

тенко, Н. И. Яблчанский // Вестник ХНУ им. В. Н. Каразина. — 2008. — № 831. — С. 104-111.

7. Conaghan P. G. Is progressive osteoarthritis an atheromatous vascular disease? / P. G. Conaghan, H. Vanharanta, P. Dieppe // Ann. Rheum. Dis. — 2005. — Vol. 64. — P. 1539-1541.

8. European Society of Hypertension and European Society of Cardiology 2007. Guidelines for the management of arterial hypertension // Journal of Hypertension. — 2007. — Vol. 25. — P. 1105-1187.

9. Kornaat P. Positive association between increased popliteal artery vessel wall thickness and generalized osteoarthritis; is OA also part of the Metabolic Syndrome? / P. Kornaat, Sharma R Geest van der R., H. Lamb // Skeletal Radiology. — 2008. — Vol. 37. — P. 586.

10. Osteoarthritis: a comorbid marker for longer life? / T. A. Lee, A. S. Pickard, B. Bartle [et al.] // Ann. Epidemiol. — 2007. — Vol. 17. — P. 380-384.

11. The association between morbidity and radiographic hand osteoarthritis: a population-based study / L. Kalichmana, I. Malkinb, G. Livshitsb [et al.] // Joint Bone Spine. — 2006. — Vol. 73. — P. 406-410.

12. Rojas-Rodriguez J. The relationship between the metabolic syndrome and energy-utilization deficit in the pathogenesis of obesity-induced osteoarthritis / J. Rojas-Rodriguez, L. E. Escobar-Linares, M. Garcia-Carrasco // Med. Hypotheses. — 2007. — Vol. 69. — P. 860-868.

УДК 617.735-002-615.099.092:612.085.1

О. П. Сотнікова, Т. Ю. Іванійчук

ВПЛИВ ДЕЯКИХ МЕТАБОЛІТНИХ ЗАСОБІВ НА ВИРАЗНІСТЬ І ТРИВАЛІСТЬ ЦИТОХІМІЧНИХ ЗМІН ОКРЕМИХ СТРУКТУР ЗОРОВОГО АНАЛІЗАТОРА

Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, Одеса

Однією з провідних проблем лікувально-профілактичної медицини є пошук науково обґрунтованих методів і засобів для підвищення опірності організму до шкідливого впливу різноманітних зовнішніх і внутрішніх факторів [2; 6; 7; 10–12]. Враховуючи зростаючу кількість ретинопатій, що виникають через несприятливі екологічні умови життя, токсичний вплив лікарських препаратів та інше, актуальною є порівняльна оцінка дії метаболітних засобів, у тому числі і біогенної природи, на зоровий аналізатор інтактних тварин [13; 14]. Науковий інтерес викликає розкриття особливостей максимального метаболічного відгуку клітинних елементів сітківки та зорової кори на вплив різних за механізмом своєї дії метаболітних засобів. При цьому їх терапевтична ефективність багато в чому може залежати не тільки від виразності, а й від тривалості постстимуляційних змін хімізму структур зорового аналізатора, що виникають.

У зв'язку з цим метою даного дослідження є порівняльний аналіз отриманого фактичного матеріалу з позицій визначення тривалості і виразності слідових цитохімічних реакцій, що розвиваються у відповідь на курсові впливи ін'єкцій мареполімієлу, цистеїну й аскорбінової кислоти.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводили в лабораторії фармакології і тканинної терапії Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, яка сертифікована Державним фармакологічним центром МОЗ України. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувалися рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин [1], методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України та вимог Комісії з біоетики Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П.

Філатова (протокол № 8 від 7.11.2006 р.) [4; 9].

Дослідження виконані на 61 щурі обох статей лінії Вістар (57 дослідних і 4 контрольних — інтактних) масою 150–250 г. Проведено три серії експериментів. У **I серії** тваринам підшкірно вводили мареполімієл (ТУУ 24.4-02012094-001-2001) щодня протягом 3 тиж. з розрахунку 0,1 мл/кг. У **II серії** вивчалася фармакологічна дія цистеїну («Здоров'я», Україна), що вводився щурам підшкірно протягом 10 днів оптимальною дозою 100 мг/кг. А **III серію** дослідів було присвячено вивченню впливу аскорбінової кислоти («Дарниця», Україна), яку вводили внутрішньом'язово (15 мг/кг) 10 днів. Контролем у всіх серіях дослідів слугували інтактні тварини.

