

Реферат

УЧАСТЬ ДЕЯКИХ АДРЕНОБЛОКАТОРОВ У ПОРУШЕННІ БІОРИТМІВ ФУНКЦІЇ НИРОК

Пішак В.П., Кривчанська М.І., Пішак О.В.

Ключові слова: пропранолол, мелатонін, біологічні ритми нирок.

Блокатори β -адренорецепторів широко використовуються в клінічній практиці для профілактики ускладнень і фармакотерапії серцево-судинних захворювань. Нами представлені експериментальні дослідження впливу пропранолола (2,5 мг/кг маси тіла) на показники і біологічні ритми функції нирок, їх світлооптичну і електронномікроскопічну структуру. Метою роботи було з'ясувати значення блокади β -адренорецепторів у регуляції хроноритмів функцій нирок, а також встановити роль екзогенного мелатоніну в механізмах корекції порушень циркадіанної організації ниркових функцій і відхилень морфологічного і функціонального стану шишкоподібної залози і нирок в умовах блокади β -адренорецепторів. Експерименти проведені на 125 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 160 ± 20 г. Цифровий матеріал обробляли статистично. Нирки і шишкоподібну залозу піддавали гістологічному і електронномікроскопічному дослідженню. Отримані результати свідчать, що пропранолол змінює не лише функції нирок, але і порушує їх циркадний ритм. Це викликано як прямим нефротропним ефектом цього адреноблокатора, про що свідчить гістологічні дані, так і опосередкованою дією через епіфіз. Уведення екзогенного мелатоніну (0,5 мг/кг маси тіла) лише частково нормалізує явища десинхронозу.

Summary

ROLE OF ADRENOCEPTOR ANTAGONISTS IN DISTURBANCES OF KIDNEY FUNCTIONING BIORHYTHMS

Pishak V.P., Kryvchanska M.I., Pishak O.V.

Key words: propranolol, melatonin, biological rhythms of kidneys.

β -adrenergic receptor antagonists are widely used in clinical practice for the prevention of complications and for pharmacotherapy of cardiovascular disease. We have presented experimental studies of the influence of propranolol (2.5 mg / kg body wt) on the parameters and biological rhythms of renal function, their light-optic and electron structure. The aim of the study was to ascertain the value of β -adrenoceptor blockage in the regulation of chronorhythms of kidney functioning and to establish the role of exogenous melatonin in the mechanisms involved into the correction of circadian rhythm in renal functioning and morphologic abnormalities and functional state of the pineal gland and kidney under β -adrenoceptor blockage. The study was carried out on 125 white non-linear mature male rats weighing 160 ± 20 g. Digital data obtained were processed statistically. Kidneys and the pineal gland were subjected to histological and electron microscope study. These results enable to suggest the propranolol does not alter renal function but also deteriorates their circadian rhythm. This is caused by direct effect of this adrenoceptor antagonist as evidenced by histological data, and indirectly through the action of the pineal gland. The introduction of exogenous melatonin (0.5 mg / kg) only partially normalizes the desynchronization phenomena.

УДК 616.831 – 008.9 – 092.9

Френкель Ю.Д.

РОЛЬ NO-СИНТАЗ У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ БІОЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ

Миколаївський національний університет ім. В.О. Сухомлинського

У експерименті на 25 білих щурах досліджено роль функціонального стану NO-синтази (NOS) у механізмах порушень вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії, яку відтворювали шляхом цілодобового освітлення тварин у дозі 1500 лк протягом 55 діб. Виявлено, що за цих умов функціонування нейрональної NOS обмежує розвиток біоенергетичної недостатності головного мозку. Основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу забезпечує індуцибельна NOS. Застосування L-аргініну обмежує за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії зниження АТФ та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку.

Ключові слова: гіпомелатонінемія, оксид азоту, NO-синтази, енергетичний метаболізм, аденіннуклеотиди, головний мозок.

Стаття є фрагментом планової НДР Миколаївського національного університету ім. В.О. Сухомлинського „Вплив мелатоніну на функції систем організму” (№ держреєстрації 0106U002994).

