

Одним из механизмов гемолитического действия АКЭПЧ является резкое повышение ферментативной гидролитической активности в зоне кровоизлияния, что

в дальнейшем может быть использовано при лечении гемофтальма.

Список литературы

- Грищенко В.І., Снурніков О.С., Дьомін Ю.А., Петренко О.Ю., Сукач О.М., Мазур С.П. Заготівля, криогансерування та клінічне застосування ембріональних клітин людини в офтальмологічній практиці". Методичні рекомендації. Харків, 2000. 15 с.
Бичейкина Н.В., Романцев Е.Ф. Активность общей и свободной кислой фосфатазы в органах крыс при облучении. Радиобиология 1974; XIV, 1: 21-25.
Вилкинсон Д, Принципы и методы диагностической энзимологии. М.: Медицина, 1982. 622 е..
Гундорова Р.А., Малаев А.А., Южашв А.М. Травмы глаза. М.: Медицина. 1986. 365 с.
Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М.: Медицина, 1981. 301 с.

АКТИВНІСТЬ КИСЛОЇ ФОСФАТАЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕМОФТАЛЬМІ ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРЮКОНСЕРВОВАНИХ КЛІТИН ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ.

Д.Ю. Дьомін

Вивчено ефективність трансплантації кріоконсервованих ембріональних клітин печінки с лікуванні експериментального гемофтальму. Трансплантація ЕКПЧ формує високу ферментативну активність в осередку ураження, що сприяє активному знищенню гемофтальму.

Ключові слова: трансплантація, ембріональні клітини, гемофтальм, кисла фосфатаза.

THE ACTIVITY OF ACID PHOSPHATASE UNDER EXPERIMENTAL HEMOPHTHALM AFTER TRANSPLANTATION OF CRYOPRESERVED CELLS OF EMBRYONIC LIVER,

Yu. Diomin

The efficiency of transplantation of cryopreserved cells of human embryonic liver (CCHL) when treating experimental hemophthalm was studied. CCHL transplantation forms a high enzymic activity in the damage focus, that contributes to active hemophthalm resorption.

Key words; transplantation, embryonic liver, hemophthalm, acid phosphoiase.

ЗНАЧЕНИЕ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ СОСУДОВ И ТКАНЕЙ МОЗГА В АКТИВАЦИИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ГЕМОСТАЗА ПРИ ДИЕТЕ, ОГРАНИЧЕННОЙ АНТИОКСИДАНТАМИ

Н.Н. ГРИЦАЙ, В.П. МИЩЕНКО, И.В. МИЩЕНКО

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

Установлено, что безантиоксидантная диета вызывает повышение агрегации тромбоцитов в плазме крови, прокоагулянтной активности в тканях мозга, его сосудах и ликворе подопытных животных. Обсуждается вопрос о роли в этих реакциях перекисного окисления липидов, которое возрастает в крови и тканях мозга при диете, ограниченной антиоксидантами.

Ключевые слова: мозг, перекисное окисление липидов, гемостаз, безантиоксидантная диета.

Вклад реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) и гемостаза в общую картину заболевания зависит как от вида патогенного фактора; так и от функциональной особенности ткани-мишени. Одной из наиболее чувствительных из них является ткань мозга. У млекопитающих в ней есть все условия для протекания процессов ПОЛ на одном из самых высоких для организма уровней. Одновременно она имеет и мощную антиоксидантную защиту (АОЗ), чтобы препятствовать увеличению интенсивности процесса переокисления выше определенного уровня [1].

От активности ПОЛ в мозговой ткани и ее АОЗ зависит коагуляционный потенциал крови [2, 3]. Это может иметь важное значение при патологии головного мозга. Если же питание сопровождается существенным дефицитом витаминов-антиоксидантов, то можно ожидать перестройку реакций ПОЛ и гемостаза как в тканях головного мозга, так и в общем кровотоке.

Выяснению этого вопроса и посвящено настоящее исследование.

Материал и методы. Исследования проведены на 22 кроликах массой 2,5-3,0 кг, разделенных на две группы: контрольную и опытную. Контрольную группу животных содержали на обычном рационе вивария, опытную - в течение 100 дней на полунатуральном безантиоксидантном рационе, включающем жир с низким уровнем токоферола [4]. После указанного срока у животных обеих групп забирали, кровь из бедренной артерии через канюлю; а также ликвор путем пункции спинномозгового канала (в условиях местной анестезии 0,5 %-ным раствором новокаина).

