

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, липопротеиды (а), аполипопротеины В100 и А1, аполипопротеиновый коэффициент.

**UDC** 547.915.5:612.0171:616.13-004.6:616.132.2-008.64

**The ROLE of LIPOPROTEIN (a) and APOLIPOPROTEINS B and A-1 in the EVALUATION of the ATHEROGENIC RISK IN PATIENTS with ISCHEMIC HEART DISEASE**

**Poberezhna A. V., Serkova V. K.**

**Summary.** The results of the survey of 96 patients with IHD (67 men and 29 women), mean age  $55,52 \pm 4,47$  years. IHD, stable angina II functional class (FC) was diagnosed in 31 (32.29 %) patients, III FC — in 39 (40.62 %). Unstable (progressive) angina is found in 26 patients (27,08 %). The average duration of IHD was  $(7,6 \pm 1,1)$  years. All the examinees were chosen by the level of lipoprotein (a) and apolipoproteins A1 and B100. There was a significant increase of Lp (a), apoB-100 and reduction of apoA-1. The degree of change in lipid levels increased during exacerbation of patients with progressive angina and with an increase in severity of illness (with FC III stable angina). In patients with previous MI more than 6 months ago, there remain significant proatherogenic changes of lipid-transport system of blood, indicating that the instability of atherosclerotic process in these patients and requires active treatment and preventive measures. The apolipoproteins coefficient (the ratio apo-B100/apo-A1), suggest by us, is most closely associated with the prognosis of coronary heart disease, and therefore its definition may facilitate a more objective assessment of the risk of complications.

**Key words:** ischemic heart disease, lipoproteid (a), apolipoproteins A-1 and B100, apolipoproteins coefficient.

Стаття надійшла 1.08.2010р

**УДК** 615.356:577.164.2:615.032:616-092.9

**Л.Д. Попова, І.М. Васильєва**

## ОЦІНКА ПРООКСИДАНТНОГО ТА ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТІВ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ТА ВНУТРІШНЬОМ'ЯЗОВОМУ ВВЕДЕННІ

Харківський національний медичний університет (м. Харків)

Робота виконана у межах науково-дослідної теми ХНМУ «Вивчення загальних закономірностей патологічних процесів і розробка способів їх корекції» (№ державної реєстрації 0103U004546).

**Вступ.** Необхідність аскорбінової кислоти (АК) для організму не викликає сумніву, втім до цього часу є невирішеним питання стосовно доз аскорбінової кислоти, що є оптимальними з точки зору засвоєння, ефективності та побічної дії.

Деякі автори вважають, що аскорбат є одним з провідних факторів, що формують фізіологічний вільнорадикальний статус організму [5]. Аскорбат виявляє як анти-, так і прооксидантні ефекти [5]. Участь АК в регенерації токоферолу забезпечує формування подвоєної системи антиоксидантного захисту [3]. З іншого боку, АК відіграє важливу роль у продукуванні активних форм кисню (АФК) лейкоцитами, зокрема нейтрофілами. Інтенсивне поглинання нейтрофілами вітаміну С

супроводжується утворенням бактерицидних вільнорадикальних субстанцій, які знищують передракові клітини, бактеріальні, вірусні та інші чужорідні агенти [10]. При вживанні 100 мг АК на добу досягається насичення нею нейтрофілів, моноцитів та лімфоцитів, і концентрація вітаміну С в цих клітинах у 14 разів вища порівняно з плазмою крові [7].

У дослідженні на волонтерах було показано, що засвоєння вітаміну С було повним до 200 мг на добу [9]. Використання високих доз АК призводить до негативних ефектів, серед яких — пригнічення функцій інсулярного апарату підшлункової залози, гіперглікемія, глюкозурія, гіпероксалагурія та ін. Екскреція оксалату та урату була підвищеною при дозі вітаміну С 1000 мг на добу порівняно з низькими дозами [9].

**Метою нашого дослідження** було вивчення впливу перорального (п/о) та внутрішньом'язового (в/м) введення АК на

активність індукцибельної NO-синтази (iNOS) та каталази, на вміст аскорбату, глюкози та сечової кислоти (урату) в плазмі крові.

