УДК 614.876/878:616.36-055.6-08-092.9

О. О. Маркова, В. О. Ульянов

ПРОФІЛАКТИКА СТРЕСІНДУКОВАНИХ ПОРУШЕНЬ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ПОПЕРЕДНИКІВ

Одеський державний медичний університет

Розробка шляхів регуляції метаболічних процесів у організмі людини та тварин, які зазнали негативного впливу факторів навколишнього середовища, залишається однією із актуальних проблем сучасної медичної науки. Сьогодні провідними негативними факторами впливу на людину є тривале іонізуюче випромінювання у малих дозах і соціальний стрес [1; 2]. Несприятливий стан екології та соціально-побутових умов проживання, які вони формують, сприяли поширенню серед населення різних видів соматичної патології [3–5].

У численних роботах, присвячених вивченню механізмів біологічної дії хронічного опромінення в малих дозах, підтверджена можливість закріплення в геномі ушкоджень радіаційного генезу та передачі зміненої генетичної інформації нащадкам [4; 6]. Нащадки опромінених попередників можуть інакше реагувати на несприятливі фактори довкілля [7]. Доведено також, що стрес може бути як головним, так і додатковим етіологічним фактором багатьох захворювань [8]. На жаль, нині недостатня увага приділяється профілактиці негативних наслідків поєднаної дії опромінення та стресу і практично відсутні дані щодо розробки напрямків фармакологічної корекції стресіндукованих зрушень в організмі нащадків опромінених ссавців.

Мета роботи: з'ясувати ефективність комбінації препаратів «Тіотріазолін» і «Берлітіон» для запобігання стресіндукованих порушень енергетичного обміну в печінці тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням щурів.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проведено на 80 щурах лінії Вістар віком 3–4 міс. Відповідно до мети дослідження усіх тварин було розподілено на 4 групи: 1) інтактні тварини (контроль); 2) інтактні тварини, в яких моделювали хронічний емоційно-больовий стрес; 3) отримані від опромінених самців і самок тварини, в яких моделювали хронічний емоційно-больовий стрес; 4) отримані від опромінених самців і самок тварини, яким під час моделювання хронічного стресу вводили «Берлітіон» і «Тіотріазолін». Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію ОДМУ. Дослідження проведені з додержанням науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин і роботи з ними [9] та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей».

Опромінення експериментальних тварин проводили на γ-терапевтичній установці АГАТ-Р при потужності дози 107 рад/хв; відстані від джерела до поля 75 см. Разова доза становила 0,1 Гр при експозиції 6 с; опромінення проводили кожні 72 год до досягнення сумарної дози 1,0 Гр. Спарювали тварин через 12 діб після завершення опромінення.

У щурів першого покоління, отриманого від опромінених попередників, після досягнення статевої зрілості (3-тя–4-та групи) та у тримісячних інтактних щурів (2-га група) моделювали хронічний емоційно-больовий стрес [10]. При цьому стадія тривоги тривала перші чотири доби, стадія резистентності — з 5-ї по 14-ту, стадія виснаження — після 15-ї доби.

Препарат α-ліпоєвої кислоти («Берлітіон») вводили внутрішньовенно із розрахунку 7,5 мг/кг маси тіла на добу. «Тіотріазолін» вводили 1 раз на добу внутрішньовенно з розрахунку 9 мг/кг маси тіла тварини. Дозу для тварин розраховували згідно з методичними рекомендаціями [10]. Препарати вводили з 1-ї по 17-ту добу відтворення хронічного стресу. Застосування α-ліпоєвої кислоти пов'язане з її антиоксидантними властивостями, здатністю нормалізувати енергетичний обмін, а також знижувати рівень ендогенної інтоксикації [11; 12]. Застосування «Тіотріазоліну» пов'язане з його антиоксидантними, мембраностабілізуючими властивостями, здатністю зберігати резерви АТФ [13]. Зазначені препарати відповідають таким загальним вимогам до стреспротекторних засобів [10], як здатність посилювати природні стреслімітуючі системи, мінімальний вплив на організм у звичайних умовах, можливість термінового використання.

