

16. Bodansky O. Acid phosphatase / O. Bodansky // Adv. Clin. Chem. – 1972. – Vol.15. – P.143-147.
17. Boelen A. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine, contributes to the pathogenesis of non-thyroidal illness mainly via the central part of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis / A. Boelen, J. Kwakkel, M. Platvoetter Schiphorst // Eur. J. Endocrinol. – 2004. – Vol. 151, №4. – P. 497-502.
18. Isman C.A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C.A. Isman, B.C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – Vol. 177, №3. – P. 471-476.
19. Mezosi E. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes / E. Mezosi, J. Szabo, E.V. Nagy // J. Endocrinol. – 2005. – Vol. 185, №1. – P. 121-129.
20. Marino F. Thyroid hormone regulation of cell migration and oxidative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy / F. Marino, L. Guasti, M. Cosentino // Life Sci. – 2006. – Vol. 78, №10. – P. 1071-1077.
21. Rao M. K. Extracellular metabolism of thyroid hormones by stimulated granulocytes / M.K. Rao, A.L. Sagone // Infect Immun. – 1984. – Vol. 43, №3. – P. 846-849.
22. Tenorio-Velazquez V.M. Hypothyroidism attenuates protein tyrosine nitration, oxidative stress and renal damage induced by ischemia and reperfusion: effect unrelated to antioxidant enzymes activities. / V.M. Tenorio-Velazquez, D. Barrera, M. Franco // BMC Nephrol. – 2005. – №6. – P.12.
23. Wiederanders B. Accumulation of inactive cathepsin D in old rats / B. Wiederanders, B. Oelke // Mech. Ageing Dev. – 1982. – Vol. 24. – № 3. – P. 265-271.

### Реферати

#### ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРОЛИКОВ С ХИМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ РОГОВИЦЫ НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛ-ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРОЗА

Савчук З. Л.

С целью изучения влияния экспериментального гипотироза на состояние эндогенной интоксикации у кроликов с химическим ожогом роговицы было проведено определение маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы, эритроцитарного и лейкоцитарного индексов интоксикации, а также исследовано активность лизосомальных протеаз – катепсина D и кислой фосфатазы. Гипотироз у кроликов вызывали введением мерказолила в дозе 10 мг/кг в течение 60 суток. Химический ожог роговицы моделировали путем аппликации фильтровальной бумаги, смоченной 1 N NaOH в течение 30 секунд. Ожоговая травма роговицы у кроликов на фоне гипотироза сопровождалась подавлением активности лизосомальных ферментов – катепсина D и кислой фосфатазы в гомогенате роговицы и более интенсивным, по сравнению с euthyroidными животными, маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы, эритроцитарного и лейкоцитарного индексов интоксикации.

**Ключевые слова:** химический ожог роговицы, гипотироз, эндогенная интоксикация.

Стаття надійшла 17.03.2015 р.

#### INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT RABBITS WITH THE CHEMICAL BURN OF CORNEA AT THE BACKGROUND OF MERKAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

Savchuk Z. L.

To study the influence of experimental hypothyroidism on the state of endogenous intoxication at rats with the chemical burn of cornea markers of endogenous intoxication – molecules of average mass, erythrocyte and leukocyte indices of intoxication were determined. It was also investigated the activity of lysosomal proteases – cathepsin D and acid phosphatase. Hypothyroidism at rats was caused by the injection of merkazolil at a dose of 10 mg/kg for 60 days. Chemical burn of cornea was simulated by the application of filter paper saturated with 1 N NaOH for 30 seconds. Burning injury at rats at the background of hypothyroidism was accompanied by the suppression of the activity of lysosomal enzymes – cathepsin D and acid phosphatase in homogenate of cornea and more intense, as compared with euthyroid animals, markers of endogenous intoxication – molecules of average mass, erythrocyte and leukocyte indices of intoxication.

