілеспрямоване отримання їх стабільних, закріплених на носії форм, є актуальною проблемою.

Літичний ферментний комплекс (ЛФК) *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435 (стерилаза), який є препаратом широкого спектра дії, здатний руйнувати клітинні стінки багатьох грамположитивних коків і паличок, грамнегативних бактерій і дріжджів із максимальним її проявом щодо мікроорганізмів родів *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Candida*. У складі комплексу ідентифіковані літичні ендопептидази, α -амілази, нелітичні протеїнази, дезоксирибонуклеази [5]. Ці властивості ЛФК дозволяють використовувати його як потенційний антибактеріальний засіб для ранової, опікової терапії та в інших сферах медицини.

Мета даного дослідження — створення іммобілізованих форм літичного ферментного комплексу *Streptomyces recifensis var. lyticus* на перев'язувальних засобах, у плівках полівінілового спирту, а також вивчення біохімічних особливостей їх функціонування і потенційних можливостей використання в медицині.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використовували літичний ферментний комплекс *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435 у ліофілізованій формі з вихідною літичною активністю 207 700 ОД/г препарату по відношенню до клітин *Lactobacillus bulgaricus* (виробництво НВО «Ензим», Ладизин), наданий НТУУ «КПІ» (канд. біол. наук Л. М. Шинкаренко), лужну протеазу (НВО «Ензим», Ладизин) з питомою активністю 5,54 ОД/мг білка відповідно.

Кількість білка у вільних й іммобілізованих препаратах визначали за методом Лоурі в модифікації Хартрі [6], бактеріолітичну активність — турбідиметрично за величиною оптичної густини інкубаційної

суміші [7]. Як субстрат використовували суспензію клітин *Lactobacillus bulgaricus* з D_{540} — 0,8–0,9. Протеолітичну активність визначали за модифікованим методом Ансона [8] (субстрат — казеїн за Гаммерстейном).

Іммобілізацію проводили з використанням полімерів: полівінілового спирту (ПВС), поліетиленоксиду (ПЕО), ПВС, зшитого бурою [9]: марлю просочували 1%-м розчином бури, висушували при 20 °С, потім повторювали просочування розчином стерилази (або стерилази і лужної протеази) у 10%-му розчині ПВС (виготовленому на 0,01 моль/дм³ Нафосфатному буферному розчині, рН 6,4) і висушували. Димексид вносили у вигляді 4%-го водного розчину в процесі іммобілізації.

Препарати запаювали в поліетиленову плівку, піддавали γ -опроміненню дозою 15 кГр (Білгород-Дністровське ВАТ «Гемопласт») і зберігали при 4 °С.

Полімерні плівки з використанням ПВС готували за такою методикою: до 28 см³ 10%-го розчину ПВС додавали стерилазу в концентрації 10 мг/см³, гліцерин як пласти-

