

# Фізіологічний журнал

ТОМ 57 № 2 2011

---

Науково-теоретичний журнал • Заснований у січні 1955 р.

---

Виходить 1 раз на 2 місяці

---

## Зміст

- Кузьменко М.О., Павлюченко В.Б., Тумановська Л.В., Досенко В.Є., Мойбенко О.О.*  
Співвідношення порушення насосної функції міокарда  
та його скоротливості за умов  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції серця щурів . . . . . 3
- Долга О.В., Погорсла Н.Х., Богорад–Кобельська О.С., Андронаті С.А., Магура І.С.*  
Вплив аміксину на електрофоретичну рухомість Т-лімфоцитів миші . . . . . 14
- Шиш А.М., Пашевін Д.О., Досенко В.Є., Мойбенко О.О.* Корекція порушень  
перекисного окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту за допомогою  
біофлавоноїдів при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів . . . . . 19
- Носенко Н.Д., Ганжий І.Ю., Сініцин П.В., Полякова Л.І., Тарасенко Л.В.,  
Лимарева А.А., Чайковська Л.В., Сачинська О.В., Резніков О.Г.* Вплив хронічного  
стресу в пубертатний період на репродуктивну систему самиць щурів  
з експериментальною гіперандрогенією . . . . . 27
- Рижкова Н.А., Гавриленко Т.І., Пархоменко О.М., Кожухов С.М.* Метаболічна  
активність нейтрофільних гранулоцитів і можливі шляхи її корекції у хворих  
з гострим коронарним синдромом . . . . . 35
- Атаман О.В., Атаман Ю.О.* Порівняльна характеристика порушень  
енергозабезпечення стінок артерій та вен у кролів з алоксановим діабетом  
і моноодацетатною інтоксикацією . . . . . 43
- Кальниш В.В., Швець А.В., Єщенко О.І.* Зміни розумової працездатності операторів  
за умов добової трудової діяльності . . . . . 49
- Язловицька Л.С., Хара М.Р., Паламар Л.Г.* Вікові особливості функціонального стану  
серцево-судинної системи дітей із церебральним паралічем . . . . . 58
- Денефіль О.В.* Значення адрено- і холіноблокаторів у забезпеченні автономного  
балансу серцевого ритму за різних типів погоди . . . . . 66
- Коряк Ю.А.* Функциональные свойства нервно-мышечного аппарата человека  
и их изменения в результате механической разгрузки разной длительности . . . . . 76

*Жуromський В.С., Склярів О.Я.* Вплив вітаміну С на NO-синтазну активність  
за умов експериментальної виразки шлунка . . . . . 90

*Ковальова О.В.* Особливості впливу електромагнітного поля низькочастотного  
електричного струму на пренатальний розвиток . . . . . 99

**ХРОНІКА**

Кафедрі фізіології Донецького національного медичного університету  
ім. М.Горького – 80 років . . . . . 105

М.О. Кузьменко, В.Б. Павлюченко, Л.В. Тумановська,  
В.Є. Досенко, О.О. Мойбенко

## Співвідношення порушення насосної функції міокарда та його скоротливості за умов $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції серця щурів

*В експериментах на щурах з тривалою активацією (протягом місяця)  $\beta$ -адренергічних рецепторів досліджено комплекс структурно-функціональних перебудов міокарда. Встановлено істотне послаблення насосної функції міокарда: зниження ударного об'єму на 38,50 % ( $P < 0,01$ ), хвилинного об'єму крові – на 42,38 % ( $P < 0,01$ ), фракції викиду – на 35,61 % ( $P < 0,01$ ). Разом з тим підвищувалися кінцево-діастолічний тиск лівого шлуночка (у 2 рази,  $P < 0,01$ ) та константа активного розслаблення (на 12,91 %,  $P < 0,05$ ). Ці зміни свідчать про наявність діастолічної дисфункції серця, розвиток якої пов'язаний з накопиченням сполучнотканинних елементів у міокарді та збільшенням його кінцево-діастолічної жорсткості, що в результаті може призвести до порушень насосної функції серця. Досить неочікуваним для нас виявився факт значного зростання скоротливості міокарда не тільки після застосування агоніста  $\beta$ -адренорецепторів, але й через 26 діб після його відміни. Про це свідчить збільшення максимальної швидкості приросту тиску на 49,9 % ( $P < 0,01$ ), а також кінцево-систолічної та максимальної жорсткості міокарда у 2,5 рази ( $P < 0,01$ ) та на 42,53 % ( $P < 0,05$ ) відповідно. Цей феномен можна пояснити компенсаторним збільшенням скоротливої функції міокарда за даних умов, але вона виявляється недостатньою для підтримання адекватної насосної функції серця та, більше того, може призводити до виснаження енергетичних ресурсів серця.*  
*Ключові слова:*  $\beta$ -адренорецептори, скоротливість, насосна функція, серце.

### ВСТУП

Відомо, що  $\beta$ -адренергічна система відіграє важливу роль у модуляції функції міокарда [18]. Завдяки позитивному іно- та хронотропному ефектам вона набуває критичного значення для адаптації серця до змінених умов навантаження, зокрема, при стресі чи фізичному тренуванні. Впродовж декількох секунд організм здатний суттєво підвищити хвилинний об'єм крові (ХОК) для забезпечення належного рівня постачання тканин киснем. Разом з тим функціонування  $\beta$ -адренергічної системи не розраховано на тривале підтримання збільшеної скоротливості серцевого м'яза. У певний момент позитивні адаптивні ефекти  $\beta$ -ад-

ренергічної стимуляції трансформуються у несприятливі фактори розвитку дисфункції міокарда і прогресування серцевої недостатності [12]. Встановлено, що концентрація норадреналіну в крові збільшується після інфаркту міокарда та при серцевій недостатності, що корелює з розвитком дисфункції лівого шлуночка (ЛШ) і є незалежним прогностичним фактором [11].

