

Differential proapoptotic effects of alkaloids

Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine
Department of Regulation of Cell Proliferation and Apoptosis.

Data are presented that the greater celandine (*Chelidonium majus* L.) alkaloids, sanguinarine and chelerythrine, induce apoptosis in human CEM T-leukemia cells, that is accompanied by an early increase in cytosolic cytochrome c preceding processing of procaspases -8, -9, and -3. These alkaloids also intercalated nuclear DNA that positively correlated with their cytotoxic action towards target cells. During apoptosis induction by sanguinarine and chelerythrine, ROS was rapidly generated and mitochondrial ?? dissipated, while the content of Bax, Bcl-2 and Bcl-X(L/S) proteins in the mitochondrial fraction did not change significantly. These changes in the mitochondrial ?? positively correlated with the levels of intracellular ATP and oxidative phosphorylation. Alkaloid-induced activation of caspase-3 and DNA fragmentation were considerably inhibited by ROS scavenger NAC. Another celandine alkaloid, chelidonine induced a delayed (12 h) and only a slight release of cytochrome c, parallel to caspase-3

activation. Chelidonine is known to possess mostly cytostatic effect due to its cytoskeleton impairing action. Rapid effect of sanguinarine or chelerythrine towards mitochondria of target cells was confirmed by marked changes (3 h) in morphology of this organelle, while chelidonine did not affect considerably the intactness of mitochondria. Sanguinarine or chelerythrine also caused (1 h) an intensive DNA damage in the target cells, with a massive increase in number of such impaired cells occurring in 6 h, while chelidonine induced intensive DNA damage in 15-20 % cells only in 24 h. Electron microscopy study of the action of celandine alkaloids confirmed their differential effect towards mitochondria. Concluding, our results demonstrated that the cytotoxic and DNA intercalating alkaloids also impaired mitochondria structure and function, while the proapoptotic effect of cytostatic and cytoskeleton impairing alkaloid was significantly delayed and not dependent on its action towards mitochondria.

© R. Stoika, V. Kaminsky, 2008

УДК: 616.6.34.5

Н.О. Танадайчук

Нові діагностичні показники гострого запалення червоподібного відростка

Харківська медична академія післядипломної освіти
Кафедра клінічної лабораторної діагностики

Ключові слова: гострофазні білки, діагностичні індекси, гострий апендицит

Кількість хворих з гострим запаленням червоподібного відростка на протязі останнього десятиліття реєструється на стабільно високому рівні [Ковальчук Л.Я. і ін., 2002]. При діагностиці цього невідкладного стану реєструється до 15-25% помилок [Гринберг А.П. і ін., 1998], що свідчить про актуальність проблеми діагностики. При діагностиці гострого апендициту використовуються деякі лабораторні показники (ШОЕ, лейкоцитоз, зсув вліво), зміни яких обумовлено патогенезом запалення як типового патологічного процесу. Але коли не всі лабораторні показники змінюються одночасно, то у таких випадках можна використовувати діагностичні індекси розраховані на основі комплексу показників. При використанні індексу береться до уваги тільки одна цифра, діагностичне значення якої можна оцінювати ефективніше [Ткач Ю.І., Танадайчук Н.О., 2007]. При діагностиці гострого апендициту серед доступних джерел інформації ми не знайшли використання гострофазнобілкових показників та діагностичних індексів.

Метою роботи був пошук нових лабораторних діагностичних показників гострого апендициту на основі визначення вмісту у крові деяких гострофазних білків, гематологічних і функціональних критеріїв, зміни яких виникають в результаті альтерації та порушення мікроциркуляції при запаленні червоподібного відростка.