Взяття матеріалу залежно від умов експерименту проводилося в різні терміни після припинення курсового введення зазначених препаратів.

Евтаназія тварин, що утримувалися на стандартному водно-



харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі, відбувалася шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Досліджено сітківку (цитоплазма гангліозних клітин та ядра фоторецепторів) і зорову кору (цитоплазма нейронів і ядра гліальних клітин поля 17, шарів 3, 5). Для виявлення аміногруп білків застосовували реакцію А. Jasuma, Т. Ichikawa (1953). За даними G. Pearse (1962) [8], гістохімічно можна виявити первинні аміни: NH_2 -групи кінцевих амінокислот і аміногрупи лізину.

Тіолові сполуки визначали методом R. Barnett, A. Zeligman (1954) [5], застосовуючи як відновник дисульфідних груп унітіол (2,3-димеркаптопропансульфонат натрію), запропонований з цією метою Л. М. Герштейн (1962) [4]. За описаною методикою виявляли білки, що мали в своєму складі сірковмісні амінокислоти: цистеїн і цистин.

Виявляли РНК за прописом L. Einarson (1951) [5] з ферментативним контролем на специфічність шляхом використання РНК-ази.

Результати всіх експериментів оброблені за допомогою комп'ютерного пакета програм "Excel" та "Statistica 6,0" з використанням критерію Стюдента при ймовірності помилки $P < 0,05$ [3].

Результати дослідження та їх обговорення

Мареполімієл — біостимулятор, виготовлений з концентрату морської води, що належить до групи натуральних метаболітичних препаратів. Він містить природний комплекс метаболітів у вигляді металоорганічних сполук і солей мікроелементів, а також органічних речовин.

Отримані в експерименті дані дають можливість говорити про зниження рівня РНК і тіолів ($P < 0,05$) у досліджуваних структурах сітківки порівняно з контролем, який приймається за 100 % оптичної густини, у період з 1 год до 1 доби після курсового введення мареполімієлу (рис. 1, 2).

Надалі проявлявся стимулюючий ефект препарату, й оп-

тична густина РНК, сульфгідрильних і дисульфідних груп значно перевищувала контрольні значення.

Зафіксовано вірогідне підвищення оптичної густини сульфгідрильних груп у гангліозних клітинах і фоторецепторах сітківки на 35 і 24 % ($P < 0,05$) відповідно (див. рис. 2). Через 3 доби сталося зниження їх рівня: у гангліозних клітинах на 32 %, у фоторецепторах — на 18 %. Дисульфідні характеризувалися односпрямованістю змін, які були кількісно менш виразними порівняно з SH-групами. Тривалість цього періоду для тіолів у гангліозних клітинах становила 5 днів, у фоторецепторах — до 3 днів.

Зміни оптичної густини NH_2 -груп у сітківці після курсового введення мареполімієлу були односпрямованими з РНК, але менш виразні кількісно.

У зоровій корі зміни РНК, аміногруп і тіолів характеризувалися підвищеним рівнем їх у нейронах. Оптична густина досліджуваних інгредієнтів у глії була значно нижчою від контрольних значень.

Так, після закінчення введення мареполімієлу в нейронах зорової кори зареєстровано збільшення рівня РНК на 23 % і NH_2 -груп — на 19 % ($P < 0,05$). У глії спостерігалася протилежна спрямованість процесу, де концентрація РНК знижувалася на 22 % аж до 5 днів.