Ефекти  $\beta$ -адренергічної гіперактивації на функцію серцево-судинної системи досліджуються досить активно [17, 23, 40]. Останнім часом для вивчення цього питання широко використовуються генетичні моделі надекспресії [18] та нокауту [13] генів  $\beta$ -адренорецепторів, а також тривале застосування їх агоністів, зокрема, ізопро-

теренолу (ІЗО) [9, 27, 32, 40]. Крім того, проводиться пошук можливих лікувальних засобів або підходів до корекції станів, що розвиваються внаслідок надмірної  $\beta$ -адренергічної активації [14, 32, 33].

Хронічна активація  $\beta$ -адренергічної системи призводить до зниження щільності  $\beta$ -адренергічних рецепторів, зменшення кількості внутрішньоклітинного месенджера цАМФ, а також обмеження входу іонів кальцію до клітини, що спричинює зменшення інотропних відповідей міокарда [28]. Ці зміни супроводжуються синтезом різноманітних білків у міокарді, зокрема скоротливих протеїнів, які зумовлюють гіпертрофію м'язових волокон, і білків позаклітинного матриксу (колагену, фібрoneктину, ламініну), що сприяє розростанню сполучнотканинних елементів [22]. Сукупність структурних перебудов залежить від балансу білків і відображається на функціональному стані серця, який може характеризуватися збереженням скоротливої функції внаслідок переважного розвитку концентричної гіпертрофії та/або діастолічними порушеннями в результаті зростання жорсткості міокарда [28]. На моделі перфузованих за Лангендорфом сердець показано [9], що застосування відносно великих доз ІЗО погіршувало здатність ЛШ до розслаблення, але систолічна функція при цьому залишалася нормальною. Деякі автори спостерігали порушення систолічної функції [20, 21, 32, 39], проте відмічено і підвищення індексів скоротливості [15]. Більш тривале (протягом 3 міс) введення ІЗО стимулювало прогресування насосної дисфункції ЛШ, зумовлене швидше за все дилатацією порожнини ЛШ, ніж змінами скоротливої функції міокарда [27].

Отже, дані літератури досить суперечливі та не дають повного уявлення про розвиток комплексу структурно-функціональних перебудов міокарда за умов  $\beta$ -адренергічної гіперактивації, та, зокрема, змін основних показників діяльності серця в

умовах функціонування цілого організму. Раніше нами було встановлено, що під впливом введення ІЗО порушується діяльність серця, збільшується співвідношення маси серця до маси тіла щурів та виявляється початок розвитку фібротичних явищ у міокарді [2]. Але яким чином зміни будуть розвиватися у разі відміни дії ІЗО та проявлятися у досить відстрочений термін – невизначено, а саме це може дати підставу для використання засобів корекції для попередження розвитку і трансформації гіпертрофії у прояви серцевої недостатності.

Метою нашої роботи було дослідження впливу  $\beta$ -адренергічної гіперактивації на головні показники діяльності серця (скоротливість, насосну та діастолічну функцію) *in vivo* саме на відстроченому етапі стимуляції  $\beta$ -адренорецепторів, а також встановлення супутніх морфологічних змін.

## МЕТОДИКА

Експерименти було проведено на самицях щурів лінії Вістар, яких було розподілено на дві групи: контрольну та дослідну. До контрольної групи ввійшли щури ( $n=10$ ), яким вводили протягом 7 діб фізіологічний розчин. Тварини дослідної групи ( $n=7$ ) отримували впродовж 7 діб підшкірні ін'єкції ІЗО (5 мг/кг на добу). Після закінчення вказаного терміну тварин утримували за звичайних умов протягом 26 діб. На 34-ту добу після початку ін'єкцій усіх тварин було використано для функціональних і гістологічних досліджень для оцінки ступеня ураження міокарда. Всі експериментальні процедури виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986р. (86/609/ЕЕС).

Щурів анестезували за допомогою уретану (1,25 г/кг, внутрішньоочеревинно), фіксували і препарували праву сонну артерію. Ультрам'ясокристальний катетер 2F

(«Millar Instruments», США) вводили через праву сонну артерію ретроградно у ЛШ, що давало змогу одночасно реєструвати сигнали тиску і об'єму ЛШ з візуалізацією кривих залежності цих показників протягом серцевого циклу [10, 29]. Запис показників кардіогемодинаміки було здійснено у двох режимах: у вихідному стані та за умов тимчасової (протягом 7–10 с) оклюзії черевної порожнистої вени.

За концепцією Suga і Sagawa [35, 36], ЛШ серця можна розглядати як модель, що характеризується змінною у часі жорсткістю (time-varying elastance). Протягом серцевого циклу ЛШ розвиває відповідний об'єму тиск, що описується кривими залежності. В кожній точці серцевого циклу еластичні властивості ЛШ можна оцінити за допомогою жорсткості міокарда (ЖМ), яка збільшується при переході серця з діастолічної фази у систолу. У межах цієї концепції при тимчасовій оклюзії нижньої порожнистої вени або аорти визначають такі показники: кінцево-сistolічне співвідношення тиску і об'єму, кінцево-сistolічна жорсткість міокарда ( $ЖМ_{кc}$ ), максимальне значення жорсткості міокарда ( $ЖМ_{max}$ ), кінцево-діастолічне співвідношення тиску і об'єму, кінцево-діастолічна жорсткість ( $ЖМ_{кд}$ ) [10, 29]. Зазначений підхід дає можливість оцінити максимальний резерв скоротливої активності ( $ЖМ_{max}$  і  $ЖМ_{кc}$ ), що у дослідженнях Меерсона [3] досягалося встановленням значення максимального тиску ЛШ ( $P_{max}$ ) із подальшою можливістю побудови кривої, аналогічної кінцево-сistolічному співвідношенню тиску і об'єму. Індeksi  $ЖМ_{max}$  ( $E_{max}$ ) та  $ЖМ_{кc}$  ( $E_{es}$ ) широко використовуються для оцінки скоротливості міокарда [10, 29, 31, 35, 36]. Вони вказують на ступінь максимального або кінцево-сistolічного стискання міокарда ЛШ, нормалізованого до об'єму шлуночка. Відомо, що вказані індeksi є відносно незалежними від перед- та постнавантаження, збільшуються при позитивних

інотропних впливах і, відповідно, знижуються – при негативних [35].