Из полученной крови готовили плазму, богатую (центрифугированием при 1500 г.об/мин в течение 10 мин) и бедную тромбоцитами, (центрифугированием полученной плазмы при 3000:об/мин, 30 мин). В тромбоцитной плазме определяли агрегацию кровяных пластинок, индуцированную АДФ [5]. Бестромбоцитную плазму контрольных животных--использовали как субстратную для определения прокоагулянтных свойств тканей мозга, сосудов и ликвора. "Ткани мозга, цереб-

Препарат ККЭПЧ изготовлен в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков) [1].

После однократной трансплантации ККЭПЧ у животных наблюдали динамику рассасывания гемофтальма в течение 14 суток. Обследование проводили с помощью инструментальных методов (офтальмоскопии, биомикроскопии).

На 3-й, 7-е, 14-е сутки животных умерщвляли методом воздушной эмболии и в ткани стекловидного тела определяли активность кислой фосфатазы. Выделенную ткань промывала в охлажденном растворе 0,25 М сахарозы, гомогенизировали, общую активность кислой фосфатазы определяли после полного высвобождения ферментов из лизосом при добавлении к гомогенату дистиллированной воды и последующей инкубации в течение 1 ч при 37 °С. Активность фермента выражали в мкг неорганического фосфата, освобождающегося при гидролизе за 1 мин. Расчет активности фермента вели на 1 г ткани [2].

Результаты и их обсуждение. Для оценки метаболизма в стекловидном теле в фазе рассасывания кровоизлияния была изучена динамика активности маркерного лизосомального гидролитического фермента - кислой фосфатазы. Этот фермент широко распространен во многих тканях и клеточных структурах организма, преимущественно характеризующихся высокой метаболической активностью (простата, печень, селезенка, эритроциты, клетки МФС) [3]. В стекловидном теле здорового глаза активность кислой фосфатазы, как и многих других ферментов, не выявляется, что объясняется незначительным содержанием клеточных структур в этом органе. Как известно, стекловидное тело содержит незначительное количество специфических клеток (гиалоцитов), не имеет сосудов и нервных окончаний. Однако при гемофтальме в стекловидном теле, отмечаются резкие нарушения метаболизма.

Данные о динамике активности кислой фосфатазы представлены в таблице.

Активность кислой фосфатазы в стекловидном теле при экспериментальном травматическом гемофтальме и его лечении ЭКПЧ, мкг Фц/мин • 1 г ткани

Группа	3-й сут.	7-е сут.	14-е сут.
Контрольная (n = 15)	0,852±0,11 (100)	0,966±0,23 (100)	1,761±1,24 (100)
Опытная (лечение-ККЭПЧ) (n = 17)	6,52±1,54* (765)	6,60±1,13* (683)	7,32±1,85* (415)

—Различия между показателями опытной и контрольной группы достоверны. В скобках - %.

Полученные данные свидетельствуют, что при экспериментальном гемофтальме в стекловидном теле появляется выраженная лизосомальная активность, на что указывает появление кислой фосфатазы.

Первоначальным источником этого фермента, несомненно, являются эритроциты, так как известно, что эти клетки содержат большое количество кислой фосфатазы [3]. По мере гемолиза эритроцитов (3-й и 7-е сутки) содержание фермента нарастает и к 14-м суткам уже в два раза превышает значения показателя из 3-й сутки. Очевидно, эритроциты не могут являться единственным источником кислой фосфатазы столь длительное время, так как к 14-м суткам в нелеченой контрольной группе у животных отмечаются уже остаточные явления гемофтальма и формируется помутненный-стекловидного тела. Хорошо известно, что параллельно с гемолизом эритроцитов происходит их фзгошшз с участием гематогенных макрофагов, которым принадлежит важная роль в рассасывании интравитре-

альных геморрагии [4]. Макрофаги являются важным источником лизосомальных ферментов, в том числе кислой фосфатазы [5].

Следовательно, при экспериментальном гемофтальме в зоне поражения развивается выраженная ферментативная активность, очевидно, вследствие реакций неспецифического клеточного иммунитета.