Тварин забивали шляхом швидкої декапітації на 3-тю (стадія тривоги), 7-му (стадія резистентності) та 17-ту (стадія виснаження) добу від початку відтворення хронічного стресу. Після розтину черевної порожнини вилучали печінку, гомогенізували її та визначали вміст макроергічних

сполук. Кількісне визначення вмісту аденілових нуклеотидів у супернатантах гомогенатів тканин печінки проводили спектрофотометрично. Принцип методу визначення АТФ полягав у такому. В результаті послідовних реакцій:

1) 3-фосфогліцерат + АТФ $\xrightarrow{\text{3-фосфогліцераткіназа}}$ 1,3-дифосфогліцерат+АДФ;

2) 1,3-дифосфогліцерат + НАД·Н + H^+ $\xrightarrow{\text{гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа}}$ гліцеральдегідфосфат + $P_н$ + $НАД^+$;

3) гліцеральдегідфосфат $\xrightarrow{\text{тріозофосфатізомераза}}$ діоксіацетонфосфат;

4) діоксіацетонфосфат $\xrightarrow{\text{ГДГ}}$ гліцерол-1-фосфат + $НАД^+$

зменшується концентрація АТФ. Кількість АТФ, що прореагувала у фосфогліцераткіназній реакції, еквімолярна зменшенню вмісту НАД·Н, який реєструвався спектрофотометрично [14].

Суть методу, за яким визначався вміст АДФ і АМФ, полягає в тому, що на першому етапі:

1) АДФ + фосфоенолпіруват $\xrightarrow{\text{піруваткіназа}}$ АТФ + піруват;

2) піруват + НАД·Н + H^+ $\xrightarrow{\text{лактат-ДГГ}}$ $НАД^+$ + лактат,

У результаті піруваткіназної реакції реєструвалося зменшення вмісту НАД·Н, еквімолярне кількості АДФ, а на другому етапі:

3) АМФ + АТФ $\xrightarrow{\text{міокіназа}}$ 2 АДФ

Унаслідок міокіназної реакції утворюється 1/2 АМФ (на 1 мкмоль АМФ — 2 мкмоль $НАД^+$) [15]. Вміст АМФ, АДФ й АТФ виражали в мікромолях на грам тканин печінки.

Отримані дані статистично оброблялися за допомогою програмного забезпечення Statistica v 5.5 з використанням критерію Ньюмена — Кейлса.

Результати дослідження та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що тканини печінки інтактних статевозрілих щурів містять (0,640±0,031) мкмоль/г АМФ; (1,130±±0,062) мкмоль/г АДФ; (1,540±0,054) мкмоль/г АТФ. При відтворенні хронічного емоційно-больового стресу в інтактних тварин на стадії тривоги спостерігалося зростання вмісту АДФ й АТФ у тканинах печінки відповідно на 26,8 і 34,4 %. При цьому зміни вмісту АМФ були статистично не вірогідними (таблиця). Зростання вмісту АДФ й АТФ у тканинах печінки є ознакою підвищення інтенсивності гідролізу глікогену для забезпечення перебудови органів і систем організму на роботу в нових умовах [16]. На стадії резистентності хронічного стресу вміст АМФ не зазнавав істотних змін, а рівні АДФ і АТФ дещо знижувалися, але все ще перевищували показники інтактних тварин на 15 і 17,1 % відповідно. Отже, підтримання підвищеної резистентності організму під час відтворення хронічного стресу забезпечується збільшеним утворенням у тканинах печінки макроергічних сполук. Нарешті, на стадії виснаження хронічного емоційно-больового стресу ми спостерігали зростання вмісту АМФ у тканинах печінки на 18,9 %, а вміст АДФ і АТФ зменшувався на 11,1 і 18 % відповідно. Наведені зрушення були ознакою вичерпання адаптивних можливостей організму.