Для отримання результатів стосовно здатності міокарда до скорочення –  $ЖМ_{кc}$  і  $ЖМ_{max}$ , а також до розтягнення –  $ЖМ_{кд}$  – здійснювали невеликий розріз нижче від мечовидного відростка і реєстрували параметри під час оклюзії черевної порожнистої вени в умовах зниженого притоку крові до серця.

Основними кардіогемодинамічними показниками, які реєструвались у вихідному стані, були: частота серцевих скорочень (ЧСС), кінцево-сistolічний тиск (КСТ), кінцево-діастолічний тиск (КДТ), кінцево-сistolічний об'єм ЛШ (КСО), кінцево-діастолічний об'єм ЛШ (КДО), ударний об'єм (УО), ХОК, фракція викиду, максимальна швидкість наростання і зниження тиску ЛШ  $dP/dt_{max}$ ,  $dP/dt_{min}$  відповідно, константа активного розслаблення ( $\tau$ ) за методом Weiss (1976). Ефективну артеріальну жорсткість, запропоновану Sunagawa [37], можна розрахувати як відношення значення КСТ, отриманого з кривих залежності тиску і об'єму у вихідному стані, до УО.

Співвідношення тиску і об'єму ЛШ аналізували за допомогою програми PVAN 3.6 («Millar Instruments», США) з конвертацією відносних одиниць об'єму (RVU) в абсолютні одиниці об'єму (мікролітри) за допомогою формули (slope 20,25 × RVU – intercept 29,05). Для цього катетер калібрували за об'ємом зануренням його у калібрувальну кювету, яка має декілька циліндричних отворів відомого діаметра та об'єму, наповнених стабілізованою гепарином кров'ю щура.

Для визначення розвитку фіброзу в міокарді, що може відбуватися внаслідок  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції, застосовували метод виявлення сполучної тканини за Ван-Гізеном [5]. Для об'єктивного оцінювання рівня розвитку фібротичних процесів заморожені серця розрізали на чотири час-

тини товщиною 3–4 мм (поперечні зрізи), після чого за допомогою мікротома з кожної частини серця отримували тонкі заморожені зрізи (10–12 мкм), які фіксувалися в 96° етанолі протягом 20 хв та інкубували в насиченому розчині пікринової кислоти протягом однієї години. Надалі послідовно здійснювали такі операції: інкубація в 0,5%-му розчині льодяної оцтової кислоти протягом 10–30 с, інкубація в суміші кислотофуксину та насиченого розчину пікринової кислоти (1:10) протягом 1–2 хв, промивання у дистильованій воді, фіксація в 96° етанолі. Пофарбовані зрізи сканували та отримані цифрові зображення аналізували за допомогою спеціалізованої морфометричної програми ImageJ (“National Institutes of Health”, США).

Результати обробляли статистично з використанням програми Excel 2000 та Origin 7.0. Усі вони представлені як середні арифметичні ( $M$ )  $\pm$  стандартна похибка середньої величини ( $m$ ). Вірогідність різниці середніх значень ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ) було визначено за критерієм  $t$  Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Застосування системи реєстрації залежностей тиску і об'єму ЛШ дало змогу встано-

вити чіткі відмінності у функціональному стані сердець щурів дослідної та контрольної груп. В дослідній групі тварин чітко спостерігали перехід форми кривих залежності тиск–об'єм до більш видовжених варіантів, а також зміщення кривих вправо і вгору (рис. 1,б) порівняно з контролем (рис. 1,а). Це свідчить про те, що робота міокарда здійснюється у зміненому діапазоні об'ємів (за зниженого КДО та підвищеного КСО) та при підвищенні мінімального та максимального тиску.

У табл.1 представлені зміни показників в абсолютному значенні. Можна констатувати, що КДО ЛШ був достовірно знижений у середньому на 6,25 % ( $P < 0,05$ ), а КСО мав тенденцію до підвищення. КСТ був підвищений у середньому на 24,92 % ( $P < 0,01$ ), КДТ – у 2,07 рази ( $P < 0,01$ ).

Наші результати, отримані в експериментах з використанням системи реєстрації залежності тиску і об'єму ЛШ у режимі реального часу, вказують на порушення насосної функції у тварин з  $\beta$ -адренергічною гіперстимуляцією. Встановлено, що УО був знижений на 38,50 % ( $P < 0,01$ ), ХОК – на 42,38 % ( $P < 0,01$ ), фракція викиду – на 35,61 % ( $P < 0,01$ ).