% відносно інтактних показників, РНК

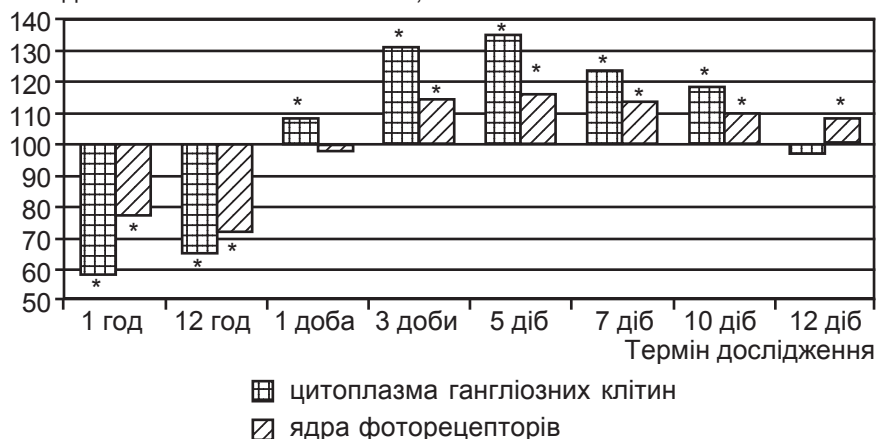


Рис. 1. Стан РНК у сітківці щурів після курсового введення мареполімієлу. На рис. 1–5: * — вірогідність різниці щодо контролю ($P < 0,05$)

% відносно інтактних показників, тіоли

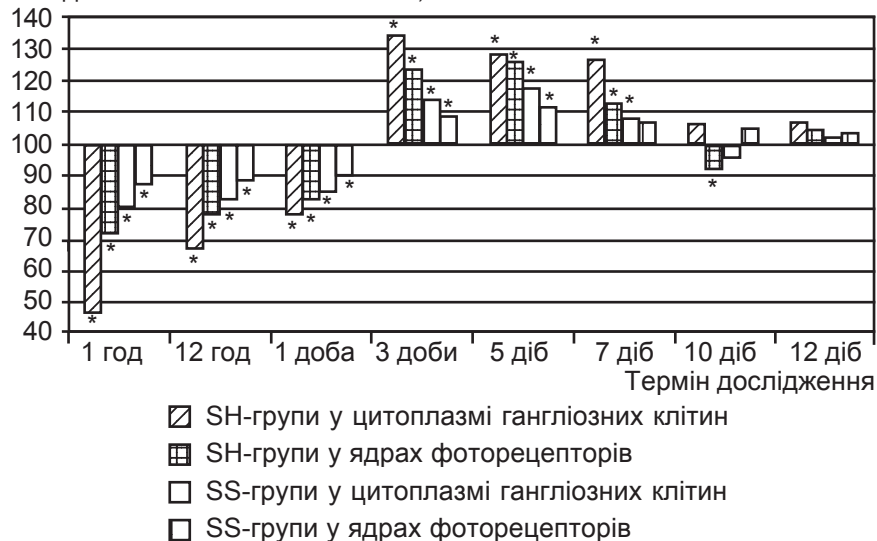


Рис. 2. Оптична густина тіолів у сітківці щурів після курсового введення мареполімієлу



Зміни оптичної густини РНК у гангліозних клітинах і фоторецепторах сітківки щурів після курсового введення цистеїну

Група тварин	Вид клітин	Оптична густина РНК, ум. од., $M \pm m$, $n=100^*$	Процент до контролю, %
Інтактна	Цитоплазма гангліозних клітин	72,80±1,44	100
	Ядра фоторецепторів	11,40±0,22	100
Через 0,5 год після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	90,00±1,87*	123,6
	Ядра фоторецепторів	13,10±0,25*	114,9
Через 12 год після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	97,20±2,03*	133,5
	Ядра фоторецепторів	13,50±0,28*	118,4
Через 1 добу після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	98,40±2,31*	135,2
	Ядра фоторецепторів	14,00±0,32*	122,8
Через 3 доби після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	95,20±2,19*	130,8
	Ядра фоторецепторів	13,50±0,34*	118,4
Через 5 дів після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	84,20±1,62*	115,7
	Ядра фоторецепторів	12,60±0,27*	110,5
Через 7 дів після введення препарату	Цитоплазма гангліозних клітин	77,90±1,65*	107,0
	Ядра фоторецепторів	10,60±0,25*	93,0

Примітка. * — вірогідність різниці щодо контролю ($P < 0,05$).

