

ланс між швидкістю окислення і швидкістю деградації окислених білків. Тому підвищення ОМБ у 18-місячних щурів ми розцінили як можливий наслідок посилення металокаталізованого окислення білків, за рахунок нагромадження в тканинах з віком металів змінної валентності, вікової недосконалої антиоксидантної системи та зниження активності специфічних протеаз.

Таким чином, в процесі реалізації токсичного впливу солянокислого гідразину на організм важлива роль належить як ПОЛ, так і ОМБ, тому одночасне вивчення цих процесів дає змогу більш адекватно оцінювати важкість ураження організму та застосовувати відповідні методи корекції.

Одержані дані вказують також на доцільність використання за даної патології, особливо в старшому віці як з лікувальною, так і профілактичною метою антиоксидантів, металокомплексонів та протеолітичних ферментів, дія яких спрямована відповідно на інактивацію АФК, продуктів пероксидації ліпідів і окислено модифікованих білків.

ВИСНОВКИ 1. У процесі старіння інтактних тварин інтенсивність ПОЛ знижується, тоді як ступінь окислювальної модифікації білків зростає. **2.** Введення солянокислого гідразину супроводжується значним пошкодженням не лише ліпідів, але й білкових молекул і вираженість цих змін залежить від особливостей біотрансформації ксенобіотика і віку.

1. Авакян А.Х. Новые молекулярные критерии оценки токсического действия производных гидразина. Активные формы кислорода как ключевые агенты в механизме токсичности // Фармакол. и токсикол. – 1990. – 53, № 1. – С. 70

2. Белов А.А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных // Промышленная токсикология. – 2000. – № 1. – С.25-31.

3. Блюгер А.Ф., Карташова О.Я. Моделирование патологических процессов в печени. – В кн.:экспериментальная патология печени. – Рига: Зинатне. – 1983. – С.9-16.

4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М. – 1972. – 252 с.

5. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лившиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы мед. химии. – 1989. – № 1. – С.127.

6. Гидразин. Гигиенические критерии состояния окружающей среды: Совместное издание Программы ООН. – Женева. ВОЗ, 1991. – 82 с.

7. Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. Окислительная модификация белков // Успехи современной биологии. – 1993. – Том113, Вып.1. – С.71-79.

8. Журавлев А.И. Спонтанная сверхслабая биофлуоресценция – основа квантовой биологии // Успехи современной биологии. – 1991. –Том 11, Вып.1. – С.144-153.

9. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковинський мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – с.156-158.

10. МозжухинаТ.Г., Потапенко Р.И., Орличенко Л.С. и др. Изучение характеристик генетического аппарата клеток печени мышей при старении // Укр.биохим.журн. – 1996. – 68, № 4. – С.84-89.

11. Парамонова Г.И. Возрастные особенности системы микросомального окисления печени крыс: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Киев, 1983. – 24с.

12. Фрольск В.В, Мурадян Х.К. Экспериментальные пути продления жизни. – Л., – 1988. – 229 с.

13. Cabisco E., Levine R.L. Carbonic anhydrase III.Oxidative modification in vivo and loss of phosphatase activity during aging // J.Biol.Chem. – 1995. – Vol.270. – № 2. – P.14742-14747.

14. Lamb R.G., Williams W.L. Effect of hydrazine exposure on hepatic triacylglycerol biosynthesis // Biochem.Biophys.Acta. – 1979. – Vol.574, № 3. – P.440-447.

Годлевський Л.С., Шандра О.А., Жилінська Г.В., Брусенцов О.І., Лобашова О.І.