Отримані результати узгоджуються з даними Heather та співавт. [19], які за до-

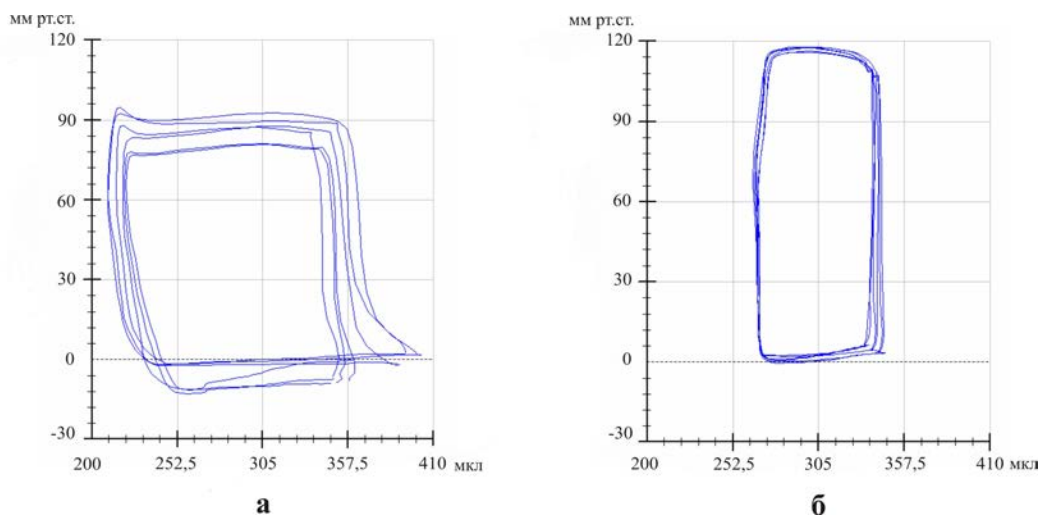


Рис.1. Репрезентативні криві залежності тиску і об'єму в контролі (а) та при застосуванні ізопротеренолу (б). За віссю абсцис – об'єм, за віссю ординат – тиск лівого шлуночка

**Таблиця 1. Основні показники кардіогемодинаміки в контролі та за умов β-адренергічної гіперстимуляції у щурів in vivo (M±m)**

Показник кардіогемодинаміки	Контроль (n=10)	Дослід (n=7)
Ударний об'єм, мкл	105,59±5,150	64,94±4,333**
Фракція викиду, %	27,72±1,259	17,85±0,950**
Хвилинний об'єм крові, мл/хв	39,2±2,38	22,2±1,66**
Кінцево-сistolічний об'єм, мкл	294,1±8,5	307,6±7,18
Кінцево-діастолічний об'єм, мкл	371±7,3	347,8±8,56*
Кінцево-сistolічний тиск, мм рт.ст.	91,5±2,406	114,3±2,31**
Кінцево-діастолічний тиск, мм рт.ст.	2,84±0,545	5,88±0,532**
Артеріальна жорсткість, мм рт.ст./мкл	0,96±0,049	2,14±0,187**
Частота серцевих скорочень, хв <sup>-1</sup>	365±8,5	341±10,9

Примітка. Тут і в табл. 2, 3 у порівнянні з контролем \*P<0,05, \*\*P<0,01.

помогою магнітно-резонансної томографії показали, що введення ІЗО за аналогічною схемою призводить до зниження фракція викиду на 63 %. Апікальні порушення, що виникали у серцях щурів після застосування ІЗО у цих експериментах, уподібнюються ознакам клінічної картини пацієнтів зі стресорною кардіоміопатією [30], для яких характерною є дисфункція верхівки серця, фіброз, некроз, інфільтрація поліморфно-ядерних лейкоцитів у цю ділянку серця [24].

Погіршення насосної функції міокарда на 3-тю добу застосування ІЗО спостерігалось також в інших дослідженнях при використанні дози 1,2 мг/кг на добу [20, 38], про що свідчило зниження КДО, КСО, УО та ХОК, але фракція викиду при цьому залишалася незмінною. У щурів з ІЗО-індукованою гіперстимуляцією в наших дослідах підвищувався рівень ефективної артеріальної жорсткості на 122,92 % (P<0,01; див. табл. 1), що узгоджується з даними інших авторів [20, 38]. ЧСС у наших експериментах мала тенденцію до зниження, що,

ймовірно, пояснюється зменшенням щільності β-адренорецепторів, послабленням спряження рецептора з G-білком, пригніченням активності аденілатциклази [15, 19].

Відомо, що насосна функція серця значною мірою зумовлена його здатністю до повноцінного розслаблення. Нами виявлено, що  $dP/dt_{min}$  у тварин з β-адренергічною гіперстимуляцією була збільшеною на 36,58 % (P<0,01; табл. 2). Для оцінки порушень діастолічної функції серця доцільно також окрім  $dP/dt_{min}$  проаналізувати КДТ, Тау і жорсткість камери. Нами показано, що за умов β-адренергічної гіперстимуляції КДТ ЛШ був підвищений у 2,07 раза (P<0,01), що підтверджується даними інших авторів [9, 16, 32]. Також у наших дослідах експериментально встановлено збільшення Тау на 12,91 % (P<0,05). Отже, подовжується період активного енергозалежного розслаблення міокарда, в основі якого лежить закачування іонів кальцію до саркоплазматичного ретикулула АТФазою SERCA. Встановлено [20, 38], що тривале застосування

**Таблиця 2. Діастолічна функція в контролі та за умов β-адренергічної гіперстимуляції у щурів in vivo (M±m)**

Показник кардіогемодинаміки	Контроль (n=10)	Дослід (n=7)
Кінцево-діастолічний тиск, мм рт.ст.	2,84±0,545	5,88±0,532**
$dP/dt_{min}$ , мм рт.ст./с	-5911±237,2	-8073±350,6**
Константа активного розслаблення, мс	7,90±0,187	8,92±0,518*
Кінцево-діастолічна жорсткість міокарда, мм рт.ст./мкл	0,038±0,0125	0,068±0,0054*

ІЗО знижує рівень експресії цього білка, впливаючи таким чином на діастолічну функцію міокарда. Показано [34], що енергозалежний механізм діастолі більш чутливий до нестачі енергетичних ресурсів, і його порушення може відбуватися первинно у тварин без систолічної дисфункції.