**Key words:** chemical burns of the cornea, hypothyroidism, endogenous intoxication.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 577.16+615.356

Н. В. Сальникова

Одеський національний університет ім. В. І. Мечникова, м. Одеса

#### КІЛЬКІСНЕ ВИДЛЕННЯ КоА, ПАК, 4-Ф-ПН ПРИ ГІПОКСІЇ ЗАМКНЕНОГО ПРОСТОРУ НА ОСНОВІ ІОНООБМІННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Гіпоксія замкнутого простору (ГЗП) призводить до підвищення рівня пантотенової кислоти в печінці і крові. При попередньої ін'єкції препарату ПАК-Са також спостерігається підвищення пантотенової кислоти у крові та печінці.

**Ключові слова:** пантотенова кислота, 4-фосфопантетеїн, КоА, метаболіти, гіпоксія.

Біохімічна роль пантотенової кислоти і її коферменту А досить добре вивчені [4]. Так само відомо, що КоА є не єдиним ацилюючим метаболітом пантотенату [1, 3]. Відомі численні реакції перенесення ацильних груп, в яких КоА бере участь, як кофермент. Серед них особливо важливе місце належить утворенню і метаболічному перетворенню «активної» оцтової кислоти (ацетил КоА). Біохімічні функції інших виявлених в тварин тканинах похідних ПАК, крім 4-Ф-ПН, що є простетичною групою АПБ, практично обмежуються процесами біосинтезу КоА. Необхідно лише відзначити участь 4-Ф-ПН і дефосфо-КоА в реакціях ферментативного трансацилювання,

оскільки відомо, що до 30% «активного» ацетату в гепатоцитах знаходиться у формі ацетил-дефосфо-КоА і ацетил-4-Ф-ПН ацетил-бензоїлу, а реакційна здатність цих сполук у ферментній системі трансацетилювання практично не відрізняється від КоА. Можлива участь цих аналогів КоА в мікросомальному біосинтезі гліцеридів, подібно до того як дефосфо-КоА функціонує в ковалентно зв'язаній формі в сукцинаттіокиназі. В 1976р. Ізомер дефосфо-КоА був ідентифікований, як простетична група АПБ цитратліази з *klebsiella aerogenes*.

В числі природних аналогів ПАК слід назвати гомопантотенову кислоту - речовину, що містить у своїй структурі  $\gamma$ -аміномасляну кислоту (ГАМК) замість  $\beta$ -аланіну. Функції гомопантотената повністю не відомі. Деякі дослідники вважають, що гомопантотенова кислота є особливо активною або резервною формою ГАМК у нервовій тканині.

Таким чином, реакційною ділянкою молекули КоА у біохімічних реакціях є SH група, тому прийнято скорочене позначення КоА у вигляді HS-КоА. Про найважливіше значення КоА в обміні речовин свідчить обов'язкова особиста участь його в основних біохімічних процесах: окислення і біосинтезу вищих жирних кислот, окислювальне декарбоксілювання 2-оксокислот (піруват, 2-оксоглутарат), біосинтез нейтральних жирів, фосфоліпідів, стероїдних гормонів, гемма гемоглобіну, ацетилхоліну, гіпурової кислоти та ін.

Харчова недостатність по пантотенової кислоти у тварин призводить до різноманітних порушень, наприклад, до затримки росту, зниження плодючості, шлунково-кишкових уражень, нервово-м'язових проявів, дерматологічних проявів, некрозу надниркових залоз і раптової смерті.

Фармакологічні препарати, що містять пантотенат, використовуються для корекції та профілактики захворювань шкіри (різні гелі, шампуні). До найважливіших властивостей вітаміну B5 належить швидке утворення здорової тканини при опіках, виразках, ангулярном стоматиті та інших [6]. Визначення окремих метаболітів пантотенової кислоти до теперешнього часу достатньо не розроблено [8]. Ще менше даних в літературі, що стосується метаболізму пантотенової кислоти при екстремальних станах [7].

**Метою** роботи було вивчення впливу ГЗП на метаболізм пантотенату. У відповідності з цим були поставлені завдання з вивчення пантотенової кислоти, 4-Ф-пантетеїна, КоА в печінці і крові білих щурів при дії ГЗП.

**Матеріали та методи дослідження.** В експериментах використовували білих лабораторних щурів вагою 180-210 грам. Тварин піддавали гіпоксії замкнутого простору. До цього їх поміщали під герметично закриті ковпаки та витримували протягом 50 хвилин. Після цього тварин забивали, керуючись вказівками «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів або в інших наукових цілях».