Матеріали та методи. Проведене лабораторне обстеження 155 хворих (85 чоловіків, 70 жінок, віком від 12 до 81 року) з катаральним (26 ч. і 28 ж.), флегмонозним (26 ч. і 25 ж.) та гангренозним (33 ч. і 17 ж.) гострим апендицитом в першу годину після звернення їх за допомогою до хірургічного відділення, та 54 здорових осіб (21 ч. і 33 ж.). У крові визначали загальновідомими методами число лейкоцитів, лімфоцитів, паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, ШОЕ та кількість скорочень серця. У сироватці крові визначали вміст α -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну і церулоплазміну з допомогою імунологічних методів та використання комплектів реактивів по інструкціях фірми-виробника "CORMAY", які сертифіковані в Україні. На основі цих даних вираховува-

© Н.О. Танадайчук, 2008

ли діагностичний індекс [Ткач Ю.І., Танадайчук Н.О., 2008]. Одержані результати обчислювали статистично з допомогою комп'ютера при використанні стандартних програм по t-критерію Ст'юдента, а також з вирахуванням "діагностичних критеріїв" змін показників [Меньшиков В.В., 2000].

Результати та їх обговорення. При порівнянні з результатами здорових людей при катаральному апендициті концентрації α -1-антитрипсину, гаптоглобіну і С-реактивного білка у сироватці збільшувались відповідно – в 1,27, в 1,24 і в 4,1 рази, при флегмонозному – в 2,04, в 1,81 і в 14,82 рази, при гангренозному – в 1,59, в 1,95 і в 20,84 рази (табл. 1), концентрація α 1-церулоплазміну суттєво не змінювалась. У крові реєструвалось помірне збільшення (в 1,2 - 2,2 рази) числа лейкоцитів, паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, ШОЕ і кількості скорочень сер-

ця та зменшення числа лімфоцитів. Величини інтегрованого діагностичного індексу достовірно зростали при катаральному апендициті в 1,88 рази, при флегмонозному – в 2,65, а при гангренозному – в 3,47. По критерію Ст'юдента майже всі визначені показники мають достовірні зміни, але при врахуванні "діагностичної чутливості, специфічності, значимості та ефективності" виявлялось наступне. При гострому катаральному і флегмонозному апендициті реальне діагностичне значення мають тільки підвищення концентрації С-реактивного білка і збільшення величини діагностичного індексу, а при гангренозному - всі показники, які визначались, за виключенням вмісту церулоплазміну. Наші дані співпадають з першорядним значенням гострофазних білків у захисті організму від запальних токсинів та участі інших систем у патогенезі запалення [Долгов В.В., Шевченко О.П., 2007].

Таблиця 1.

Рівень гострофазних білків ($M \pm m$) у сироватці крові жінок і чоловіків при різних формах перебігу гострого апендициту

Гострофазні білки	P	Здорові (n=54)	Гострий апендицит		
			катаральний (n=54)	флегмонозний (n=51)	гангренозний (n=50)
α -1-антитрипсин, мг/л	P	1,424 \pm 0,043	1,813 \pm 0,032 <0,001	2,041 \pm 0,042 <0,001	2,268 \pm 0,039 <0,001
С-реактивний білок, мг/л	P	2,744 \pm 0,146	11,261 \pm 1,051 <0,001	40,684 \pm 2,553 <0,001	57,207 \pm 2,037 <0,001
Гаптоглобін, мг/л	P	1,038 \pm 0,057	1,289 \pm 0,067 <0,01	1,878 \pm 0,131 <0,001	2,025 \pm 0,11 <0,001
Церулоплазмін, мг/дл	P	31,1 \pm 0,979	29,497 \pm 1,585 <0,5	32,837 \pm 1,078 <0,5	29,277 \pm 1,608 <0,5

Примітка: P - відображає різницю між показниками у групі здорових і у групі з гострим апендицитом

Висновки. Суттєве діагностичне значення має зростання концентрації С-реактивного білка у сироватці крові з достовірною різницею між середньостатистичними показниками при катаральному, флегмонозному та гангренозному апендициті, що підтверджується великими величинами "діагностичних критеріїв".

Діагностичний індекс, розрахований по спеціальній формулі на основі визначення деяких біохімічних, гема-

тологічних і функціональних показників, у здорових людей має найнижчі цифрові значення, а при гострому апендициті вони достовірно збільшуються в декілька разів.

Доказовість зростання діагностичного індексу при діагностиці гострого запалення червоподібного відростка підтверджується великими або максимальними величинами "діагностичних критеріїв", що може використовуватись для перспективного впровадження в практику.