**Об'єкт і методи дослідження.** В експерименті було використано 20 трьохмісячних морських свинок (самців). Використання саме морських свинок у якості об'єкта дослідження обумовлено тим, що їх організм, подібно до організму людини, не здатний синтезувати АК. У зв'язку з цим, екстраполяція на людей даних по дослідженню ефекту АК саме на морських свинках є найбільш коректною. Тваринам дослідних груп вводили АК в дозі 4 мг/кг маси тіла (що відповідає 280 мг на добу для людини з масою 70 кг) протягом чотирьох діб. Одна група отримувала АК перорально, інша — внутрішньом'язово. В якості контролю використовували інтактних тварин. Тварин декапітували гільйотинним ножем під слабким ефірним наркозом.

Активність індукцибельної NO-синтази визначали методом [6], заснованим на фотометричному визначенні приросту вмісту продукту ферментативної реакції NO-синтази — нітриту. Ферментативну реакцію проводили з додаванням ЕДТА для зв'язування ендогенного  $Ca^{2+}$ .

Активність каталази визначали спектрофотометричним методом [2] за швидкістю розщеплення пероксиду водню в інкубаційному середовищі. Визначення кількості пероксиду водню проводили за допомогою кольорової реакції з молібдатом амонію.

Вміст АК в плазмі крові досліджували титриметричним методом [4], заснованим на здатності АК кількісно відновлювати забарвлений окислений 2,6-діхлорфеноліндоформол до безбарвної лейкоформи.

Вміст глюкози та сечової кислоти визначали стандартними уніфікованими методами за допомогою наборів реактивів «Felicat» (Дніпропетрівськ, Україна).

Статистичний аналіз отриманих результатів було проведено за допомогою пакету прикладних програм Statistica, MS Excel з використанням U-критерію Манна — Уїтні.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Було виявлено зростання активності індукованої NO-синтази під впливом АК ( $P < 0,05$ ), більш вагоме — за умов в/м введення ( $P < 0,05$ ) (табл. 1).

Індукцибельна  $Ca^{2+}$ - незалежна NOS переважно присутня в макрофагах та нейтрофілах [8]. Оксид азоту, що утворюється iNOS, відіграє основну роль як медіатор антимікробної та протипухлинної дії макрофагів [11]. Цитотоксична дія NO обумовлена його здатністю до взаємодії із супероксидним радикалом з утворенням більш агресивної молекули — пероксинітриту [1]. Більш сут-

Таблиця 1

**Вплив аскорбінової кислоти на активність індукованої NO-синтази (пмоль/хвл/мг білка) сироватки крові морських свинок**

Група тварин	Кількість спостережень n	Медіана Me	Квартілі 25%; 75%
Контроль	5	0,46	0,44; 0,51
Пероральне введення	7	0,59*	0,58; 0,61
Внутрішньом'язове введення	7	0,67*х	0,66; 0,71

**Примітка:** \* - різниця достовірна порівняно з контролем, х - різниця достовірна порівняно з морськими свинками з пероральним введенням АК.

тева роль в утворенні NO та ONOO<sup>-</sup> належить саме iNOS.

Утворення АФК у фагоцитах, особливо в нейтрофілах, відбувається за рахунок стимуляції аскорбіновою кислотою пентозофосфатного шляху окислення глюкози. Непрямо про активацію пентозофосфатного шляху свідчать результати по зменшенню рівня глюкози в сироватці крові морських свинок після введення АК (табл.2).

Таблиця 2

**Вміст глюкози у сироватці крові морських свинок після введення аскорбінової кислоти**

Група тварин	Кількість спостережень n	Медіана Me	Квартілі 25%; 75%
Контроль	6	9,62	8,45; 11,53
Пероральне введення	7	5,0*	4,61; 6,15
Внутрішньом'язове введення	7	6,53*	4,61; 6,92

**Примітка:** \* - різниця достовірна порівняно з контролем.

Про підвищене продукування АФК, а саме пероксиду водню свідчать дані по дослідженню активності каталази. Спостерігається зростання активності цього ферменту, більш істотне при внутрішньом'язовому введенні (табл.3).