При відтворенні хронічного стресу в нащадків опромінених тварин виявлено якісно іншу відповідь тканин печінки на вплив агресивних фак-

Таблиця

Вміст макроергічних сполук у тканинах печінки уражених стресом щурів, M±m, n=7, мкмоль/г тканин печінки

Група	Показник	Стадія стресу		
		Тривога	Резистентність	Виснаження
Стрес у інтактних щурів (2-га група)	АМФ	0,650±0,032	0,640±0,022	0,75±0,03*1
	АДФ	1,420±0,052*1	1,28±0,04*1,4	1,000±0,039*1,5
	АТФ	2,07±0,09*1	1,800±0,072*1,4	1,30±0,04*1,5
Стрес у нащадків опромінених щурів (3-тя група)	АМФ	0,81±0,03*1,2	0,720±0,026*1,2,4	0,84±0,02*1,2,5
	АДФ	1,25±0,04*2	1,150±0,044*2	0,930±0,042*1,5
	АТФ	1,80±0,07*1,2	1,520±0,053*2,4	1,00±0,05*1,2,5
Профілактика стресу (4-та група)	АМФ	0,65±0,03*5	0,67±0,02	0,70±0,03*3
	АДФ	1,38±0,05*1,3	1,450±0,052*1,3	1,12±0,05*3,5
	АТФ	2,02±0,07*1,3	1,95±0,08*1,3	1,560±0,067*3,5

Примітка. *1 — P<0,05 порівняно з інтактними тваринами; *2 — P<0,05 порівняно з 2-ю експериментальною групою; *3 — P<0,05 порівняно з 3-ю експериментальною групою; *4 — P<0,05 порівняно зі стадією тривоги; *5 — P<0,05 порівняно зі стадією резистентності.

торів навколишнього середовища. На стадії тривоги виявлено зростання вмісту АТФ на 17 % і лише тенденцію до зростання вмісту АМФ. Разом із цим тканини печінки містили на 28,6 % більше АМФ. У сукупності це може свідчити про те, що мобілізація енергетичних ресурсів у гепатоцитах недостатньо ефективна, що може спричинити значне зниження резистентності організму на початковій стадії розвитку хронічного стресу. Надалі, на стадії резистентності хронічного стресу, вміст АМФ знижувався, проте все ж перевищував показники інтактних тварин на 14 %. При цьому вміст АДФ і АТФ не відрізнявся від такого в інтактних тварин. Отже, забезпечення організму енергетичними ресурсами на стадії резистентності хронічного стресу у нащадків опромінених щурів відбувається менш ефективно, ніж при відтворенні хронічного стресу у нащадків інтактних щурів. Те саме спостерігалося і на стадії виснаження хронічного стресу, коли тканини печінки нащадків опромінених щурів містили на 17 % менше АДФ і на 35,1 % менше АТФ, ніж у інтактних тварин. Вміст АТФ виявився на 23,1 % нижчим також і при порівнянні з тканинами печінки нащадків інтактних щурів на стадії виснаження хронічного стресу.

Застосування комбінації «Берлітіону» та «Тіотріазоліну» призводило до зменшення порушення енергетичного обміну в тканинах печінки нащадків опромінених щурів при відтворенні хронічного емоційно-больового стресу. На всіх стадіях експериментального хронічного стресу вміст АМФ у тканинах печінки не відрізнявся від показників інтактних щурів. На стадії тривоги у тварин, які отримували корекцію (4-та група), тканини печінки містили відповідно на 10,4 і 12,2 % більше АДФ і АТФ, ніж у нащадків опромінених щурів, які не отримували препаратів під час відтворення стресу (3-тя група). На стадії тривоги в тканинах печінки щурів 4-ї групи визначалося більше АДФ і АТФ відповідно на 26,1 та 28,3 %, а на стадії тривоги — на 19,1 і 56 %, ніж у тварин 3-ї групи. Слід зазначити, що лише у тварин 4-ї групи на стадії виснаження хронічного стресу тканини печінки містили стільки ж АДФ і АТФ.

