

Таблиця 3

Показник двопронезаломлення кристалічної речовини нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому на 30-ту добу сулемової нефропатії за даними кореляційно-оптичного дослідження, $\chi \pm S\chi$, n=12

Показники, ум. од.	Контроль	Тубуло-інтерстиційний синдром	P
Кіркова речовина			
M	0,060±0,004	0,120±0,004	<0,001
D	0,090±0,004	0,120±0,004	<0,001
A	2,820±0,065	4,360±0,078	<0,001
E	18,310±0,267	33,670±0,492	<0,001
Мозкова речовина			
M	0,050±0,004	0,140±0,005	<0,001
D	0,090±0,005	0,110±0,005	<0,02
A	4,010±0,092	5,650±0,145	<0,001
E	19,560±0,444	40,350±0,516	<0,001
Сосочок			
M	0,070±0,004	0,150±0,004	<0,001
D	0,120±0,004	0,160±0,004	<0,001
A	4,370±0,133	8,590±0,197	<0,001
E	21,50±0,28	52,340±0,764	<0,001

Становлять інтерес подальші наукові дослідження щодо використання кореляційно-оптичної діагностики для оцінки ефективності корекції патологічних змін нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому шляхом застосування препаратів з антинефро-склеротичним механізмом дії типу GA-40.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині

/ В. П. Пішак, О. Г. Ушенко, О. В. Ангельський та ін. / За ред. В. П. Пішака і О. Г. Ушенко. — Чернівці: Медакадемія, 2000. — С. 194-205.

2. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: Навч.-метод. посібник / В. М. Магальяс, А. О. Міхеєв, Ю. Є. Роговий та ін. — Чернівці: Буковин. держ. мед. акад., 2001. — 42 с.

3. Пішак В. П., Білококий В. В., Роговий Ю. Є. Універсальність ушкодження проксимального каналця при захворюваннях нирок // Клін. та

експерим. патологія. — 2005. — Т. 4, № 1. — С. 72-76.

4. Пішак В. П., Гоженко А. І., Роговий Ю. Є. Тубуло-інтерстиційний синдром. — Чернівці: Медакадемія, 2002. — 221 с.

5. Особливості патогенезу тубуло-інтерстиційного синдрому в сочках нирок і застосування Wobe Migos E для його корекції / В. П. Пішак, Ю. Є. Роговий, В. П. Шаповалов та ін. // Одес. мед. журнал. — 2004. — № 1. — С. 17-21.

6. Пішак В. П., Роговий Ю. Є. Тубуло-інтерстиційний синдром — основа швидкого прогресування і розвитку хронічного патологічного процесу нирок // Досягнення біології та медицини. — 2004. — № 1 (3). — С. 60-64.

7. Роговий Ю. Є., Савка В. Г. Патологічний аналіз кореляційно-оптичної діагностики кіркової речовини нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому // Вісник наук. досліджень. — 2006. — № 1. — С. 108-110.

8. Роговий Ю. Є., Савка В. Г. Патологічний аналіз кореляційно-оптичної діагностики мозкової речовини нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому // Бук. мед. вісник. — 2006. — Т. 10, № 1. — С. 79-82.

9. Laser polarization visualization and selection of biotissue images / O. V. Angelsky, A. G. Ushenko, D. N. Burkovets, Yu. A. Ushenko // Optica Applicata, 2002. — Vol. 32, N 4.

10. Ushenko A. G. Polarization correlative and wavelet analysis of dynamics of changes in orientation-phase structure of tissue architectonics // Proc SPIE. — 2002. — Vol. 4900. — P. 1323-1326.

УДК 617.713-002-02:578.81-07:577.1-092.9

В. Й. Салдан, С. Г. Коломійчук

ВПЛИВ 20 % СУЛЬФАЦИЛ-ГУМІНАТУ НА АКТИВНІСТЬ ЛІЗОСОМАЛЬНИХ ФЕРМЕНТІВ РОГІВКИ І ПЛАЗМИ КРОВІ НА ФОНІ БАКТЕРІАЛЬНОГО КЕРАТИТУ

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

Вступ

Розробка нових офтальмопрепаратів для адекватної терапії запальних реакцій переднього відділу ока є актуальним завданням фармако-

логії. Особливої уваги заслуговують тканинні препарати за В. П. Філатовим, які мають широкий спектр біологічної дії.