Для дослідження використовували наступні органи: печінка, кров. Дуже важлива попередня обробка центрифугата прокип'яченого екстракту печінки дітіотрейтолом протягом 30хв, так як при цьому відбувається відновлення окислених і ацильованих форм КоА і 4-Ф-ПН.

У 2 мл гомогенату, 1 мл 0,1 М дітіотрейтола, 1мл 1М трис-НСІ буфера (8,3) змішуються, рН знижується до 5 з допомогою 1 н НСІ.

Використовується комерційний препарат ДЕАЕ-целюлози з ємністю 0,81 мекв/г, який використовується після активації буферним розчином(7) суспензірується у воді (рН 6,5). На колонку наносять 4 мл проби, елюювання здійснюється лінійним градієнтом 400 мл розчину хлористого літію (0-0,075 М LiCl в 0,003 н. НСІ. Відбувається елюювання в ступінчастому градієнті від 0,02 мл до 0,08 мл LiCl. В зібраному елюаті, визначали загальний білок спектрофотометричним методом по біуретовій реакції.

По 3,0 мл елюату відмірювали в пробірку, що містить 0,1 мл 0,11 М розчину глутатіону, 0,03 мл свіжоприготованого розчину бікарбонату натрію (1М) і 0,2 мл реакційної суміші. Реакційну суміш готували наступним чином: 10 мл 0,2 М розчину лимоннокислого натрію, 2,5 мл 1М розчину оцтовокислого натрію і 7 мл водного розчину, що містить 220 мг АТФ, змішували, доводили рН суміші до 7,0 додаванням 1 N розчину їдкого калію і суміш розводили водою до 20мл. Далі в пробірку з досліджуваним розчином додавали 0,35 мл розчину апофермента, а також воду до загального об'єму 1,03 мл. До суміші швидко додавали видуванням з мікропіпетки 0,1 мл 0,0033 М розчину п-ААБ в 60%-ном спирті і негайно ж ставили на інкубацію у водяну баню при 37° на 30 хв. Після інкубації дію фермента припиняли додаванням 20% розчину ТХУ у 50% спирті і центрифугували протягом 10 хв при 10 000 об/хв. 1,4 мл центрифугата розводили додаванням 2,5 мл 10%-ного розчину ТХУ в 25% -ному спирті і проводили вимірювання фотоелектричним колориметром /світлофільтр на 490 нм. Одночасно проводили операції з холостим і стандартними розчинами, тільки до холостого розчину не додавали досліджуваний розчин, а до стандартного не

додавали досліджуваної проби і розчину апоензима. Апофермент ацетилювання / ацетоновий порошок/ отримували з печінки голубів.

Результати виражали в мкг ацетильованого п-ААБ на 1 г сирової маси тканини в мкг КоА на 1 г сирової маси тканини. Розрахунок мкг ацетильованого п-ААБ на 1 г сирової тканини вели за формулою:  $S_{хол} - S_{гол.дос.} / x 65 S_{стан.}$ , Де S холостий-екстинція на ФЭКМ холостого досліду; S Стандарт-екстинція на ФЭКМ стандартного досліду; S Головний дослід - екстинція на ФЭКМ досліду з досліджуваним розчином; 65 - кількість мкг п-ААБ в кожній пробі. Про зміст ацетилюючих метаболітів пантотенової кислоти судили по інтенсивності ацетилювання параамінобензола [9]. Результати оброблені статистично за допомогою критерію Стьюдента [2].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Для кількісного виділення СоА і його попередників (ПАК, ФПН) поряд з традиційними мікробіологічними методами нами використаний універсальний підхід на основі застосування іонообмінного хроматографічного розділення метаболітів у системі лінійного градієнта хлористого літію (0-0,075 М) в 0,003 н. НСІ. Поділ проводили на колонці з ДЭАЭ-целюлози. Кількісний вміст метаболітів ПАК в фракціях визначали методом ацетилювання параамінобензолом.