Парабульбарное введение ККЭПЧ резко повышало гидролитическую активность в стекловидном теле при экспериментальном гемофтальме - активность кислой фосфатазы в этом участке глаза животных, подвергшихся лечению, на 3-й сутки в 7,6 раза превышала аналогичные показатели в контрольной группе в этот период. Динамика активности фермента в опытной группе в абсолютных значениях показателя была аналогична таковой в контрольной группе, то есть происходило постепенное нарастание активности фермента с 3-х по 14-е сутки; однако, если средние данные представить в процентах к контрольным, принятым за 100 %, то можно отметить, наоборот, постепенное снижение разрыва между опытными и контрольными показателями. Так, если на 3-й сутки активность фермента у животных опытной группы превышает контрольные значения в 7,6 раза, то на 14-е сутки - только в 4,1 раза. Это происходит в силу более резкого нарастания активности фермента в контрольной группе и более умеренного нарастания в опытной, где поддерживался высокий и относительно стабильный уровень активности фермента весь период наблюдения.

Возникает вопрос об источнике высокой ферментативной активности пораженного, глаза у животных, получавших лечение ККЭПЧ. В первую очередь, полученные данные могут свидетельствовать о поступлении гидролитических ферментов из эмбриональных клеток печени, что объясняет один из механизмов рассасывающего действия ККЭПЧ. Другим механизмом может служить усиление ККЭПЧ индукции дифференцировки макрофагов из моноцитов крови в месте травматического повреждения [4]. При любом источнике появления

гидролитических ферментов, в том числе кислой фосфатазы, в стекловидном теле при гемофтальме их высокий уровень в очаге повреждения коррелирует с высокой степенью очищения поврежденного участка от остатков кровоизлияния - к 14-м суткам у животных, которым прозодилось лечение ККЭПЧ, стекловидное тело восстанавливает свою прозрачность, в то время как в группе, не подвергшейся лечению, в этот период еще отмечаются явления гемофтальма и формируется выраженная деструкция стекловидного тела.

Таким образом, определение активности маркерного лизосомального гидролитического фермента - кислой фосфатазы - при использовании ККЭПЧ для лечения экспериментального гемофтальма показало, что однократное введение данного препарата формирует высокую ферментативную активность в очаге поражения, что способствует быстрому и эффективному рассасыванию кровоизлияния.

ральных сосудов (средняя мозговая артерия) извлекали после умерщвления животных передозировкой гексенала.

Об антиагрегационной активности тканей сосудов судили по разнице агрегации в тромбоцитной плазме, полученной от интактных животных, без и с добавлением в нее навески экстракта тканей сосуда [6]. Разницу выражали в относительных величинах. По разнице времени рекальцификации [7] бестромбоцитной плазмы интактных животных с добавлением в контроле физиологического раствора хлорида натрия, а в опыте такого же объема экстракта соответствующей ткани судили об их прокоагулянтных свойствах.

Активность процессов ПОЛ в тканях оценивали по накоплению в них конечного продукта - малонового диальдегида (МДА) [8].

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что под влиянием безантиоксидантной диеты в крови опытных животных возросла агрегация тромбоцитов, о чем свидетельствует увеличение угла агрегации на агрегатограмме, по сравнению с таковой у контрольных животных (таблица).

ный рацион вызвал увеличение уровня МДА как в крови, так и в тканях вещества мозга (особенно белого) после 1,5-часовой инкубации. Такие взаимоотношения ПОЛ и состояния микроциркуляторного гемостаза описаны в работах [10, 11].

Наконец, обращает на себя внимание и тот факт, что под влиянием, экстрактов, полученных из средней мозговой артерии, белого вещества мозга и ликвора, у опытных животных сокращается время рекальцификации бестромбоцитной субстратной плазмы (в контроле, при добавлении, в нее физиологического раствора хлорида натрия в том же объеме, что и в экстракты, это время составило $(168,77 \pm 4,14)$ с. Эти данные указывают на то, что в тканях мозга, его сосудах и ликворе увеличивается прокоагулянтная активность. Такая реакция не является случайной, ибо известно, что активация ПОЛ сопровождается увеличением проницаемости, повреждением мембран клеток и тканей и, как следствие, освобождением из них прокоагулянтов. В результате активируется подсистема тромбина в тромбин-плазминовой системе не только крови, но и клеток [12, 13]. Такие коагуляционные изменения структуры разных