ПРОТИЕПІЛЕПТИЧНІ ЕФЕКТИ ФАКТОРІВ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ, ОТРИМАНОЇ ЗА УМОВ ЕЛЕКТРИЧНОГО ПОДРАЗНЕННЯ МОЗОЧКА

Одеський державний медичний університет

ПРОТИЕПІЛЕПТИЧНІ ЕФЕКТИ ФАКТОРІВ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ, ОТРИМАНОЇ ЗА УМОВ ЕЛЕКТРИЧНОГО ПОДРАЗНЕННЯ МОЗОЧКА – За умов гострого експерименту на щурах-самцях лінії Вістар показано, що ED₅₀ NMDA, яка викликає клонічні судоми при внутрішньо-ошлуночковому введенні складає 0,30 мг, а ED₅₀ NMDA, яка викликає тонічну екстензію передніх кінцівок, – 2,66 мг на тварину. Визначення вказаних показників за умов внутрішньошлуночкового застосування пептидвміщуючої фракції ЦСР котів після електростимуляції кори мозочка, яка була виділена методом високоафінної хроматографії і вміщувала фактори молекулярної маси 14000 Дальтон (10 нг на щура), показало їх збільшення відповідно до 0,69 і 11,36 мг на тварину. Отримані результати свідчать про можливу нейропротекторну роль пептидних факторів ЦСР, які звільняються за умов активації утворень мозочку.

ПРОТИВОЕПІЛЕПТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ФАКТОРОВ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ, ПОЛУЧЕННОЙ ПРИ УСЛОВИЯХ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗДРАЖЕНИЯ МОЗГЕЧКА – В острых экспериментах на крысах-самцах линии Вистар показано, что ED₅₀ NMDA, вызывающая клонические судороги при внутривентрикулярном введении составляет 0,30 мг, а ED₅₀ NMDA, вызывающая тоническую экстензию передних конечностей, – 2,66 мг на животное. Определение указанных показателей в условиях внутривентрикулярного применения пептидсодержащей фракции ЦСЖ кошек после электростимуляции коры мозжечка, выделенной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и содержащей факторы молекулярной массой 14000 Дальтон (10 нг на крысу) показало их увеличение соответственно до 0,69 и 11,36 мг на животное. Полученные результаты свидетельствуют о возможной нейропротекторной роли пептидных факторов ЦСЖ, высвобождающихся в условиях активации структур мозжечка.

ANTIPILEPTIC EFFECTS OF CEREBRO- SPINAL FLUID WHICH WAS GOT AFTER ELECTRICAL STIMULATION OF CEREBELLUM – It was shown in acute experiments on male Wistar rats that ED₅₀ of NMDA, which was

able to induce clonic seizures in rats after intracerebroventricular administration was equal to 0,30 mcg, and ED₅₀ of NMDA, which induced tonic extension of forelimbs was 2,66 mcg per animal. Determination of these indices under condition of intracerebroventricular administration of peptide- containing fraction of cat's CSF to which electrical stimulations of cerebellar cortex were performed and which was enriched with 14000 Da peptides after HPLC s filtration (10 ng/rat), revealed the increasing of them up to 0,69 and 11,36 mcg/animal correspondently. Obtained data showed the possible neuroprotective role played by peptide factors of CSF which are elaborated by activation of cerebellar structures.

Ключові слова: цереброспінальна рідина, високоефективна рідинна хроматографія, пептиди, NMDA.

Ключевые слова: цереброспинальная жидкость, высокоэффективная жидкостная хроматография, пептиды, NMDA.

Key words: cerebrospinal fluid, HPLC, peptides, NMDA.

ВСТУП Встановлено, що гуморальні речовини цереброспінальної рідини (ЦСР) пептидної природи забезпечують розвиток протиепілептичних ефектів активації нейрональних утворень антиепілептичної системи [1]. Діяльність антиепілептичної системи є максимальною в період припинення судомного нападу і саме в цей період відбувається найбільш інтенсивний синтез та вивільнення гуморальних посередників цієї системи [1,3]. В попередніх наших дослідженнях було встановлено, що за умов електричного подразнення (ЕП) черв'яка мозочка котів в ЦСР з'являються гуморальні фактори, які забезпечують гальмівні ефекти відносно до пікротоксин вик-

ликаних судом у щурів [3,6]. Залишається відкритим питання щодо впливу вказаних речовин на інші форми судомної активності.