У лабораторії фармакології і тканинної терапії інституту

ім. В. П. Філатова отримана високоактивна субстанція з торфу — гумат натрію (гумінат) — стандартний порошок і розчин натрієвої солі гумінових кислот. Субстанція має



широкий спектр фармакологічної дії — підвищує неспецифічну резистентність організму, надає біорегулювальний вплив на метаболічні та регенераторні процеси, стимулює імунобіологічну реактивність [5]. На її основі розроблені очні краплі 20 % сульфацил-гумінату — комплексне сполучення сульфацилу натрію з гумінатом. Препарат містить n-параамінобензол-сульфацетамід натрію і натрієві солі гумінових кислот торфу, амінокислоти, мікроелементи [11–13].

До складу гумінових речовин входять гумінові, гематомеланові та фульвокислоти. Гумінові кислоти — це конденсація поліфенолів, амінокислот, вуглеводів, ферментів та інших метаболітів. Саме хімічний склад цих речовин визначає їх високу фармакобіологічну активність. У лужному середовищі вони легко переходять у розчинний стан. Препарати гумату натрію (таблетки, розчини для ентерального та парентерального введення) проявляють виразні антитоксичні, антигіпоксичні й антиоксидантні властивості [3; 5; 9; 13].

Відомо, що гумінові речовини підвищують проникність біомембран. Вперше цю гіпотезу висловив Ліске [15]. А. Г. Баталкін із співавт. [1; 2], досліджуючи вплив гумінових речовин на проникність штучних гептанових мембран (адекватна модель плазматичних мембран), встановили, що гуміновий екстракт підвищує провідність мембран і надає їм селективної проникності до катіонів ($K^+ > Na^+ > H^+$). Отримані результати свідчать про «іонофорні» властивості гумінових речовин і здатність проникати крізь гідрофобну зону біологічних мембран. Ці дані підтвердили дослідники на живих організмах (клітинах харчової водорості) [14]. А. І. Горова (1995) припускає два можливих механізми дії гумінових речовин: 1) надходження їх в клітину і включення в ме-

таболізм; 2) вплив на мембрану і змінення їх провідності та проникності. На її думку, обидва ці механізми можуть функціонувати паралельно, зумовлюючи відповідні реакції клітин на ці речовини у нормальних і екстремальних умовах [3].

Лізосоми, як відомо, є внутрішньоклітинними органелами з одношаровою мембраною, в яких знаходиться понад 60 гідролітичних ферментів (нуклеаз, протеїназ, глікозидаз, ліпаз та ін.). Ці ферменти при порушенні цілісності лізосомальної мембрани здатні за допомогою гідролізу розщеплювати будь-які клітинні структури [7; 8]. У нормі лізосоми за допомогою власних ферментів знешкоджують залишки «віджилих» ультраструктур, чужорідні агенти, які надходять у клітину, і беруть участь у внутрішньоклітинній регенерації органел [10].

Виконуючи складні й різноманітні функції, лізосоми посідають важливе місце у механізмі розвитку багатьох патологічних процесів. Це пов'язано, перш за все, з тим, що порушення структури лізосом спричиняє часткові або повні зміни їх функцій — припинення чи ослаблення активності лізосомальних ферментних систем або їх патологічну активацію, що при ушкодженні структурної цілісності цих органел призводить до втрати захисних механізмів і розвитку патологічних процесів [7; 8]. Підвищений вихід лізосомальних ферментів у цитозоль клітини може зумовлюватися не тільки механічним розривом мембрани, але й значним підвищенням проникності (лабілізацією) останньої. Лабілізація мембран лізосом може виникати внаслідок внутрішньоклітинного ацидозу, дії продуктів переокисного окиснювання ліпідів, токсинів та інших агентів [8; 10].