Таким чином, нашими дослідженнями встановлено, що внаслідок  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції жорсткість камери ЛШ, як одна з детермінант діастолічної функції серця, була суттєво підвищеною, про що свідчить зростання коефіцієнта  $JM_{\text{кл}}$  практично вдвічі (з  $0,038 \pm 0,0125$  до  $0,068$  мм рт.ст./мкл  $\pm 0,0054$  мм рт.ст./мкл; див. табл. 2).

Наші комплексні функціональні та морфологічні дослідження дали змогу встановити зв'язок між порушенням діастолічної функції та фібротичними змінами тканини серця. Відомо, що фіброз міокарда є основною детермінантою зміни його жорсткості і призводить до розвитку діастолічної, а також певною мірою систолічної дисфункції ЛШ [7].

Мікроскопія зрізів серця, забарвлених для виявлення колагенових структур, показала, що на 34-ту добу після початку ін'єкцій ІЗО переважно в ендокарді серця щура спостерігалось значне розростання сполучнотканинних волокон, які частково заміщували кардіоміоцити. Водночас у контрольних дослідях таких фібротичних змін міокарда не виявлялося, а накопичення колагенових волокон проявлялося поодинокими дифузними змінами при гістологічному забарвленні препаратів (див. рис. 2).

Застосування агоніста  $\beta$ -адренорецепторів призводило до розвитку як дифузних інтерстиціальних, так і вогнищевих (в ендокарді) фібротичних процесів, що добре узгоджується з даними інших авторів [9, 19, 20, 22, 28, 39]. У відсотковому співвідношенні площа фіброзу в дослідній групі становила  $14,6 \% \pm 1,5 \%$ , а у контрольній –  $2,7 \% \pm 0,9 \%$  відносно площі ЛШ ( $P < 0,05$ ). Таким чином, зона фіброзу у тварин з адренергічною гіперстимуляцією переважала контрольний рівень у 5,5 раза. Найбільш

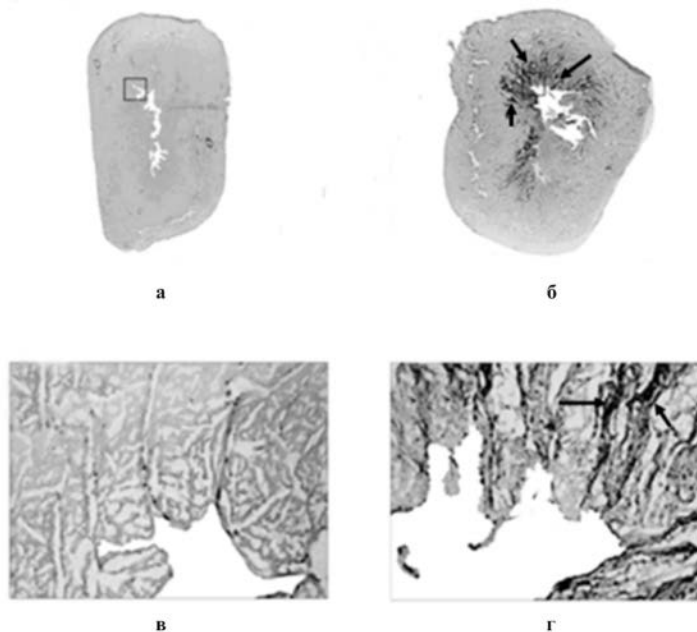


Рис. 2. Зрізи препаратів сердець щурів після забарвлення методом Ван-Гісона, що дає змогу виявити еластинові та колагенові волокна: а – контроль, б – міокард після тривалої  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції, в, г – виділені квадратом ділянки при мікроскопічному дослідженні. Стрілки вказують на зони фіброзу в ендокарді дослідних тварин



виражені фібротичні зміни спостерігались у зоні верхівки серця, що може пояснюватися більшою щільністю  $\beta$ -адренорецепторів [19].

За допомогою специфічного забарвлення деякі автори встановили, що за умов тривалої дії  $\beta$ -адренергічних агоністів акумулюється колаген I та III типу [9, 26]. Цікаво, що колаген I типу є менш здатним до розтягнення, ніж III типу, а, отже їх співвідношення буде певною мірою визначати ступінь  $JM_{\text{кд}}$ . Дані, отримані на мишах лінії C57BL/6, вказують на підвищену частку колагену I типу, який асоціюється з підвищеною  $JM_{\text{кд}}$ , і значно зростає після 11 діб застосування ІЗО (15мг/кг на добу) [41].

Функціональний стан міокарда за умов  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції може бути зумовлений процесом ремоделювання серця, в основі якого лежить загибель кардіоміоцитів та їх заміщення сполучнотканинними елементами (репаративний фіброз), а також активація синтезу колагенових волокон фібробластами (реактивний фіброз), залучення матриксних металопротеїназ, що руйнують еластинові волокна, внаслідок чого зменшується співвідношення еластинових і колагенових волокон, а отже, і збільшується  $JM_{\text{кд}}$ . Існує думка [25], що у окремих тварин некротичні процеси та фібротичне розростання тканини міокарда можуть переважати над розвитком гіпертрофії кардіоміоцитів. У процесах ремоделювання міокарда важливе значення мають реактивні радикали кисню. Показано [40], що в гострій фазі застосування ІЗО вони відіграють скоріше сигнальну роль, активуючи каскад MAP-кіназ, а при тривалій дії розглядаються як фактор

фіброгенезу та впливають на підвищення  $JM_{\text{кд}}$ .

Таким чином, за умов тривалої  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції скоротливі елементи частково заміщуються сполучнотканинними, що призводить до порушення діастолічної і насосної функції міокарда.