Велика кількість досліджень виявляє неоднотипну дію NO на біоенергетичні процеси. Показано, що NO викликає пригнічення у клітинах активності ферментів циклу трикарбонових кислот – аконітази (аконітат-гідратази), дихального ла-

нцюга мітохондрій – НАДН-убіхіноноксидоредуктази і сукцинат-убіхіноноксидоредуктази, анаеробного гліколізу гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази [10,12,13].

У той же час в літературі наводяться дані про

стимулюючи дію незначних кількостей NO на мітохондріальне окиснення та фосфорилування АДФ у тканині мозочка [7]. Повідомляється, що активність нейрональної та індукцибельної NO-синтази призводить до різноспрямованих змін біоенергетичних процесів у тканинах за умов дії стресорів різної природи [3].

В останні роки показана здатність мелатоніну пригнічувати активність індукцибельної NO-синтази (iNOS) [16] та збільшувати активність нейрональної (nNOS) [15]. Саме з активністю iNOS найчастіше пов'язують продукцію великої кількості NO, здатного ініціювати гіпоксичний і вільнорадикальний некробіоз у тканині головного мозку за умов його гіпоксії, ішемії / реперфузії, запалення [4,6].

Проте NO-залежні механізми порушення біоенергетичних процесів за умов гіпомелатоніемії залишаються нез'ясованими.

Мета роботи

Вивчення ролі функціонального стану NO-синтази (NOS) у механізмах порушень вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 25 білих щурах лінії Вістар масою 180-220 г у таких серіях дослідів: у першій - необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія); у другій – після відтворення хронічної гіпомелатоніемії; у третій, четвертій і п'ятій серіях – на тлі хронічної гіпомелатоніемії тваринам вводили відповідно селективний інгібітор nNOS – 7-нітроіндазол (7-NI), селективний інгібітор iNOS – аміногуанідин, субстрат NOS – L-аргінин.

Хронічну гіпомелатоніемію моделювали шляхом цілодобового освітлення (1500 лк) щурів терміном 55-ти днів [9]. Зазначені вище сполуки вводили щоденно протягом останніх 7 днів освітлення тварин внутрішньоочеревинно: 7-NI – 30 мг/кг [11], аміногуанідин – 20 мг/кг [14] та L-аргінин – 500 мг/кг [2]. Евтаназію тварин виконували методом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом. Об'єктом дослідження були великі півкулі головного мозку.

Концентрацію аденозинтри-, ди- та монофосфатів (АТФ, АДФ і АМФ) визначали з використанням набору фірми "Behringer Mannheim GmbH" (Мангейм, ФРН); значення енергетичного потенціалу (ЕП) обчислювали за формулою: $ЕП = (АТФ + 0,5АДФ) / (АТФ + АДФ + АМФ)$.

Отримані дані піддавали статистичній обробці. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм "StatisticSoft 6.0".

Результати дослідження та їх обговорення

Для оцінки біоенергетичного стану нами використано такі біохімічні показники, як вміст АТФ, АДФ та АМФ, значення аденілатного енергетичного заряду (енергетичного потенціалу).

АТФ є сполучною ланкою процесів, що відбуваються з виділенням і споживанням енергії, основною сполукою, що визначає енергетичний потенціал біосистеми [5]. На частку АТФ припадає до 80% загальної кількості всіх аденілових нуклеотидів, рівень яких в клітинах підтримується на відносно постійному рівні [1,8]. Основна кількість АТФ у головному мозку утворюється внаслідок окисного фосфорилування в дихальному ланцюзі мітохондрій, незначна – в результаті субстратного фосфорилування.

Енергетичний запас клітини у вигляді макроергічних сполук і субстратів особливо важливий за умов кисневої недостатності, оскільки підтримання життєдіяльності органів і організму в цілому можливо до тих пір, поки дефіцит енергії не досягне певних критичних величин.