Тому, враховуючи мембранотропні властивості гумінових

кислот [14], мета нашого дослідження полягала у вивченні специфічної фармакологічної дії очних крапель 20 % сульфацил-гумінату на стан лізосомальних мембран рогинок кроликів на фоні бактеріального кератиту.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були плазма крові та диски рогинок очей 28 кроликів: 21 із модельованим бактеріальним кератитом [12] і 7 інтактних тварин (контроль без патології). Кролики з модельованим кератитом були розподілені на три групи по 7 тварин у кожній: перша — інстиляції фізіологічного розчину (контрольна патологія); друга — 20 % сульфацил натрію (СН); третя — 20 % сульфацил-гумінату (С-Г). Інстиляції проводили тричі на день протягом 2 тиж.

Враховуючи, що вихід лізосомальних ферментів у кров відбувається не тільки при деструкції клітин, але й при підвищенні проникності клітинних мембран, ми визначали активність кислої фосфатази та катепсину Е в плазмі крові до моделювання бактеріального кератиту та на 3, 7, 14-й день експерименту.

На 15-й день тварин виводили з експерименту методом кисневої емболії у стані тіопенталового наркозу. Очі енуклеювали, рогинок гомогенізували в 0,9%-му розчині хлориду натрію у співвідношенні 1 : 19 (маса : об'єм).

Неседиментуючу активність лізосомальних ферментів рогинок визначали у надосадовій рідині після центрифугування гомогенату тканини при 16 300 г протягом 20 хв. Седиментуючу (зв'язану) активність досліджуваних ферментів визначали у фракції лізосом, осаджених після промивання і ресуспендування отриманого осаду.

Стан мембран лізосом оцінювали, використовуючи визначення активності неседи-



Активність кислої фосфатази в плазмі крові кроликів при моделюванні бактеріального кератиту, мккат/л

Група дослідження	Стат. показники	Плазма, мккат/л			
		Термін, доба			
		0	3	7	14
Контроль (без патології)	M±m %	5,2±0,4 100	5,4±0,4 103,8	5,0±0,3 96,0	5,3±0,4 101,9
Контрольна патологія (фіз. р-н)	M±m % % ₁	4,9±0,3 100 100	7,8±0,5* 159,2 100	7,3±0,4* 149,0 100	6,2±0,12* 126,5 100
20 % СН	M±m % % ₁	5,0±0,3 100 102,0	7,5±0,6* 150,0 96,2	6,4±0,5* 128,0 87,7	5,7±0,3* 114,0 91,9
20 % С-Г	M±m % % ₁	5,1±0,4 100 104,1	6,6±0,5* 129,4 84,6	6,1±0,3** 119,6 83,6	5,3±0,4 103,9 85,5

Примітка. У табл. 1–3: *P < 0,05 — вірогідність щодо вихідного рівня; **P₁ < 0,05 — вірогідність щодо контрольної патології.

ментуючої та зв'язаної активності ферментів, а також враховуючи загальноприйняте положення, що зміна співвідношення вільної та зв'язаної активності лізосомальних ферментів є об'єктивним критерієм змінення стабільності мембран цих внутрішньоклітинних органел [8].

Активність лізосомальних ферментів визначали з використанням відповідних спектрофотометричних методів: для кислої фосфатази (КФ 3.13.2) — субстрат п-нітрофенілфосфат [4], а для катепсину Е (КФ 3.4.23) — альбумін сироватки людини [6].

Статистична обробка результатів проведена з використанням t-критерію для залежних (при порівнянні даних активності ферментів у плазмі крові по відношенню до вихідного рівня) і незалежних вибірок за комп'ютерною програмою "Statistica 5.5".