Тварини були розділені на 4 групи, з них норма, норма+ПАК, гіпоксія, гіпоксія+ПАК. В експериментах використовували одноразову ін'єкцію 4-5мг/кг препарату ПАК-Са для норми+ПАК і гіпоксії+ПАК. При дослідженні метаболітів ПАК при нормі і гіпоксії були отримані дані, відображені в таб.1. Порівнюючи досліджувані групи між собою, виявляємо, що в умовах гіпоксії тварин пантотенової кислоти в печінці більше -56,52 мкг пААБ/ р. тканини, ніж у нормі -26,25 мкг пААБ/г тканини. Рівень 4ФПН і КоА в печінці тварин з гіпоксією щодо норми зменшувався.

Таблиця 1

**Вміст пантотенової кислоти, 4-Ф-ПН та КоА в печінці і крові білих щурів при гіпоксії замкнутого простору (мкг пААБ/г тканини) n= 6**

Метаболіти	Норма n=6	Гіпоксія n=6	Норма+ пантотенова кислота, n=6	Гіпоксія +пантотенова кислота, n=6
Печень				
ПК	26,25±3,0	56,52±5,48	36,00±2,36	49,26±3,00
4-Ф-ПН	39,22±3,67	37,80±5,04	28,44±4,40	33,95±5,64
КоА	48,50±3,02	35,98±5,40	47,27±5,20	46,05±4,05
кров				
ПК	28,50±3,27	42,40±3,84	34,50±1,52	44,42±3,63
4-Ф-ПН	29,81±6,60	36,12±0,93	37,92±1,00	28,42±0,19
КоА	49,94±3,63	41,53±1,97	38,03±3,00	37,58±2,09

Примітка:\*- достовірна відмінність (P< 0,05)

При дослідженні крові білих щурів рівень пантотенової кислоти був достовірно більше при гіпоксії - 42,40 мкг пААБ/г тканини порівняно з нормою -28,50 мкг пААБ/г тканини.

Створення гіпоксії замкнутого простору призводило до істотного збільшення вмісту пантотенової кислоти в печінці і крові.

Попереднє введення препарату ПАК-Са на фоні гіпоксії замкнутого простору в печінці вміст КоА -46,05 мкг пААБ/г тканини залишався на такому ж рівні впродовж усього терміну спостереження і не дав особливих змін з (нормою +ПАК) – 47,27 мкг пААБ/г. Також при інекції виявлено збільшення пантотенової кислоти - 49,26 мкг пААБ/г тканини порівняно з (нормою +ПАК) – 36,00 мкг пААБ/г тканини. При дослідженні крові з внутрішньом'язовою ін'єкцією ПАК-Са на фоні гіпоксії виявлено підвищений вміст пантотенової кислоти - 44,42 мкг пААБ/г тканини порівняно з (нормою +ПАК)– 34,50 мкг пААБ/г.

Відомо, що КоА та інші метаболіти пантотенової кислоти дефосфо-КоА, 4-фосфопантетеїн, 4-фосфопантотеноїлцистеїн можуть приймати участь в процесі перенесення ацетильних груп на парааміноазобензол. Однак, при оцінці загальної ацетилюючої активності похідних пантотенату видається доцільним враховувати рівень не тільки КоА, але й інших ацетилюючих метаболітів цього вітаміну.

Гіпоксія замкнутого простору (ГЗП) характеризується дією на організм декількох факторів: власне гіпоксії, гіперкапнії і гіпертермії.

Отримані нами дані свідчать про підвищений вміст пантотенової кислоти при дії гіпоксії порівняно з нормою.

**Насумок**

Таким чином, встановлено, що гіпоксія замкнутого простору (ГЗП) викликає підвищену кількість пантотенової кислоти в печінці і крові білих щурів. Пантотенова кислота необхідна для біосинтезу КоА тому гіпоксія замкнутого кола викликає уповільнений процес біосинтезу КоА пантотеновою кислотою. В результаті при гіпоксії рівень ПАК більше ніж КоА.