Таким чином, проведені дослідження виявили якісно іншу реакцію нащадків опромінених у малих дозах щурів на відтворення хронічного емоційно-больового стресу. Не виключено, що виявлені зрушення є наслідком виникнення радіаційно-індукованої нестабільності геному в соматичних клітинах, зокрема гепатоцитах, яка фенотипічно проявляється порушеннями енергетичного обміну в екстремальних умовах.

Антиоксидантні властивості α-ліпоєвої кислоти та тіотріазоліну, протидіючи активації вільнорадикального окиснення, зокрема в печінці, забезпечували адекватний дії стресогенного фактора енергетичний обмін. Останнє має значення як місцево у печінці, так і для підтримання резистентності в цілому, з урахуванням того, що печінка є «метаболічним мозком» організму. Збереження вмісту АДФ і АТФ у 4-й експериментальній групі на рівні інтактних тварин на стадії виснаження хронічного стресу, на нашу думку, демонструє здатність тіотріазоліну зберігати резерви АТФ. У сукупності ж динаміка розвитку хронічного емоційного стресу в 4-й експериментальній групі вказує на ефективність зазначеної комбінації препаратів для профілактики стресіндукованих зрушень енергетичного обміну, в результаті чого стадія виснаження хронічного стресу, вочевидь, розвивається пізніше, а резистентності триває довше.

Висновки

1. Порушення енергетичного обміну під час моделювання хронічного емоційно-больового стресу кількісно та за напрямком відрізняються у нащадків опромінених і інтактних тварин.

2. Використання «Тіотріазоліну» і «Берлітіону» зменшує, але не виключає, негативного впливу хронічного стресу на енергетичний обмін у печінці.

Перспективи подальших досліджень: необхідно з'ясувати механізми розвитку хронічного стресу, а також дослідити морфофункціональний стан гепатоцитів й ефективність регенерації при відтворенні хронічного стресу в нащадків опромінених щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Мультифакторіальні* хвороби: спадкова схильність та вплив чинників оточуючого середовища як основа підвищення рівня ендокринних захворювань та сфера профілактичних заходів / О. І. Тимченко, О. В. Горіна, М. М. Гвоздяк та ін. // Хірургія України. — 2004. — № 3. — С. 119-122.

2. *Бариляк І. Р., Бердишев Г. Д., Бонь О. В.* Генофонд народонаселення України: сучасний стан та нові підходи до проблеми захисту і збереження // Цитология и генетика. — 2001. — № 3. — С. 66-71.

3. *Омельчук С. Т.* Морфологическое обоснование необходимости проведения мониторинга здоровья населения Украины в зависимости от экологической ситуации // Довкілля та здоров'я. — 2000. — № 4. — С. 8-12.

4. *Гриневич Ю. А., Демина Е. А.* Иммунные и цитогенетические эффекты плотно- и редкоионизирующих излучений. — К.: Здоров'я, 2006. — 200 с.

5. *Генофонд* і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля, напрямки профілактики генетично обумовленої патології / А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда та ін. — К.: ІГМЕ АМН України, 2003. — 191 с.

6. *Палыга Г. Ф., Чибисова О. Ф.* Последствия для потомства двух поколений облучения беременных самок крыс Вистар в малых дозах в период закладки репродуктивной системы плодов. Развитие потомства первого поколения // Радиац. биол. Радиоэкология. — 2003. — Т. 43, № 4. — С. 439-442.

7. *Мазурик В. К., Михайлов В. Ф.* Радиационно-индуцированная нестабильность генома: фенотип, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // Там же. — 2001. — Т. 41, № 3. — С. 272-289.

8. *Психологическая* составляющая здоровья человека в современных условиях / В. Ф. Москаленко, С. Д. Максименко, В. Е. Милерян, Ю. В. Быць // Клін. та эксперим. патологія. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 5-8.

9. *Науково-практичні* рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. — К.: Авіценна, 2002. — 156 с.