Метою дійсного дослідження стало вивчення впливу активної фракції ЦСР, яка з'являється після ЕП кори мозочка, на судомну активність, індуковану у щурів за допомогою внутрішньошлункового застосування NMDA.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Експерименти проведено на 12 котах-самцях масою 3,0-3,5 кг та на 132 щурах-самцях лінії Вістар масою 250-320 г. Кожна група щурів-реципієнтів включала не менше ніж 9 тварин, яким застосовували ЦСР одного кота-донора. Тварин утримували за звичайних умов годування, 12-годинному ритмі зміни світла та темноти та температурі 20-24 °С.

Тварини-донори. Під ефірним наркозом тваринам-донорам імплантували електроди в найбільш латеральні відділи гемісфер мозочка таким чином, що можливим було виконання "трансцеребрального" ЕП [6].

Отримання ЦСР здійснювали за допомогою субоципітальної пункції. Гордокс ("Gedeon Richter", Угорщина) (1,000 Одиниць) чи бацитрацин (1 мг) додавали до 1 мл отриманої ЦСР для пригнічення протеазної активності. З метою верифікації пептидної природи активного компонента ЦСР зразки рідини інкубували з протелітичними ензимами – проназою Е ("Serva", Німеччина) протягом 2 годин [3]. Реакцію зупиняли шляхом кип'ятіння, і 10 мкл рідини (10 нг сухого залишку), отриманої після процедур високоефективної рідинної хроматографії, вводили тваринам-реципієнтам (контрольна група).

Отримання активної фракції ЦСР. Спочатку проводили гель-фільтрацію зразків ЦСР за допомогою "Сефадексу- G-75" ("Pharmacia", Швеція) і скляних колонок 2,6 мм на 80 мм (Zorbax "Du Pont", США). Елюцію виконували за допомогою 0,02 М фосфатного буферного розчину (рН=6,0), який додавали таким чином, що підтримувалась швидкість елюції на рівні 0,5 мл/хв⁻¹. Отриманий елюат потім фракціонували на високоефективному рідинному хроматографі "Gilson" (Франція) за допомогою колонки "Lichrosorb RP-8" (160 мм на 25

см). Елюцію виконували за допомогою 0,1 М фосфатного буфера (рН=6,0) зі швидкістю 1,0 мл/хв⁻¹ та тиску 23 МПа. Для подальших досліджень використовували фракцію з молекулярною масою близько 14,000 Дальтон (умовна назва – фракція №4) [1].

Щури- реципієнти. Фракцію ЦСР вводили в бокові шлуночки згідно з координатами атласу [5] (AP=0,8; L=1,5; H=3,5) за умов вільної поведінки через попередньо імплантовані канюлі. Використовували мікроін'єктор, який дозволяв вводити 10 мкл рідини протягом 1,5-3 хв.

Моделювання судомної активності. Судоми викликали за допомогою мікроін'єкцій NMDA в лівій боковий шлуночок через попередньо імплантовані направляючі канюлі. NMDA ("Sigma", США) розчиняли в 0,9 % розчині NaCl і вводили в об'ємі 10 мкл протягом 1,5-3,5 хв за допомогою мікроін'єктора. Після мікроін'єкції тварин розміщували в пластмасовій камері і спостерігали поведінку протягом 30 хв. Розрахунок ефективних доз NMDA (ED₁₆, ED₅₀, ED₈₄, ED₁₀₀), які викликали клонічні судоми та характерну тонічну екстензію передніх кінцівок [9] у 16, 50, 84 і 100 % тварин відповідно здійснювали за методом пробіт-аналізу. При цьому для розрахунку доз препарату, які викликали клонічні судоми, використовували діапазон доз NMDA: від 0,1 до 0,6 мкг, а для тонічної екстензії передніх кінцівок – від 1,0 до 10,0 мкг. Крім розрахунку вказаних доз, визначали також стандартну помилку дози ED₅₀.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Дослідження ефектів NMDA у щурів контрольної групи (внутрішньошлункове введення фракції № 4, обробленої проназою) показало, що через 5-15 с з моменту ін'єкції відносно невисокої дози NMDA (0,5 мкг на тварину) в останніх розвивались короточасні завмирання, які супроводжувались збільшенням амплітуди та частоти дихальних рухів, розвитком екзофталъму і підвищенням тону хвоста. Клонічні судоми м'язів кінцівок, підсакування та швидкий біг виникали протягом наступних 10-30 с у 90 % експериментальних тварин (табл. 1). Розрахована величина ED₅₀ NMDA, яка викликала клонічні судоми, склала 0,30 мкг.