Концентрація аденіннуклеотидів у гомогенаті великих півкуль головного мозку інтактних щурів (див. табл.) складає: АТФ – $2,71 \pm 0,07$ мкмоль/г, АДФ – $0,45 \pm 0,03$ мкмоль/г, АМФ – $0,19 \pm 0,01$ мкмоль/г. Сума аденіннуклеотидів – $3,35 \pm 0,21$ мкмоль/г. ЕП – $0,874 \pm 0,015$.

Таблиця

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії ($M \pm m$, $n=25$)

| Показники | Серії дослідів | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| | Інтактні тварини | Гіпомелатоніемія (55 днів) | | | |
| | | Контроль | + 7-NI | + аміно-гуанідин | + L-аргінин |
| АТФ, мкмоль/г | $2,71 \pm 0,07$ | $1,69 \pm 0,06^*$ | $1,48 \pm 0,04^{**}$ | $2,55 \pm 0,07^{**}$ | $1,92 \pm 0,07^{**}$ |
| АДФ, мкмоль/г | $0,45 \pm 0,03$ | $0,28 \pm 0,03^*$ | $0,25 \pm 0,02^*$ | $0,42 \pm 0,03^{**}$ | $0,32 \pm 0,03^*$ |
| АМФ, мкмоль/г | $0,19 \pm 0,01$ | $1,38 \pm 0,15^*$ | $1,80 \pm 0,14^*$ | $0,44 \pm 0,03^{**}$ | $1,24 \pm 0,11^*$ |
| Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г | $3,35 \pm 0,21$ | $3,35 \pm 0,36$ | $3,53 \pm 0,28$ | $3,41 \pm 0,24$ | $3,48 \pm 0,32$ |
| ЕП | $0,874 \pm 0,015$ | $0,546 \pm 0,013^*$ | $0,454 \pm 0,110^*$ | $0,809 \pm 0,015^{**}$ | $0,596 \pm 0,014^{**}$ |

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів; ** – $p < 0,05$ у порівнянні з даними другої серії.

За умов дії цілодобового освітлення на білих щурах протягом 55-ти днів у тканині головного мо-

зку відмічається достовірне зниження концентрації АТФ і АДФ – відповідно на 37.6% ($p < 0,001$)

та 37.8% ($p < 0,01$) – у порівнянні з даними інтактною серією. Вміст АМФ збільшується – у 7.3 рази ($p < 0,001$). Сума аденіннуклеотидів – $3,35 \pm 0,36$ мкмоль/г – достовірно не змінюється. ЕП знижується – на 37.5% ($p < 0,001$) – у порівнянні з даними інтактною групи. Все це свідчить про значне зниження у тканині головного мозку ресинтезу макроергічних сполук.

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб знижує у тканині головного мозку концентрацію АТФ – на 12,4% ($p < 0,02$) – у порівнянні з даними другої серії. Проте вміст інших аденіннуклеотидів та ЕП достовірно не змінюються.

Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ – відповідно на 50,9% ($p < 0,001$) та 50,0% ($p < 0,02$) – у порівнянні з даними другої серії. Вміст АМФ – істотно зменшується – на 68,1% ($p < 0,001$) – у порівнянні з результатом другої серії. ЕП – підвищується – до $0,809 \pm 0,015$, тобто та 48,2% ($p < 0,001$).

Таким чином, пригнічення iNOS за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії суттєво підвищує у тканині головного мозку щурів процеси утворення макроергічних сполук.

Отримані нами результати підтверджують уявлення про неоднозначну роль NO у розвитку нейродеструкції (“NO-парадокс”), який, очевидно, пов’язаний з відмінностями функціональної компартентизації конститутивних та індукційної NO-генеруючих систем [3].

Внесення L-аргініну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб також підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та ЕП – відповідно на 13,6% ($p < 0,05$) та 9,2% ($p < 0,05$) – у порівнянні з даними другої серії. Вміст інших аденіннуклеотидів достовірно не змінюється.

Висновки

1. NO-синтазний механізм утворення оксиду азоту залучений у механізми розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії.