10. *Доклинические* исследования лекарственных средств (Метод. рекомендации) / Под ред. чл.-кор. АМН Украины О. В. Стефанова. — К.: Авиценна, 2001. — 528 с.

11. *Лукьянчук В. Д., Немятых О. Д.* Современный взгляд на фармакологию α-липоевой кислоты (Берлитиона) // Журнал практ. лікаря. — 2003. — № 3. — С. 61-65.

12. *Pershadsingh H. A.* Alpha-lipoic acid: physiologic mechanisms andindications for the treatment of metabolic syndrome // Expert. Opin. Investig. Drugs. — 2007. — Vol. 16, N 3. — P. 291-302.

13. *Компендиум-2000/2001* — лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. — К.: Морион, 2001. — 1456 с.

14. *Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer H. U.* Adenosin-5'-triphosphat. Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase // Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemic Weinchein, 1974. — S. 2147-2151.

15. *Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer H. U.* Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase // Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemic Weinchein, 1974. — S. 2178-2181.

16. *Барабой В. А.* Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс, 2006. — 462 с.

УДК 615.212.7:615.276

В. І. Опришко

ВИВЧЕННЯ АНАЛГЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ КОМБІНАЦІЇ ТРАМАДОЛУ З НЕСТЕРОЇДНИМИ ПРОТИЗАПАЛЬНИМИ ЗАСОБАМИ

Дніпропетровська державна медична академія

Минуле сторіччя ознаменувалося значними досягненнями в дослідженні шляхів регуляції функцій ноци- й антиноцицептивної систем мозку. Однак і дотепер деякі важливі аспекти цієї проблеми залишаються не розв'язаними. Зокрема, не до кінця розроблені способи посилення ефективності знеболювання при болях різного ступеня інтенсивності, а також методи профілактики й корекції побічних ефектів аналгетиків різних груп. У зв'язку з цим важливим кроком для покращання медикаментозної аналгезії є розробка нових комбінацій лікарських засобів, що мають більш сильний аналгезивний ефект і не потребують підвищення дози компонентів для його досягнення, а також поєднують значну знеболювальну здатність із задовільною переносимістю та зниженням побічних ефектів [1; 2].

Трамадолу гідрохлорид належить до групи опіоїдних аналгетиків. Як агоніст опіатних мюрецепторів він також активує норадренергічну й серотонінергічну протибольові системи, внаслідок чого пригнічує передачу больових імпульсів на спінальному рівні. Це сприяє отриманню швидкої й досить сильної аналгезії, що проявляється як в експерименті [3], так і в клініці. Трамадол — четвертий за частотою вживання аналгетик у світі [4]. Установлена його висока аналгетична активність при малих хірургічних втручаннях у дітей [5] і в післяопераційному періоді у дорослих [6], у хворих травматологічного й ортопедичного профілю [7]; значний ефект відзначався при «судинних» болях, пов'язаних із запальним ураженням судин [8], при болях в онкології (є основним препаратом симптоматичної терапії в лікуванні болю помірної інтенсивності у даної категорії хворих) [9]. Цінним є те, що цей сильнодіючий аналгетик (поступається морфіну за знеболювальною активністю усього у 4–5 разів) зовсім несуттєво пригнічує дихання [10] і практично не впливає на серцево-судинну систему, має невеликий наркогенний потенціал [11; 12] і виявляє слабкий розвиток толерантності при тривалому застосуванні [2].

У літературі небагато даних про взаємодію трамадолу з іншими лікарськими засобами. Повідомляється про посилення його аналгезивного ефекту в поєднанні з напроксеном, ібупрофеном, парацетамолом [13] — уже створений комплексний препарат Залдіар, що містить невеликі дози парацетамолу й трамадолу; розроблені схеми комплексного лікування післяопераційного больового синдрому із застосуванням комбінацій трамадолу й кеторолаку, ацетилсаліцилової кислоти [14]. Взаємодія інших нестероїдних препаратів із трамадолом не вивчена, хоча їхні комбінації патогенетично виправдані й сприяють посиленню центральних