Таблиця 1. Дозозалежне виникнення NMDA- викликаной судомної активності за умов застосування пептидної фракції ЦСР котів з ЕП мозочка

	ED ₁₆ , мкг	ED ₅₀ , мкг	ED ₈₄ , мкг	ED ₁₀₀ , мкг	Помилка ED ₅₀ , мкг
Клонічні судоми					
Контроль (внутрішньошлунковий фіз. розчин+NMDA)	0,15	0,30	0,46	0,53	0,004
NMDA+ фракція ЦСР №4	0,34	0,69	1,05	1,23	0,09
Тонічна екстензія передніх кінцівок					
Контроль (внутрішньошлунковий фіз. розчин+NMDA)	1,09	2,66	4,23	5,02	0,36
NMDA+ фракція ЦСР №4	3,99	11,36	18,72	22,41	1,84

Використання відносно високої дози NMDA (5,0 мкг) у щурів контрольної групи викликало виразні стрибки, стрімкі пробіжки протягом 5-20 с з моменту введення препарату. У щурів також спостерігалась вокалізація, екзофталъм, підвищений тону хвоста, ротаційні рухи. Протягом 1-5 хв з моменту введення NMDA у всіх тварин спостерігалась характерна екстензія передніх кінцівок з екстензією пальців кисті тривалістю від 1 до 5 с, після чого відмічались тривалі флексії передніх кінцівок, екстензії і флексії задніх кінцівок, втрата рівноваги. У щурів спостерігались повторні судоми з тонічною екстензією передніх кінцівок, які не приводили до загибелі тварин. ED₅₀ NMDA, яка викликала тонічну екстензію, склала 2,66 мкг і була більшою від ED₅₀ NMDA, яка викликала клонічні судоми, у 8,87 раза.

Дослідження ефектів внутрішньошлункового застосування NMDA у тварин, яким вводили фракцію № 4, показало, що за умов введення відносно низької дози NMDA (0,5 мкг) через 7-

30 с з моменту мікроін'єкції в щурів виникав швидкий біг, екзофталъм, підвищувався тону хвоста. Протягом наступних 15-40 с спостерігались клонічні судоми та швидкий біг спостерігались у 3 з 10 щурів (табл. 1). Розрахована величина ED₅₀ NMDA, яка викликала клонічні судоми, склала 0,69 мкг. Висока доза NMDA (5,0 мкг) викликала стрибки та швидкий біг щурів через 15-50 с з моменту введення, і на 5-й та 8-й хв спостерігались тонічні екстензії передніх кінцівок у 2 з 10 щурів. У тварин були відсутні повторні екстензії. ED₅₀ NMDA, яка викликала тонічну екстензію, склала 11,36 мкг, що було більше ED₅₀ NMDA, яка викликала клонічні судоми, в 16,5 раза.

Таким чином, проведені дослідження показали, що за умов розвитку застосування фракції № 4 ЦСЖ котів з ЕП утворення мозочка спостерігається ефект зниження епілептогенного впливу NMDA. За цих умов спостерігаються пригнічення формуваних судомних реакцій, так і тонічних судом. Слід зауважити, що більшою мірою гальмуються тонічні су-

домні реакції, ніж клонічні – ED₅₀ NMDA, яка викликала клонічні судоми, знижувалась в 2,3 раза, а доза, яка викликала тонічні екстензії передніх кінцівок – в 4,3 раза.