У цей же термін зниженою була й оптична густина аміногруп, у середньому на 18 % ($P < 0,05$).

Зміни тіолів у нейронах зорової кори за спрямованістю були подібні до інших інгредієнтів. Дисульфідні кількісно були менш виразні, тимчасом як для SH-груп середні значення були трохи вищими. Контрольні величини сульфгідрильних груп реєструвалися через 12 дів, а дисульфідних — через 10. У глії оптична густина SH-груп була значно зниженою, у середньому на 27 % ($P < 0,05$) до 12 год. Після невеликого підвищення в період від 1 до 3 дів знову відбулося вірогідне зниження її на 24 % через 5 дів, в інші терміни вона залишалася практично незмінною. У глії спостерігалось зниження рівня дисульфідів у середньому на 14 % ($P < 0,05$) до 5 дів включно.

Цистеїн є найважливішим донатором сульфгідрильних груп для організму. SH-група, що входить до складу молекули цієї амінокислоти, може окиснюватись як спонтанно, так і під впливом ферментів. Продукти, що утворюються при цьому, як і сам цистеїн, беруть участь у реакціях трансамінування. Розщеплення його під впливом дисульфогідрокси при-

водить до утворення пірвинуградної кислоти та сірководню.

Через годину після курсового введення цистеїну в гангліозних клітинах сітківки рівень РНК був підвищений на 24 % ($P < 0,05$) (таблиця). Його максимум відзначався через 1 добу (35 % ($P < 0,05$)). У фоторецепторах концентрація РНК збільшувалася в середньому на 16 %. Зазначені зміни реєструвалися в досліджуваних структурах сітківки до 5 дів включно.

Подібних із РНК змін зазнавали й аміногрупи. Однак для

NH₂-груп вони були менш виразні кількісно. Період післядії збігався з таким для РНК.

Період підвищення оптичної густини сульфгідрильних груп у гангліозних клітинах і фоторецепторах сітківки (у середньому на 45 і 27 % відповідно) через 3 доби змінювався її зниженням (гангліозні клітини — у середньому на 28 %, фоторецептори — у середньому на 19 % ($P < 0,05$)) (рис. 3). Дисульфідні характеризувалися односпрямованістю змін, які були кількісно менш виразні порівня-

% відносно інтактних показників, тіоли

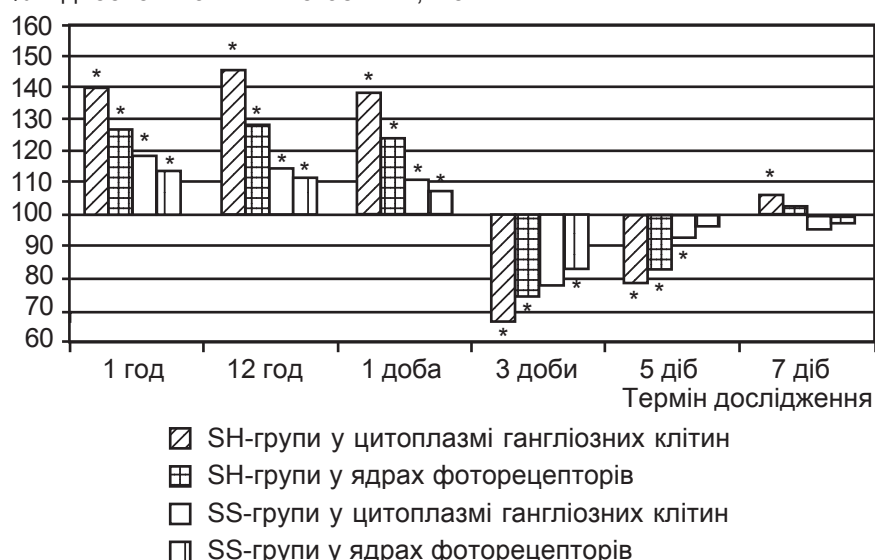


Рис. 3. Стан тіолів у сітківці щурів після курсового введення цистеїну



но з SH-групами. До 5-ї доби реєструвалася стабілізація рівня сульфгідрильних і дисульфідних груп у гангліозних клітинах і до 3-ї — у фоторецепторах.