влияние безантиоксидантной диеты на некоторые показатели ПОЛ и гемостаза в крови, тканях мозговых сосудов, мозга и ликворе в контрольной (n=10) и опытной (n=12) группах (M±m)

Среда и группа	Агрегация тромбоцитов (угол агрегации, градусы)	Антиагрегационная активность, %	Уровень МДА после 1,5 ч инкубации, на л (в крови) и на кг (в ткани)	Время рекальцификации, с
В плазме крови				
контроль	59,40±16,25		10,67±0,12	86,10±3,16
опытная группа	73,50±1,11		11,25±0,18	70,20±2,68
P	<0,05		<0,05	<0,001
В тканях средней мозговой артерии				
контроль		24,20±14,89	13,12±0,12	16,40±0,39
опытная группа		5,40±2,16	13,62±0,09	12,60±0,44
P		<0,01	>0,05	<0,001
В тканях мозга:				
в белом веществе				
контроль		16,40±3,66	12,38±0,53	30,50±0,34
опытная группа		1,49±0,49	13,97±0,25	24,60±1,38
P		<0,05	<0,05	<0,01
в сером веществе				
контроль		21,30±4,19	12,15±0,68	
опытная группа		9,12±3,93	13,54±0,41	
P		<0,05	<0,05	
В ликворе				
контроль		22,60±1,19		19,30±0,83
опытная группа		16,20±1,12		16,80±0,91
P		<0,05		<0,05

С нашей точки зрения, возрастание агрегации тромбоцитов в циркуляции в значительной мере связано со снижением антиагрегационных свойств сосудов головного мозга, его серого и белого вещества и ликвора. Из таблицы, в частности, следует, что они уменьшились в ответ на безантиоксидантный рацион. По-видимому, в них произошло перераспределение баланса между активностью тромбоксана и простаглицлина в пользу первого; что и привело к падению их антиагрегационной активности сосудистой стенки и повышению агрегации тромбоцитов в общем кровотоке [9].

Такая реакция тромбоцитов в крови и антиагрегационных свойств в тканях может быть связана с активацией ПОЛ. Из таблицы, видно, что безантиоксидант-

сред (крови, клеток, тканей) ведут, в зависимости от их выраженности, к большему или меньшему снижению уровня функциональной активности органов, а при декомпенсации этих реакций - и к развитию их острой недостаточности. Примером тому является тот факт, что нарушение этих реакций и является одной из причин мозговых расстройств кровообращения, в том числе и очень ранних [14].

Таким образом, можно предположить, что активация ПОЛ, которая провоцируется безантиоксидантной диетой, вызывает в тканях мозга усиление тромбоцитоактивных, гемокоагулирующих, а в ликворе - прокоагулянтных свойств, что следует учитывать при нарушениях мозгового кровообращения.

Список литературы

1. Никушкин Е.В. Перекисное окисление липидов в ЦНС в норме и при патологии. *Нейрохимия* 1989; 6,1:124-125.
- 2Г Грицай Н.Н. Тромбоцитозгигивные свойства церебральных сосудов различных животных и человека: Львов, 1986. 18 с.
3. Литвиненко Н.В. Перекисное окисление липидов, физиологическая антиоксидантная система и гемостаз в тканях головного мозга в норме, при различных экспериментальных состояниях и их регуляция полипептидом кортексином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Харьков, 1992. 20 с.
4. Воскресенский О.Н., Витт В.В. Изменение артериальной стенки кроликов при длительном кормлении их нативным и окисленным жиром. *Арх. пат.*, 1971; 6: 51-55.
5. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; 11: 927-929.
6. Лакин К.М., Балуда В.П., Макаров В.А. Оценка антиагрегационной активности лекарственных препаратов: Метод, рекомендации. М., 1981: 15-18.
7. Bergerhof H.D., Roka L. Estimation of plasma recalcification time. *Zschr. Vitamin-Hormon und Fermentforsch.* 1954; 6: 25-39.
8. Бруссов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина. *Бюл. эксп. биологии и медицины* 1976; 81, 1: 33-63.
9. Балуда В.П., Балуда В.М., Деянов И.Л. Физиология системы гемостаза. М., 1995. 245 с.
10. Мищенко В.П. Физиология гемостаза и ДВС-синдром. Полтава: Укручетиздат ПК 1998. 164 с.
11. Міщенко С.В. Нормалізуючий вплив тканинних поліпептидів на гемостаз після гама-опромінення та дії фтору на організм: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Полтава, 1999. 16 с.
12. Монастирський В.А. Коагулологія як наука про коагуляцію і регенерацію основних біологічних середовищ. *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія* 1998; 2: 56-66.
13. Монастирський В.А. Унітарна теорія модулювання структурно-функціонального гомеостазу основних середовищ організму в онтогенезі в умовах норми і при патології. *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія* 1999; 2: 99-106.
14. Грицай Н.Н. Индивидуализация лечения больных с начальными нарушениями кровоснабжения головного мозга на основе изучения патогенетических механизмов: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. К., 1994. 33 с.