У тварин дослідних тварин покращувалися показники скоротливості міокарда  $dP/dt_{\text{max}}$  була підвищеною в середньому на 49,90 % ( $P < 0,01$ ; табл. 3), що збігається з даними Flanagan та співавт. [15]. В інших працях [14, 32, 33] отримано відомості відносно уповільнення процесу ізвольомічного скорочення, що може пояснюватися різними протоколами дослідів (дозуванням і тривалістю дії ІЗО). Оскільки за умов структурних перебудов міокарда під час тривалої активації  $\beta$ -адренергічних сигнальних шляхів слід враховувати геометрію ЛШ, доцільним є пошук більш адекватних показників скоротливої здатності міокарда. Такими нині є  $JM_{\text{кд}}$  і  $JM_{\text{макс}}$  [4, 10], які відображають незалежну від умов навантажень скоротливість міокарда. У наших експериментах спостерігалась однонаправлена з  $dP/dt_{\text{max}}$  зміна  $JM_{\text{кд}}$  і  $JM_{\text{макс}}$ : збільшення у 2,54 раза ( $P < 0,01$ ) та на 42,53 % ( $P < 0,05$ ) відповідно (див. табл. 3, рис. 3).

Ймовірно, посилення скоротливої здатності тканини серця може бути пов'язано з розвитком компенсаторної гіпертрофії міокарда, посиленням вивільнення норадреналіну з нервових закінчень, а також підвищенням скоротливих відповідей на активацію  $\alpha$ -адренорецепторів міокарда [27]. Деякі автори вказують на те, що власне  $\beta$ -адренергічна активація не пору-

Таблиця 3. Скоротлива здатність міокарда в контролі та за умов  $\beta$ -адренергічної гіперстимуляції у щурів *in vivo* ( $M \pm m$ )

Показник кардіогемодинаміки	Контроль (n=10)	Дослід (n=7)
$dP/dt_{\text{max}}$ , мм рт.ст./с	8335±459,0	12494±821,3**
Кінцево-систолічна жорсткість міокарда, мм рт.ст./мкл	1,40±0,264	3,55±0,594**
Максимальна жорсткість міокарда, мм рт.ст./мкл	2,21±0,303	3,15±0,323*

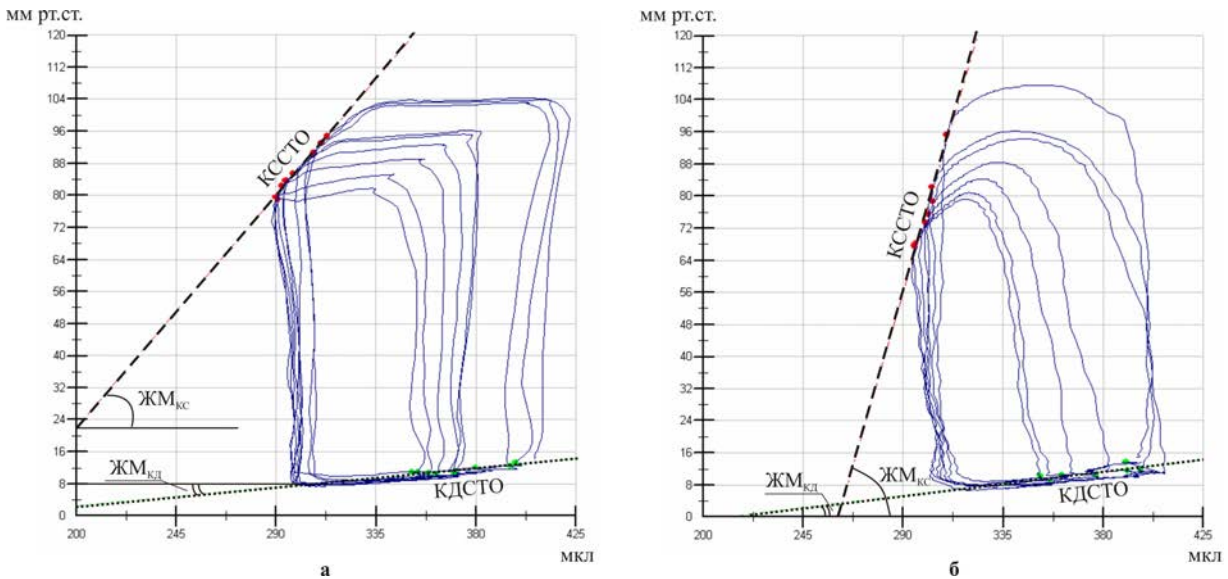


Рис.3. Кінцево-систоличне та кінцево-діастолічне співвідношення тиску і об'єму за умов тимчасової оклюзії порожнистої вени у контролі (а) та при застосуванні ізопроterenолу (б):  $ЖМ_{КС}$  і  $ЖМ_{КД}$  – кінцево-систолична і кінцево-діастолічна жорсткість міокарда відповідно. За віссю абсцис – об'єм лівого шлуночка, за віссю ординат – тиск

шує скоротливу функцію міокарда [8], скоріше за все це відбувається внаслідок дилатації порожнини ЛШ на більш пізніх термінах (до 3 міс) застосування ІЗО [27].

Цікаво, що дослідженнями Казьміна [1] було встановлено підвищення індексів скоротливості міокарда за умов тампонади серця на фоні обмеження функціонування механізму Франка-Старлінга. Автор вказує на те, що таке підвищення не забезпечує повної компенсації порушень насосної функції серця, викликаних обмеженням діастолічного розтягнення волокон. Результати нашої роботи дещо перекликаються з даними Казьміна [1], що може свідчити про подібну спрямованість функціонування механізмів регуляції роботи серця при його тампонаді та  $\beta$ -адренергічній гіперстимуляції.

Таким чином, наші результати свідчать про можливу компенсаторну роль підвищення скоротливості міокарда, але за даних умов (при послабленому діастолічному наповненні та підвищеній жорсткості судин) це є недостатнім для відновлення насосної

функції серця до контрольного рівня та може призводити до виснаження енергетичних запасів серця та пришвидшення розвитку його недостатності.