**Список літератури**

1. Копелевич В. М. Исследования в области переносчиков ацильных групп. 16. Гидролитическая устойчивость и ферментативное дефосформирование 4'-фосфо-0-пантотеновой кислоты / В.М.Копелевич, А.В.Лысенкова, В. В. Мищенко [и др.] // Химия природных соединений.-1981, N 4,- С. 482-487.
2. Меркурьева Е. К. Основы биометрии / Е. К. Меркурьева // - М., издательство МГУ.- 1963 г.
3. Мойсеенок А. Г. Пантотеновая кислота / А. Г. Мойсеенок // - Минск: Наука и техника, - 1979,-ГЛ.8,-С. 267-320.
4. Мойсеенок А. Г. Пантотеновая кислота (биохимия и применение витамина) / А. Г. Мойсеенок // - Минск: Наука и техника, - 1980,-264 с.
5. Мойсеенок А. Г. Разделение предшественников биосинтеза кофермента ацетилирования-производных пантотеновой кислоты хроматографией на ДЕАЕ-целлюлозе / А. Г. Мойсеенок, В. А. Гуринович, А. В. Лысенкова // Химия природных соединений -1987.- N 2.-С.258-262.
6. Петров С. А. Пантотеновая кислота / С. А. Петров, О. В. Запороженко, О. К. Будняк [и др.] // - Одесса: ВМВ, - 2013.- С. 57-58.
7. Петров С. А. Распределение пантотеновой кислоты в организме при гипоксии замкнутого пространства / С. А. Петров // - Гродно: ГрГМУ, - 2013.-С. 58-59.
8. Резяпкин В. И. Использование обращеннофазной высокоэффективной газожидкостной хроматографии для анализа производных пантотеновой кислоты / В. И. Резяпкин, В.А. Гуринович, А.Г. Мойсеенок // Хим.-фарм.журн.-1989,-М3,- С.349-351
9. Handshumacher R. An improved enzymatic assay for CoA / R. Handshumacher, G. Mueller, F. Strong // J.Biol.Chem.-1951.- Vol.189, No 1- P. 335-342.

**Реферати****КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ КОА, 4-ФПН, ПАК ПРИ ГИПОКСИИ ЗАМКНУТОГО ПРОСТРАНСТВА НА ОСНОВЕ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Сальникова Н. В.

Гипоксия замкнутого пространства (ГЗП) приводит к повышению уровня пантотеновой кислоты в печени и крови. При предварительной инъекции препарата ПАК-Са так же наблюдается повышение пантотеновой кислоты в крови и печени.

**Ключевые слова:** пантотеновая кислота, 4-фосфопантетеин, КоА, метаболиты, гипоксия.

Стаття надійшла 15.01.2015 р.

**QUANTITATIVE SELECTION COA, PAN-SH, PAK DURING HYPOXIA CONFINED SPACE-BASED ION-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY**

Salnikova N. V.

Hypoxia confined space (GSP) leads to increased levels of Pantothenic acid in the liver and blood. During the preliminary injection PAK-Ca also increasing Pantothenic acid in the blood and liver.

**Key words:** pantothenic acid, metabolites, 4-phosphopantetheine, CoA, hypoxia.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 616-008.9-092.9+612.115

В. В. Талаш, В. О. Костенко

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

**СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

У експерименті на 20 білих щурах досліджено стан вільнорадикальних процесів та гемокоагуляції в організмі щурів за умов відтворення метаболічного синдрому. Показано, що призначення тваринам фруктози з питною водою (20% озцину) та їхнє знаходження на вуглеводно-жировій дієті протягом двох місяців супроводжується істотною активацією в крові декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів із значним зниженням активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази). За цих умов суттєво збільшується вміст в сироватці крові реактанту гострої фази запалення – церулоплазмину, порушується процес згортання крові (виявляється гіперкоагуляція за зовнішнім і внутрішнім шляхами, прискорюється утворення фібрину, пригнічується фібриноліз).

**Ключові слова:** метаболічний синдром, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, церулоплазмін, коагуляційний гемостаз.

*Робота є фрагментом НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941).*

Метаболічний синдром (МС) – це комплекс гормональних та метаболічних порушень, які збільшують ризик виникнення цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних захворювань. Встановлення певного патогенетичного зв'язку між артеріальною гіпертензією, інсулінорезистентністю, ожирінням та дисліпідемією та хронічним субклінічним запаленням стало основою для виділення МС як окремої патології [5, 7].