2. За умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії функціонування nNOS обмежує розвиток біоенергетичної недостатності головного мозку (застосування селективного інгібітору nNOS 7-нітроіндазолу сприяє зниженню АТФ у тканині великих півкуль).

3. Основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенці-

алу у тканині великих півкуль головного мозку щурів за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії відіграє індукційна ізоформа NO-синтази (застосування селективного інгібітору iNOS аміногуанідину попереджує істотне зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу).

4. Застосування L-аргініну обмежує за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії зниження АТФ та енергетичного потенціалу у тканині великих півкуль головного мозку.

Література

1. Беленичев И.Ф. Механизмы формирования ишемической нейродеструкции: соотношение оксида азота и тиолдисульфидной системы как фактор, определяющий тип гибели нейрона / И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова // *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти.* – 2010. – Т.6, №2. – С. 20-27.
2. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цірюк [та ін.] // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.* – 2004. – Вип. 38. – С. 201-204.
3. Костенко В.О. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / В.О. Костенко, Н.В. Соловійова, О.В. Коваленко [та ін.] // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії.* – 2011. – Т.11, №3. – С. 150-154.
4. Куровська В.О. Роль оксиду азоту в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку / В.О. Куровська, В.П. Пішак, С.С. Ткачук // *Буковинськ. мед. вісн.* – 2008. – Т. 12, №4. – С. 143-149.
5. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л.Д. Лукьянова // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* – 2004. – №2. – С.2-11.
6. Проблема оксида азота в неврологии / [Малахов В.А., Завгородняя А.Н., Лычко В.С. и др.]. – Сумы : Изд-во СумГПУ им. А.С.Макаренко, 2009. – 242 с.
7. Сорокина Е.Г. Оксид азота и нитритные ионы в энергетике нейронов мозжечка / Е.Г. Сорокина, В.Г. Пинелис, В.П. Реутов [и др.] // *Актуал. пробл. трансп. мед.* – 2007. – №4. – С. 133-136.
8. Султанов В.С. Церебропротекторные и энергостабилизирующие эффекты полипептидного препарата ропрена при ишемии головного мозга у крыс / В.С. Султанов, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов // *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии.* – 2010. – Т.8 – №3. – С. 31-47.
9. Френкель, Ю.Д. Прооксидантно-антиоксидантная система головного мозга крыс при гипо- и гипермелатонинемиях / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // *Высокие технологии. фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, фармакологии и медицине.* – Т. 1. – [сб. ст.] - науч. ред. А.П. Кудинов, Б.В. Крылов. - СПб, 2011. – С. 203-208.
10. Kwon N.S. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-derived nitric oxide / N.S. Kwon, D.J. Stuehr, C.F. Hathan // *J. Exp. Med.* – 1991. – V.174, №4. – P.761-767
11. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2003. – V.284, №6. – P. H2053-H2060.
12. Nitric Oxide, Second Edition: Biology and Pathobiology / L.J. Ignarro ed. – [2nd ed.]. – N.Y. : Science Press, 2009. – 845 p.
13. Stamler J.S. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide / J.S. Stamler // *Cell.* – 1994. – V.78. – P.931-936.
14. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // *Life Sci.* – 2007. – V. 80, №4. – P. 329-336.
15. Sarti P. New evidence for cross talk between melatonin and mitochondria mediated by a circadian-compatible interaction with nitric oxide / P. Sarti, M.C. Magnifico, F. Altieri [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – V.14, №6. – P. 11259-11276.
16. Vilar A. Melatonin suppresses nitric oxide production in glial cultures by pro-inflammatory cytokines through p38 MAPK inhibition / A. Vilar, L. de Lemos, I. Patraca [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2014. – V.48, №2. – P. 119-128.

Реферат

РОЛЬ NO-СИНТАЗ В МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЙ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИИ

Френкель Ю.Д.

Ключевые слова: гипомелатонинемия, оксид азота, NO-синтазы, энергетический метаболизм, адениннуклеотиды, головной мозг.