У зоровій корі відмічалася зниження концентрації РНК у глії на 17 % і, меншою мірою, на 12 % — аміногруп ($P > 0,05$). При цьому контрольних величин оптична густина РНК досягла через 7 діб, а аміногруп — через 10 діб.

Рівень SH-груп у нейронах зорової кори через 1 год і протягом 1-ї доби після припинення введення цистеїну знижувався в середньому на 22 % ($P < 0,05$). Наступні терміни характеризувалися вірогідним підвищенням концентрації сульфгідрильних груп на 28 %. Їх рівень у глії знижувався в період від 12 год до 1 доби. У подальшому зміна оптичної густини SH-груп у глії була односпрямованою з нейронами, але менш виразною.

У нейронах зорової кори вже через 1 год після курсового впливу цистеїну рівень дисульфідів вірогідно знижувався на 36 % ($P < 0,05$). До 7 діб він був нижчим від контрольних значень. У глії зміна оптичної густини SS-груп носила односпрямований, але менш виразний характер порівняно з нейронами.

Аскорбінова кислота завдяки дієнольній групі, що міститься в її молекулі, характеризується виразними відновними властивостями. Вона бере участь у регулюванні окисно-відновних процесів, вуглеводного обміну, згортання крові, у регенерації тканин, в утворенні стероїдних гормонів, а також використовується при синтезі колагену та проколагену, для нормалізації проникності капілярів.

У всіх структурах сітківки, що досліджувалися, рівень РНК після введення аскорбінової кислоти аж до 1 доби був вищим від контрольних значень (у гангліозних клітинах у середньому

на 31 %, а в фоторецепторах — на 24 % ($P < 0,05$)) (рис. 4). Ці зміни в гангліозних клітинах реєструвалися до 5 діб, а в фоторецепторах — до 3.

Цитохімічні зміни оптичної густини NH_2 -груп у цитоплазмі гангліозних клітин і в ядрах фоторецепторів сітківки характеризувалися більшою виразністю порівняно з РНК. При цьому вони були односпрямовані та відзначені тривалістю до 3 діб.

Зміни сульфгідрильних груп характеризувалися в сітківці фазністю (рис. 5). Після значного падіння рівня SH-груп у період з 1 до 12 год (у середньому на 34 %) реєструвався його підйом ($P < 0,05$). У гангліозних клітинах він становив у

середньому 20 %, а в фоторецепторах був менш виразний — у середньому 14 % ($P > 0,05$). Як і для аміногруп, зміни оптичної густини сульфгідрильних груп реєструвалися до 5 діб.

Рівень дисульфідів у сітківці після деякого підйому в перші два терміни (у середньому на 15% ($P > 0,05$)) до 1 доби досягав контрольних значень у всіх досліджуваних структурах сітківки (див. рис. 5).

У нейронах зорової кори рівень РНК, як і NH_2 - і сульфгідрильних груп, був вірогідно підвищений аж до 5 діб (у середньому на 26, 25 і 32 % відповідно). У глії процес був спрямований протилежно. Оптична густина РНК тут знижувалася в середньому на 14 %, NH_2 -груп