## ВИСНОВКИ

1. Внаслідок тривалої активації  $\beta$ -адренергічних шляхів послаблюється насосна функція серця через порушення його діастолічної функції, що асоціюється з розвитком фібротичних змін ендочарда.

2. Результати морфологічних досліджень вказують на збільшення зони фіброзу у 5,5 раза і зростання  $ЖМ_{КД}$  тварин з адренергічною гіперстимуляцією.

3. Структурно-функціональні зміни міокарда, які встановлені нами на відстроченому терміні (місяць) після тривалої дії ІЗО, свідчать про можливість виникнення на цьому етапі діастолічної дисфункції міокарда. Водночас підвищувалася скоротливість міокарда, яка розглядається як компенсаторний механізм, що за даних умов не здатний відновити механічну (насосну) функцію серця.

**М.О. Кузьменко, В.Б. Павлюченко,  
Л.В. Тумановская, В.Е. Досенко,  
А.А. Мойбенко**

**СООТНОШЕНИЕ НАРУШЕНИЯ  
НАСОСНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА  
И ЕГО СОКРАТИМОСТИ В УСЛОВИЯХ  
β-АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ  
ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ СЕРДЦА КРЫС**

В экспериментах на крысах с длительной активацией (на протяжении месяца) β-адренергических рецепторов исследован комплекс структурно-функциональных перестроек миокарда. Установлено существенное ослабление насосной функции миокарда: снижение ударного объема на 38,50 % (P<0,01), минутного объема крови – на 42,38 % (P<0,01), фракции выброса – на 35,61 % (P<0,01). Вместе с тем наблюдалось повышение конечно-диастолического давления левого желудочка в 2 раза (P<0,01), увеличение константы активного расслабления на 12,91 % (P<0,05). Эти изменения свидетельствуют о наличии диастолической дисфункции сердца, развитие которой связано с накоплением соединительнотканых элементов в миокарде и увеличением его конечно-диастолической жесткости, что в результате может приводить к нарушениям насосной функции сердца. Достаточно неожиданным для нас оказался факт значительного возрастания сократимости миокарда не только после применения агониста β-адренорецепторов, но и через 26 сут после его отмены. Об этом свидетельствует увеличение максимальной скорости прироста давления на 49,9 % (P<0,01), а также конечно-систолической и максимальной жесткости миокарда в 2,5 раза (P<0,01) и на 42,53 % (P<0,05) соответственно. Этот феномен можно объяснить компенсаторным увеличением сократительной функции сердца в данных условиях, однако она оказывается недостаточной для поддержания адекватной насосной функции сердца и, более того, может приводить к истощению энергетических ресурсов сердца.

Ключевые слова: β-адренорецепторы, сократимость, насосная функция, сердце.

**M.O. Kuzmenko, V.B. Pavlyuchenko,  
L.V. Tumanovs'ka, V.E. Dosenko,  
O.O. Moybenko**

**INTERRELATION BETWEEN CARDIAC PUMP  
FUNCTION DISTURBANCES AND CARDIAC  
CONTRACTILITY AFTER β-ADRENERGIC  
HYPERSTIMULATION IN RATS**

The complex of structural and functional changes of myocardium was investigated in experiments with rats with chronic β-adrenergic activation for 1 month. We observed substantial attenuation of myocardial pump function, particularly reduction of stroke volume by 38,50% (P<0,01), cardiac out-

put by 42,38% (P<0,01), and ejection fraction by 35,61% (P<0,01). Furthermore, 2-fold increase of end-diastolic left ventricular pressure (P<0,01) and rise of active relaxation constant Tau by 12,91% (P<0,05) were observed. This indicates on an impaired diastolic function of the heart that is associated with accumulation of connective tissue elements in myocardium and increase of its end-diastolic stiffness that finally leads to cardiac pump function disturbances. Surprisingly, myocardial contractility was considerably augmented not only after the treatment with β-adrenergic agonist but also on the 26<sup>th</sup> day after drug cessation. This phenomenon is associated with elevation of dP/dt<sub>max</sub> by 49,9% (P<0,01), 2,5-fold increase of end-systolic elastance (P<0,01) as well as maximal myocardial elastance by 42,53% (P<0,05). It can be explained by compensatory influence of increased contractility that nevertheless failed to maintain adequate cardiac pump function and furthermore it may result in depletion of cardiac energy resource.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Казьмин С.Г. Кардиодинамика и сократительная активность миокарда при тампонаде сердца: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1982.
2. Король М.О., Павлюченко В.Б., Тумановська Л.В., Досенко В.С. Дослідження впливу адренергічної гіперактивації на формування кардіогенного депресорного рефлексу у щурів // Фізіол. журн. – 2010. – 56, №2. – С.102–103.
3. Меерсон Ф.З. Миокард при гиперфункции, гипертрофии и недостаточности сердца. – М., Медицина, 1965. – 320 с.
4. Мойбенко А.А., Казьмин С.Г., Сагач В.Ф. Сократимость и сократительная активность миокарда // Физиол. журн. – 1984. – 30, №3. – С.333–345.
5. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Л., Медицина, 1955. – 423 с.
6. Свищенко Е.П., Матова Е.А. Диастолическая сердечная недостаточность // Сердеч. недостаточность. – 2009. – №1. – С.47–54.
7. Штегман О.А., Терещенко Ю.А. Систолическая и диастолическая дисфункции левого желудочка – самостоятельные типы сердечной недостаточности или две стороны одного процесса? // Кардиология. – 2004. – №2. – С.82–86.
8. Anwar A., Schlyter K.D., Heger J., Piper H.M., Euler G. Enhanced SERCA2A expression improves contractile performance of ventricular cardiomyocytes of rat under adrenergic stimulation // Pflug. Arch. – 2008. – 457, №2. – P.485–491.
9. Brooks W.W., Conrad C.H. Isoproterenol-induced myocardial injury and diastolic dysfunction in mice: structural and functional correlates // Comp. Med. – 2009. – 59, №4. – P.339–343.