Результати дослідження та їх обговорення

Лізосоми є органелами, що присутні в усіх клітинах ссавців, у латентному стані вони містять значну кількість ферментів, які регулюють різні сторони обміну речовин. Досліджувана кисла фосфатаза бере участь в обміні фосфору і вважається типовим маркерним ферментом лізосом, який знаходиться як в їх мембранах, так і в матриксі. Субстратом для її дії є фосфорні ефіри [8].

Проведені дослідження показали, що активність кислої фосфатази у плазмі крові кролів із бактеріальним кератитом суттєво змінюється залежно від терміну спостереження (табл. 1).

У плазмі крові тварин усіх груп відмічено вірогідне підвищення активності кислої фосфатази на 3-тю добу порівняно з вихідним рівнем. Слід зазначити, що в групі з лікуванням С-Г цей показник був найнижчим — (6,6±0,5) мккат/л.

На 7-му добу спостерігали вірогідне зниження цього показника в усіх групах. На 14-ту добу в контрольній групі та групі з лікуванням СН спостерігалось зменшення активності кислої фосфатази, але воно залишалось вірогідно високим порівняно з вихідним рівнем. При цьому інстиляції С-Г спричинили більш значне зменшення активності кислої фосфатази, ніж у групі контрольної патології.

Таким чином, у групі з інстиляцією С-Г, на відміну від групи з СН, активність кислої фосфатази знизилася практично до вихідного рівня (норми).

Другий фермент, визначений нами (катепсин Е), належить до групи ферментів-пептидогідролаз, що розщеплюють пептидні зв'язки, і діє аналогічно пепсину. Дані активності катепсину Е у плазмі крові кроликів подаються в табл. 2.

Активність катепсину Е в плазмі крові була суттєво підвищена на 3-тю і 7-му добу як у групі з контрольною патологією (147 і 135 % відповідно), так і в групі при інстиляціях СН (132 і 117 % відповідно) щодо вихідного рівня. При застосуванні С-Г активність зазначеного ферменту на 3-тю

Таблиця 2

Активність катепсину Е в плазмі крові кроликів при моделюванні бактеріального кератиту, мккат/л

Група дослідження	Стат. показники	Плазма, мккат/л			
		Термін, доба			
		0	3	7	14
Контроль (без патології)	M±m %	1,38±0,10 100	1,36±0,11 98,6	1,35±0,12 97,8	1,40±0,11 101,4
Контрольна патологія (фіз. р-н)	M±m % % ₁	1,42±0,12 100 100	2,09±0,15* 147,2 100	1,92±0,13* 135,2 100	1,73±0,12* 121,8 100
20 % СН	M±m % % ₁	1,46±0,12 100 102,8	1,92±0,15* 131,5 91,9	1,71±0,14* 117,1 89,1	1,52±0,13 104,1 87,9
20 % С-Г	M±m % % ₁	1,39±0,09 100 97,9	1,82±0,11* 130,9 87,1	1,56±0,10** 112,2 81,3	1,45±0,12 104,3 83,8



добу експерименту була вірогідно підвищена (сягала 131 %), але вже на 7-му добу знизилася до 112 % ($P < 0,05$) порівняно з вихідними даними і до 81 % ($P < 0,05$) відносно контролю з патологією. На 14-ту добу спостереження активність катепсину Е вірогідно була підвищена тільки в контрольній групі з патологією (122 %) порівняно з вихідним рівнем, а в групах із С-Н і С-Г показник суттєво не відрізнявся від норми.

Застосування С-Н і, особливо, С-Г сприяло зниженню активності катепсину Е в плазмі крові при всіх термінах спостереження як відносно вихідних даних, так і до групи контролю з патологією.

Результати активності лізосомальних ферментів (кисла фосфатаза і катепсин Е) в рогівці очей кроликів через 2 тиж після відтворення бактеріального кератиту наведені в табл. 3.

Проведені дослідження показали, що неседиментуюча активність кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кролів при запаленні зростає на 46,4 і 67,2 %, а зв'язана — зменшується до 52,3 і 68,9 % відповідно порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,05$).