% відносно інтактних показників, РНК

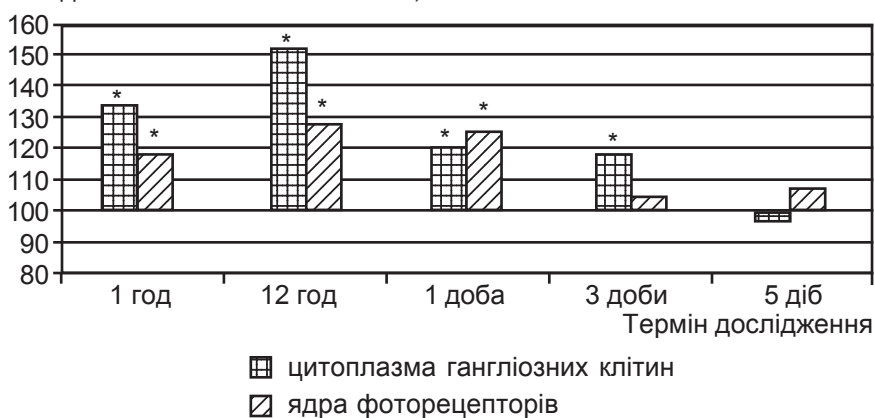


Рис. 4. Стан РНК у сітківці щурів після курсового введення аскорбінової кислоти

% відносно інтактних показників, тіоли

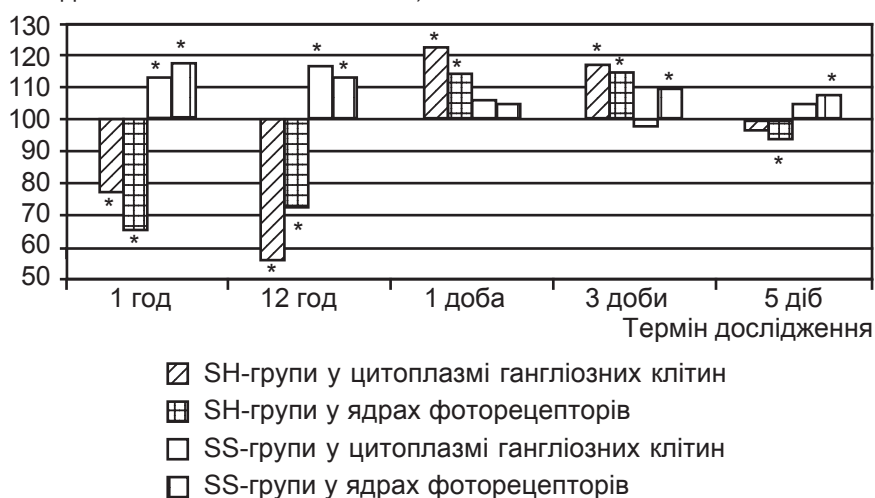


Рис. 5. Стан тіолів у сітківці щурів після курсового введення аскорбінової кислоти



— на 18 %, SH-груп — на 23 % аж до 3 діб.

Зміни дисульфідів були односторонніми з іншими інгредієнтами, але менш виразні кількісно (у середньому 15 % ($P > 0,05$)). Вони реєструвалися до 3 діб у нейронах і до 1 доби — у глії.

Висновки

1. Грунтуючись на результатах проведених досліджень, можна говорити про те, що у відповідь на введення фармакологічних засобів до реакції активно залучаються всі досліджувані структурні елементи сітківки та зорової кори. Подібність змін у різних системах свідчить про загальногліальну реакцію центральної нервової системи на фармакологічну дію досліджуваних препаратів.

2. При всіх видах фармакологічних впливів клітина проявляє неспецифічний характер цитохімічних реакцій. З фактичного матеріалу випливає, що в результаті курсового введення лікарських препаратів у зоровому аналізаторі встановлюється новий характер білкового метаболізму, який реєструється тривалий час після припинення введення препаратів. Треба думати, спричинений фармакологічним впливом метаболічний ритм запам'ятовується нейронами.

3. З огляду на загалом відносно невелику амплітуду виявлених цитохімічних змін можна припустити, що в результаті курсового застосування фармакологічних засобів метаболічної природи, біосинтетичний матеріал перебудовує свою роботу на більш економний ритм. Цим, мабуть, і пояснюється різке збільшення тіолів, що спостерігається в усіх структурах у перший термін після впливу. Подальше помірне їх витрачання, очевидно, спрямоване на підтримку оптимального режиму постстимуляційних метаболічних проявів.

3. Конкретні умови експерименту, зокрема вид метаболічних засобів, відображаються на

метаболізмі нейронно-гліальних комплексів лише в ранній період після впливу (до 1 доби) і є, таким чином, визначальним критерієм в оцінці розвитку, закріплення та збереження слідових змін РНК і білків.