В эксперименте на 25 белых крысах исследована роль функционального состояния NO-синтаз (NOS) в механизмах нарушений содержания и соотношения адениннуклеотидов в ткани головного мозга при хронической экспериментальной гипомелатонинемии, воспроизводимой путем круглосуточного освещения животных в дозе 1500 лк в течение 55 суток. Выявлено, что в этих условиях функционирования нейрональная NOS ограничивает развитие биоэнергетической недостаточности головного мозга. Основной вклад в снижение концентрации макроэргических соединений и энергетического потенциала вносит индуцибельная NOS. Применение L-аргинина ограничивает в условиях хронической экспериментальной гипомелатонинемии снижение АТФ и энергетического потенциала в ткани больших полушарий головного мозга.

Summary

ROLE OF NO-SYNTHASES IN THE MECHANISMS OF IMPAIRMENT OF BIOENERGY PROCESSES IN CEREBRAL TISSUE UNDER CHRONIC MODELED HYPOMELATONINEMIA

Frenkel Yu.D.

Key words: hypomelatoninemia, nitric oxide, NO-synthases, energy metabolism, adenine nucleotides, brain.

The experiment carried out on 25 white rats was designed to study the role of the functional state of NO-synthases (NOS) in the mechanisms of impairment of adenine nucleotides content and value in cerebral tissue under chronic modeled hypomelatoninemia. Animals were exposed to steady illumination at a dose of 1500 lux for 55 days. It has been found out in these conditions the functioning of neuronal NOS limits the development of bioenergy disturbances in the brain. Inducible NOS makes the most contribution to reducing the concentration of macroergic compounds. The use of L-arginine in chronic modeled hypomelatoninemia limits the decrease of ATP and energy resources in cerebral tissues.

УДК 616.33 – 008.3 : 616 - 071

Харченко А.В.

КОМПЛЕКСНАЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

ПНПУ имени В.Г. Короленко, г. Полтава

В участках дисплазии эпителия слизистой оболочки желудка выявлена повышенная пролиферативная активность эпителия, которая подтверждена иммуногистохимически повышенной экспансией маркера Ki-67 (IM>30,0%). Показатели митотического режима эпителия слизистой оболочки желудка преобладают в участках дисплазии. Проводимая диагностика показала изменения ДНК эпителия слизистой оболочки желудка, характерные для дисплазии эпителия разной степени тяжести. В случаях с указанными дисплазиями произошли изменения в виде увеличения размеров ампликонов, характерных для каждой из групп. Указанные изменения носят характер микросателлитных экспансий. Существует сильная корреляционная связь между степенью дисплазии определяемой по фенотипическим признакам и показателями характерными для ДНК-типирования эпителия слизистой оболочки желудка. Коэффициент корреляции Пирсона r_{xy} составил соответственно 0,863 и 0,917. Общий результат свидетельствует о существовании статистически достоверной зависимости с вероятностью 0,99.

Ключевые слова: ДНК, ампликоны, фенотип.

Исследование является фрагментом научно-исследовательской работы Харьковского национального медицинского университета «Формирование современных методов хирургического лечения и профилактики осложнений заболеваний и травм органов грудной клетки и брюшной полости» (№ госрегистрации 0110U002649).

Вступление

Диагностика дисплазии эпителия слизистой оболочки желудка, как предопухолевых изменений является актуальной, всё же только метода биопсии с последующим гистологическим исследованием биоптатов недостаточно для решения этой важной диагностической проблемы [2, 4]. Тяжелая дисплазия характеризуется клеточной атипией, анизокариозом, гиперхрома-

тозом ядер, резким увеличением ядерно-цитоплазматических соотношений и распространенной псевдостратификацией. Среднее содержание ДНК и число клеток в фазе синтеза ДНК резко увеличено [5].

Известно, что злокачественная трансформация имеет определённые перестройки в геноме клеток, это, в свою очередь, может быть выявлено при анализе геномной ДНК [3, 4].

Гистологический метод является обязатель-