Таблиця 3

**Вплив аскорбінової кислоти на активність каталази крові (мкат/г Нв) морських свинок**

Група тварин	Кількість спостережень n	Медіана Me	Квартілі 25%; 75%
Контроль	5	1,05	0,95; 75
Пероральне введення АК	7	1,34*	1,22; 1,53
Внутрішньом'язове введення АК	7	2,12*x	1,78; 2,45

**Примітка:** \* - різниця достовірна порівняно з контролем, x – різниця достовірна порівняно з морськими свинками з пероральним введенням АК.

Наведені результати свідчать про прооксидантні ефекти АК, що більш виражені при в/м введенні.

Рівень сечової кислоти в сироватці крові знижувався як після п/о, так і в/м введення АК (табл.4). Відомо, що сечова кислота має антиоксидантні властивості. Зменшення її вмісту після введення АК, можливо, пов'язано з її посиленням використанням у якості антиоксиданта та перетворенням до алантоїну.

Таблиця 4

**Вплив аскорбінової кислоти на вміст сечової кислоти у сироватці крові морських свинок (мкмоль/л)**

Група тварин	Кількість спостережень n	Медіана Me	Квартілі 25%; 75%
Контроль	6	68,18	65,45; 68,18
Пероральне введення	7	46,36*	40,9; 62,72
Внутрішньом'язове введення	7	49,09*	46,36; 54,54

**Примітка:** \* - різниця достовірна порівняно з контролем.

Дані по дослідженню глюкози (табл.2) свідчать про те, що використані дози ще не мають негативного впливу на інсулярний апарат підшлункової залози.

Дані стосовно вмісту АК в сироватці крові (табл.5) свідчать, що спосіб введення АК у досліджуваній дозі не впливає на її засвоєння.

Таблиця 5

**Вміст аскорбінової кислоти (мкмоль/л) у сироватці крові морських свинок після введення аскорбінової кислоти в дозі 4 мг/кг маси тіла**

Група тварин	Кількість спостережень n	Медіана Me	Квартілі 25%; 75%
Контроль	5	71,02	63,08; 71,02
Пероральне введення	7	142,05*	125; 159,1
Внутрішньом'язове введення	7	125,0*	113,64; 142,05

**Примітка:** \* - різниця достовірна порівняно з контролем.

### Висновки:

1. Досліджувані дози аскорбінової кислоти викликають зростання активності iNOS і, як наслідок, підвищене утворення активних форм кисню.

2. Досліджувані дози аскорбінової кислоти призводять до зростання каталазної активності як компенсаторного механізму, спрямованого на елімінацію пероксиду водню.

3. Прооксидантний ефект аскорбінової кислоти більш виражений при внутрішньом'язовому введенні.

4. Використані дози не мають негативно впливу на інсулярний апарат підшлункової залози.

5. Спосіб введення аскорбінової кислоти у досліджуваній концентрації не впливає на її засвоєння.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження впливу перорального та внутрішньом'язового введення АК на активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, вміст дієнових кон'югатів та ТБК-позитивних продуктів.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вакин А.Ф. Оксид азота биологических исследованиях/А.Ф. Вакин//Вестн. РАМН. — 2000. — № 4. — с. 3–5.
2. Дубинина Е.Е. Методы определения активности каталазы/Е.Е. Дубинина, Л.Ф. Ефимова, Л.Н. Сафронова//Лаб. дело — 1988. — № 8. — с.16–19.
3. Илларионов М.Ю. Биохимические процессы, лежащие в основе свободнорадикального окисления, механизмы антирадикальной защиты, оценка их эффективности у онкологических больных. <http://www.Medlinks.ru> 08.02.2005/
4. Методы определения аскорбиновой кислоты//Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов/Под. Ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. — М.: Медицина, 1998. — с. 168–182.