Виразність дії досліджуваних препаратів характеризується певною послідовністю: аскорбінова кислота — цистеїн — мареполімієл. Це розходження особливо виявилось у ранній термін.

Разом із тим, вивчені препарати за тривалістю фармакологічної дії мають чіткі відмінності та характеризуються зворотним зростанням: аскорбінова кислота — цистеїн — мареполімієл. Так, аскорбінова кислота справляла короточасну стимулюючу дію (до 3 діб) на вивчені структури зорового аналізатора. Перевага натурального препарату мареполімієлу пов'язана з його більш тривалим фармакологічним ефектом — до 10–12 діб, тимчасом як цистеїну належить проміжне положення.

ЛІТЕРАТУРА

1. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes* // Council of Europe. — Strasbourg, 1986. — 53 p.

2. *Рациональное дозирование витаминных препаратов у геріатрії* / І. Безверха, М. Заїка, Т. Пантелеймонова, Л. Шарабура // Вісник фармакології та фармації. — 2007. — № 10. — С. 17–21.

3. *Галанц С. Медико-биологическая статистика* / С. Галанц ; пер. с англ. : Ю. А. Данилова, Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. — М. : Практика, 1999. — 459 с.

4. *Герштейн Л. М. К методу гистохимического выявления аминопептидазы в нервной ткани* / Л. М. Герштейн // Цитология. — 1965. — № 6–7. — С. 769–773.

5. *Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації* / за ред. О. В. Стефанова. — К. : Авіценна, 2001. — 527 с.

6. *Кисели Д. Практическая микротехника и гистохимия* / Д. Кисели ; науч. ред. Д. Ромханы ; пер. с венг. : Г. Дьенеш, И. Пушкаш. — Будапешт : Изд-во АН Венгрии, 1962. — 400 с.

7. *Лелека М. В. Розробка лікарського препарату у вигляді капсул на*

основі квіткового пилку та янтарної кислоти : дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.01 / М. В. Лелека. — Х., 2005. — 19 с.

8. *Сравнение эффективности инъекционных и таблетированных форм витаминов группы В при лечении полинейропатий* [Электронный ресурс] / И. С. Луцкий, Я. А. Гончарова, С. К. Евтушенко [и др.] // Международный неврологический журнал. — 2009. — № 1. — Режим доступа : <http://neurology.mif-ua.com/archive/issue-8053/article-8080/>

9. *Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная)* / Э. Пирс. — М. : Иностранная литература, 1962. — 962 с.

10. *Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах : (методичні рекомендації)* / уклад. О. Г. Резніков [та ін.] // Вісник фармакології та фармації. — 2006. — № 7. — С. 47–61.

11. *Особенности терапевтического действия препарата ноотропного ряда Луцетам* [Электронный ресурс] / Г. М. Румянцева, О. В. Чинкина, Т. М. Левина [и др.] // Качественная клиническая практика. — 2002. — № 1. — Режим доступа : <http://medi.ru/doc/9920106.htm>

12. *Ряднова В. В. Антиоксиданты в комплексной терапии диабетических ангиоретинопатий (клинико-экспериментальное исследование)* : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.28 / В. В. Ряднова. — К., 2003. — 20 с.

13. *Сафронова Н. С. Підвищення адаптаційних можливостей організму при комбінуванні фізичних навантажень з мілдронатом та біологічно активними добавками до їжі* : автореф. дис. ... канд. біол. наук : спец. 03.00.13 [Електронний ресурс] / Н. С. Сафронова. — Сімф., 2006. — 20 с. — Режим доступу : <http://links.dir.com.ua/linkinfo.php?linkID=14284>

14. *Сотникова Е. П. Экспериментальные основы применения препаратов тканевой терапии по В. П. Филатову* / Е. П. Сотникова // Нове в офтальмології : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 130-річчю з дня народження акад. В. П. Філатова, 13 трав. 2005 р., Одеса : тези. — О., 2005. — С. 55–57.