ЗНАЧЕННЯ ЦЕРЕБРАЛЬНИХ СУДИН І ТКАНИН МОЗКУ В АКТИВАЦІЇ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ГЕМОСТАЗУ ПРИ ДІЄТІ, ОБМЕЖЕНОЇ АНТИОКСИДАНТАМИ.

Н.Н. Грицай, В.П. Мищенко, І.В. Мищенко

Встановлено, що безантиоксидантна дієта викликає підвищення агрегації тромбоцитів у плазмі крові, прокоагулянтної активності в тканинах мозку, його судинах і лікворі підслідних тварин. Обговорюється питання про роль у цих реакціях перекисного окиснення ліпідів, що зростає у крові та тканинах мозку при дієті, обмеженій антиоксидантами.

Ключові слова: мозок, перекисне окиснення ліпідів, гемостаз, безантиоксидантна дієта,

THE CEREBRAL VESSELS AND BRAIN TISSUES SIGNIFICANCE IN PEROXIDATIVE LIPID OXIDATION AND HAEMOSTASIS ACTIVATION WITH USING A DIET RESTRICTED BY THE ANTIOXIDANTS.

N. Gritzay, V. Mishchenko, I. Mishchenko

It was established that the antioxidant-free diet causes the thrombocyte aggregation increase in the blood plasma of rabbits, the procoagulative activity in the brain tissues, its vessels and cerebrospinal fluid of the experimental animals. The question about the peroxidative lipid oxidation role in these reactions is discussed. The peroxidative lipid oxidation level raises in the blood and the brain tissues while using a diet restricted by the antioxidants.

Key words: brain, peroxidative lipid oxidation, haemostasis, antioxidant-free diet.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПРОТИВОЯЗВЕННОГО ДЕЙСТВИЯ КАПСУЛ «ПРОПОЛТИН»

В. В. ЧИКИТКИНА, Л. В. ЯКОВЛЕВА, А. И. ТИХОНОВ, О. С. ДАНЬКЕВИЧ

Национальная фармацевтическая академия Украины, г. Харьков

Проведено экспериментальное изучение механизмов противоязвенного действия капсул «Прополтин», разработанных на основе полифенольной субстанции прополиса. Установлено, что усиление репаративных процессов капсулами «Прополтин» при экспериментальном язвенном поражении слизистой оболочки желудка обусловлено не влиянием на нуклеиновый обмен, а выраженными антиоксидантными свойствами, соответствующими эффекту препарата сращения витамина Е. Антиоксидантные свойства капсул «Прополтин» обеспечивают им более выраженное противоязвенное действие, чем то, которое проявляет метилурацил, благодаря стимуляции нуклеинового обмена. Капсулы «Прополтин» рекомендованы как эффективное лекарственное средство в комплексной терапии язвенной болезни.

Ключевые слова: прополтин, экспериментальная язва желудка, противоязвенная и антиоксидантная активность, нуклеиновый обмен.

В последние годы в связи с установлением связи повреждения клеточных мембран с деструкцией слизистой оболочки желудка (СОЖ) изучается вопрос использования в лечении язвенной¹ болезни желудка цитопротектороз антиоксидантного действия, которые представлены преимущественно токоферолом, каротиноидами, витаминами А и С, флавоноидами [1-3]. На-

званные препараты, а также синтетический антиоксидант дибунол пока не нашли широкого применения в гастроэнтерологии, что вызывает необходимость дальнейших исследований в этом направлении [4].

Данная работа посвящена изучению влияния природного антиоксиданта на основе прополиса на течение экспериментальной язвы желудка у крыс.