5. Тимен Л.Я. Аскорбиновая кислота и глюкоза в коррекции процессов свободнорадикального окисления (Эксперим. исслед. Часть I)/Л.Я. Тимен, А.Г. Шерцингер, Т.В. Чичук, Э.С. Варданян и др.//Эксперим. и клин. Гастроэнтерология. — 2005. — № 5. — с. 74–78.
6. Топчий І.І., Кондаков, О.М. Кириченко, Т.В. Горбач та ін. Методи визначення порушень системи L-аргінін-оксид нітрогену у терапії хронічних хвороб нирок//(мет. вказ. МОЗ України). — Київ. 2008 —23с.
7. Chen Q. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells/Q. Chen, M. G. Espey, M. C. Krishna, J. B. Mitchell et al.//Action as a pro-drug to deliver peroxide to tissues//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102, N38. — P. 13604 — 13609
8. Farrel A. J. Nitric oxide/A. J. Farrel, D. R. Blake//Annals of the Rheumatic Disease. — 1996. —V.55. — P. 7–20.
9. Levine M. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for recommended dietary allowance/M. Levine, C. Conry — Cantilena, Y. Wang, R. W. Welch et al.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1996. — Vol. 93. — P. 3704 — 3709.
10. Moser R. Uptake of ascorbic acid by human granulocytes/R. Moser, F. Weder//Int. Archs Allergy Appl. Immun. — 1986. — V.81 — P.46–48.
11. Stuehr D. J. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells/D. J. Stuehr, C. F. Nathan//J. Exp. Med. — 1989. — V. 169. — P. 1543 –1555.

**УДК** 615.356:577.164.2:615.032:616-092.9

### **ОЦІНКА ПРООКСИДАНТНОГО ТА ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТІВ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ТА ВНУТРІШНЬОМ'ЯЗОВОМУ ВВЕДЕННІ**

**Попова Л. Д., Васильєва І. М.**

**Резюме.** Було досліджено вплив перорально та внутрішньом'язово введеної аскорбінової кислоти в дозі 4 мг/кг маси тіла на активність індукцибельної NO-синтази, каталази, вміст глюкози, сечової та аскорбінової кислот у сироватці крові морських свинок. Виявлено зростання активностей NO-синтази та каталази, рівня аскорбату, а також зменшення вмісту глюкози та сечової кислоти після введення аскорбату. Аналіз отриманих даних свідчить про прояв аскорбіновою кислотою прооксидантних ефектів, відсутність негативного впливу на інсулярний апарат підшлункової залози, однакове засвоєння досліджуваних доз аскорбінової кислоти при пероральному та внутрішньом'язовому її введенні.

**Ключові слова:** морські свинки, аскорбінова кислота, NO-синтаза, каталаза, глюкоза, сечова кислота.

**УДК** 615.356:577.164.2:615.032:616-092.9

### **ОЦЕНКА ПРООКСИДАНТНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТОВ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ И ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ**

**Попова Л. Д., Васильева И. М.**

**Резюме.** Было исследовано влияние перорального и внутримышечного введения аскорбиновой кислоты в дозе 4 мг/кг массы тела на активность индуцибельной NO-синтазы, каталазы, содержание глюкозы, мочевого и аскорбиновой кислот в сыворотке крови морских свинок. Обнаружено возрастание активности NO-синтазы и каталазы, содержания аскорбата, а также снижение уровня глюкозы и мочевого кислоты после введения аскорбата. Анализ полученных данных свидетельствует о проявлении аскорбиновой кислотой прооксидантных эффектов, отсутствии отрицательного влияния на инсулярный аппарат поджелудочной железы, одинаковом усвоении исследуемой дозы аскорбиновой кислоты при ее пероральном и внутримышечном введении.

**Ключевые слова:** морские свинки, аскорбиновая кислота, NO-синтаза, каталаза, глюкоза, мочева кислота.

**UDC** 615.356:577.164.2:615.032:616-092.9

### **ESTIMATION of PROOXIDANT and TOXIC EFFECTS of ASCORBIC ACID in per os and INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION**

**Popova L. D., Vasil'eva I.M.**

**Summary.** The influence of ascorbic acid on the inducible NO-synthase and catalase activities, glucose, ascorbate, urate levels in blood serum of guinea pigs was studied. The increase of NO-synthase and catalase activities, ascorbate level and the decrease of glucose and urate levels were found. The analysis of data obtained testify to manifestation of prooxidant effect by ascorbic acid, the lack of negative influence on pancreatic insular apparatus, the same bioavailability in per os and intramuscular administration.

**Key words:** guinea pigs, ascorbic acid, NO-synthase, catalase, glucose, uric acid.

**Стаття надійшла 12.08.2010 р.**