Цей момент має важливе значення, оскільки стосовно до розвитку тонічних судом показана роль низки утворень мозку, зокрема ретикулярної формації стовбура мозку [2]. Відомо також специфічна роль ретикулярної частини чорної речовини у формуванні тонічного компонента судомної реакції [1,2]. Можна припустити, що фактори ЦСР мають значний вплив на нейрональні утворення чорної речовини та інші структури, які беруть участь в формуванні тонічного компонента судом.

ВИСНОВОК Враховуючи нейротоксичні ефекти агоністів збуджувальних кислот, їх роль у виникненні та розвитку ішемічних ушкоджень мозку [1,7,8], встановлена протисудомна ефективність гуморальних компонентів ЦСР, які звільняються завдяки активації структур мозочку, вказують на їх можливу нейропротекторну роль в організмі тварин та людини.

1. Шандра А.А., Годлевский Л.С., Брусенцов А.И. Киндлинг и эпилептическая активность. – Одеса: Астропринт, 1999. – 270 с.

2. Шандра А.А., Годлевский Л.С., Мазарати А.М., Макулькин Р.Ф. Роль черной субстанции в противосудорожных и антиагрессивных эффектах диазепема при фармакологическом киндлинге // Нейрофизиология. – 1990. – Т. 22, № 4. – С. 389-391.

3. Kryzhanovsky G.N.; Shandra A.A.; Godlevsky L.S.; Karganov M.Yu. Antiepileptic properties of cerebrospinal fluid after activation of the antiepileptic system of the brain // Epilepsia. – 1989. – V. 30. – P. 631-635.

4. Olson G.A.; Olson L.D.; Kastin A.J. Endogenous opiates:1987. Review // Peptides. – 1989. – V. 10. – P. 205-236.

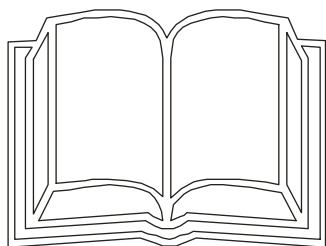
5. Paxinos G.; Watson C. The rat Brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press; 1982.

6. Shandra A.A.; Godlevsky L.S.; Mazarati A.M.; Panenko A.V.; Tkachenko I.V.; Chirkov Yu.P. On the mechanism of antiepileptic peptides appearance in the cerebrospinal fluid // Brain Research Bulletin. – 1994. – V.35. – P. 285-287.

7. Tortella F.C.; Long J.B. Characterization of opioid peptide-like anticonvulsant activity in rat cerebrospinal fluid // Brain Research. – 1988. – V. 45. – P. 139-146.

8. Tortella F.C. Opioids: Epilepsy and Neuroprotection. Handbook of Experimental Pharmacology. – 1993. – V. II. – P.343-360.

9. White H.S., Wolf H.H., Swinyard E.A., Skeen G.A., Sofia R.D. A neuropharmacological evaluation of felbamate as a novel anticonvulsant // Epilepsia. – 1992. – V. 33, № 3. – P. 564-572.



ВИДАВНИЦТВО “УКРМЕДКНИГА”

Тернопільської державної медичної академії ім.І. Я. Горбачевського

Т.1 ISBN 966-7364-24-0, Т.2 ISBN 966-7364-27-5.

Дозвіл МОЗ. Видання – 1999 р.

**Ковальчук Л.Я., Спіженко Ю.П.,
Саєнко В.Ф., Книшов Г.В.,
Ничитайло М.Ю. та ін.**

**КЛІНІЧНА ХІРУРГІЯ (у II томах) (керівництво). –
1025 с. Тв. обкл.**

Книга призначена для лікарів-хірургів різних профілів. У ній висвітлені основні проблеми торакальної, серцевої, судинної, гастроентерологічної та ендокринної хірургії.

Керівництво містить багато ілюстрацій, нозологічні форми чітко структуровані та систематизовані.

Підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів освіти III-IV рівнів акредитації.

Ціна 57,50 грн.