При інстиляціях СН неседиментуюча активність кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці

становила 125,6 і 131,4 %, а зв'язана — 68,6 і 80,3 %, відповідно порівняно з контрольною групою без патології ($P < 0,05$). При порівнянні даних з групою, що отримувала тільки фізіологічний розчин, відзначалося вірогідне підвищення тільки зв'язаної активності кислої фосфатази до 131,2 %.

При застосуванні С-Г неседиментуюча і зв'язана активність досліджуваних ферментів у рогівці вірогідно не відрізнялася від норми (контроль без патології), а при порівнянні з групою тварин, що отримувала тільки фізіологічний розчин, вірогідно змінювалась і становила у разі неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е 79,3 і 71,0 %, а зв'язаної активності — 153,2 і 128,2 % відповідно.

Аналіз співвідношення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кролів із бактеріальним кератитом до зв'язаної активності цих ферментів свідчить, що при порівнянні з нормою цей показник у разі кислої фосфатази збільшився у 2,8 разу (4,08 при нормі 1,45), а катепсину Е — у 2,4 разу (1,32 при нормі 0,543).

Таким чином, при бактеріальному кератиті спостерігається значна дестабілізація мембран лізосом рогівки, про що

свідчать високі показники досліджуваних ферментів у цитоплазматичній фракції на фоні зниження їх активності в лізосомальній фракції.

При застосуванні СН співвідношення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кроликів із бактеріальним кератитом до зв'язаної активності цих ферментів зменшилося до 2,74 і 0,887 відповідно.

Інстиляції С-Г сприяли ще більшому зниженню цього показника — до 2,08 у разі кислої фосфатази і до 0,729 у разі катепсину Е.

Таким чином, застосування С-Г виявляє кращу, при порівнянні з СН, мембранотропну дію на лізосоми рогівки при бактеріальному кератиті, під час якого, як зазначено вище, спостерігали суттєву лабілізацію лізосомальних мембран у рогівці, зумовлену запаленням.

Висновки

1. Відмічено підвищення активності лізосомальних ферментів (кисла фосфатаза, катепсин Е) у плазмі крові при моделюванні бактеріального кератиту у кроликів.

2. Встановлено вірогідне підвищення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е на фоні зниження зв'язаної активності цих

Таблиця 3

Активність кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кроликів при моделюванні бактеріального кератиту, нкат/г тканини

Група дослідження	Стат. показник	Кисла фосфатаза		Катепсин Е	
		Неседиментуюча активність	Зв'язана активність	Неседиментуюча активність	Зв'язана активність
Контроль (без патології)	$M \pm m$ %	82,3±5,4 100	56,4±3,4 100	20,4±1,2 100	37,6±1,4 100
Контрольна патологія (фіз. р-н)	$M \pm m$ % % ₁	120,5±2,6* 146,4 100	29,5±2,1* 52,3 100	34,1±2,6* 167,2 100	25,9±2,1* 68,9 100
20 % СН	$M \pm m$ % % ₁	105,4±7,2* 125,6 87,5	38,4±2,4*,** 68,6 131,2	26,8±2,3* 131,4 78,6	30,2±2,4* 80,3 116,3
20 % С-Г	$M \pm m$ % % ₁	95,6±6,3** 116,2 79,3	45,9±4,2** 80,1 153,2	24,2±1,9** 118,6 71,0	33,2±1,8** 88,3 128,2



ферментів, що свідчить про зниження стабільності мембран лізосом при бактеріальному кератиті в рогівці.

3. Встановлено значне збільшення співвідношення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кроликів із бактеріальним кератитом до зв'язаної активності цих ферментів, що свідчить про дестабілізацію лізосомальних мембран, зумовлену запаленням.

4. Лікувальне застосування 20 % сульфацил-гумінату при бактеріальному кератиті у кроликів сприяло нормалізації біохімічних показників у плазмі крові та стабілізації лізосомальних мембран рогівки порівняно з 20 % сульфацилом натрію.

ЛІТЕРАТУРА

1. *О природе действующего начала физиологически активных гуминовых кислот* / Г. А. Баталкин, А. М. Галушка, Л. Ю. Махно, Л. А. Христова // Труды Междунар. симп. IV и II комиссий МТО. — Минск, 1982. — С. 115-119.

2. *О мембранной активности некоторых фракций гумусовых веществ* / Г. А. Баталкин, М. М. Коганов, Л. Ю. Махно, В. А. Реутов // Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. — Днепропетровск: Изд-во Днепропетр. с.-х. ин-та, 1980. — Т. 7. — С. 67-73.

3. *Горова А. И., Орлов Д. С., Щербенко О. В.* Гуминовые вещества. — К.: Наук. думка, 1995. — 300 с.

4. *Дингл Дж.* Лизосомы. Методы исследования. — М.: Мир, 1980. — 342 с.

5. *Лотош Т. Д.* Гумат натрия из торфа как фактор повышения неспецифической резистентности организма: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Львов, 1985. — 19 с.

6. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследования в клетке. — М.: Медицина, 1987. — 366 с.

7. *Мусил Я.* Основы биохимии патологических процессов. — М.: Медицина, 1985. — 416 с.

8. *Покровский А. А., Тутельян В. Н.* Лизосомы. — М.: Наука, 1976. — 382 с.

9. *Посохова А. Н.* Экспериментальное медико-биологическое обоснование пищевого использования гумата натрия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Владивосток, 2004. — 25 с.

10. *Саркисов Д. С., Пальцев М. А., Хитров Н. К.* Общая патология че-

ловека. — М.: Медицина, 1977. — 605 с.

11. *Декларацийний патент на винахід № 64624А.* Очні краплі (Україна) / О. П. Сотнікова, В. Й. Салдан, Т. Д. Лотош та ін. Заявл. Опубл. 16.02.04. — Бюл. № 2.

12. *Влияние сочетанного применения глазных капель сульфацила натрия и гумината на стабилизацию лизосомальных мембран роговицы и плазмы крови в эксперименте* / Е. П. Сотникова, Н. Ф. Леус, Т. Д. Лотош и др. // Тези X з'їзду офтальмологів України. — Одеса, 2002. — С. 57-58.

13. *Експериментальне обґрунтування лікувальної ефективності і нешкідливості нових очних крапель 20 % сульфацил-гумінату і 0,1% гумінату* / О. П. Сотнікова, В. Й. Салдан, В. Л. Осташевський та ін. // Одес. мед. журнал. — 2005. — № 5. — С. 44-48.

14. *Юрин В. М., Желяева Т. Г., Кособокова Р. В.* Модификация ионной проницаемости протоплазматической мембраны клеток Nitella под действием физиологически активных соединений торфа // Труды Междунар. симп. IV и II комиссий МТО. — Минск, 1982. — С. 83-87.

15. *Liske K.* Untersuchungen über die Verwendbarkeit von Kohler als Dungemittel // Brennstoff-chemie. — 1931. — Vol. 1, N 81. — S. 426.

УДК 612.386:664.3.033.1:615.322

О. В. Сторчило, О. А. Багірова

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕМУЛЬГАТОРІВ НА ВСМОКТУВАННЯ ГЛЮКОЗИ І ГЛІЦИНУ В ПРИСУТНОСТІ ДЕЯКИХ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ТА ЇХ ФРАКЦІЙ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Повноцінне всмоктування в тонкій кишці екстрактів рослин, що містять жири та жиророзчинні компоненти, суттєво залежить від емульгуючого впливу жовчі. Як поверхнево-активні речовини у тонкій киш-

ці використовуються солі жовчних кислот і продукти неповного гідролізу триацилгліцеролів та фосфоліпідів, але головна роль у цьому процесі належить жовчним кислотам. Вони надходять до тонкої кишки у вигляді кон'югатів із гліцином

або таурином [1]. Жовч виконує багато функцій в організмі: емульгує жири їжі, що переводить їх у водорозчинну форму, активує ліпазу, яка перетравлює ліпіди, полегшує транспорт ліпідів через стінку тонкої кишки в кров та ін.