10. Burkhoff D., Mirsky I., Suga H. Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – **289**, №2. – P.501–512.
11. Cohn J.N., Levine T.B., Olivari M.T., Garberg V., Lura D., Francis G.S., Simon A.B., Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure // *N. Engl. J. Med.* – 1984. – **311**, №13. – P.819–823.
12. Dorn G.W. II Novel pharmacotherapies to abrogate postinfarction ventricular remodeling // *Nat. Rev. Cardiol.* – 2009. – **6**, №4. – P.283–291.
13. Eckhart A.D., Koch W.J. Transgenic studies of cardiac adrenergic receptor regulation // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – **299**, №1. – P. 1–5.
14. Ferreira A.J., Oliveira T.L., Castro M.C., Almeida A.P., Castro C.H., Caliaro M.V., Gava E., Kitten G.T., Santos R.A. Isoproterenol-induced impairment of heart function and remodeling are attenuated by the nonpeptide angiotensin-(1-7) analogue AVE 0991 // *Life Sci.* – 2007. – **81**, №11. – P.916–923.
15. Flanagan E.T., Buckley M.M., Aherne C.M., Lainis F., Sattar M., Johns E.J. Impact of cardiac hypertrophy on arterial and cardiopulmonary baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats // *Exp. Physiol.* – 2008. – **93**, №9. – P.1058–1064.
16. Grimm D., Holmer S.R., Riegger G.A., Kromer E.P. Effects of beta-receptor blockade and angiotensin II type I receptor antagonism in isoproterenol-induced heart failure in the rat // *Cardiovasc. Pathology.* – 1999. – **8**, №6. – P.315–323.
17. Grimm M., Brown J.H. Beta-adrenergic receptor signaling in the heart: role of CAMKII // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2010. – **48**. – №2. – P.322–330.
18. Hata J.A., Williams M.L., Koch W.J. Genetic manipulation of myocardial beta-adrenergic receptor activation and desensitization // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2004. – **37**, №1. – P.11–21.
19. Heather L.C., Catchpole A.F., Stuckey D.J., Cole M.A., Carr C.A., Clarke K. Isoproterenol induces in vivo functional and metabolic abnormalities: similar to those found in the infarcted rat heart // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2009. – **60**, №3. – P.31–39.
20. Kitagawa Y., Yamashita D., Ito H., Takaki M. The reversible effects of isoproterenol-induced hypertrophy on in situ left ventricular function in rat hearts // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – **287**, №1. – P.277–285.
21. Kralova E., Mokran T., Murin J., Stankovicova T. Electrocardiography in two models of isoproterenol-induced left ventricular remodeling // *Physiol. Res.* – 2008. – **57**, Suppl. 2. – P.83–89.
22. Kudej R.K., Iwase M., Uechi M., Vatner D.E., Oka N., Ishikawa Y., Shannon R.P., Bishop S.P., Vatner S.F. Effects of chronic beta-adrenergic receptor stimulation in mice // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1997. – **29**, №10. – P.2735–2746.
23. Lee S., Schwinger R. H., Brixius K. Genetically changed mice with chronic deficiency or overexpression of the  $\beta$ -adrenoceptors – what can we learn for the therapy of heart failure? // *Pflugers Arch.* – 2008. – **455**, №5. – P. 767–774.
24. Lyon A. R., Rees P., Prasad S., Poole-Wilson P. A., Harding S.E. Stress (Takotsubo) cardiomyopathy – a novel pathophysiological hypothesis to explain catecholamine-induced acute myocardial stunning // *Cardiovasc. Medicine.* – 2008. – **5**, №1. – P.22–29.
25. Murad N., Tucci P.J. Isoproterenol-induced hypertrophy may result in distinct left ventricular changes // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2000. – **27**, №5–6. – P.352–357.
26. Nakajima-Takenaka C., Zhang G.X., Obata K., Tohne K., Matsuyoshi H., Nagai Y., Nishiyama A., Takaki M. Left ventricular function of isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts perfused with blood: mechanical work and energetics // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – **297**, №5. – P.1736–1743.
27. Osadchii O.E., Norton G. R., McKechnie R., Deftereous D., Woodiwiss A. J. Cardiac dilatation and pump dysfunction without intrinsic myocardial systolic failure following chronic beta-adrenoreceptor activation // *Amer. J. Physiol. Heart Circ Physiol.* – 2007. – **292**, №4. – P.1898–1905.
28. Osadchii O.E. Cardiac hypertrophy induced by sustained  $\beta$ -adrenoreceptor activation: pathophysiological aspects // *Heart Fail. Rev.* – 2007. – **12**, №1. – P.66–86.
29. Pacher P., Nagayama T., Mukhopadhyay P., Bötkai S., Kass D.A. Measurement of cardiac function using pressure–volume conductance catheter technique in mice and rats // *Nat. Protoc.* – 2008. – **3**, №9. – P.1422–1434.
30. Satoh H., Tateishi H., Uchida T. Takotsubo-type cardiomyopathy due to multivessel spasm. – In: *Clinical Aspect of Myocardial Injury: From Ischemia to Heart Failure/* Ed. Kodama K. – Tokyo: Kagakuhyouronsya Co, 1990. – P.56–64.
31. Segers P., Georgakopoulos D., Afanasyeva M., Champion H.C., Judge D.P., Millar H.D., Verdonck P., Kass D.A., Stergiopoulos N., Westerhof N. Conductance catheter-based assessment of arterial input impedance, arterial function, and ventricular-vascular interaction in mice // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – **288**, №3. – H1157–1164.
32. Serra A.J., Santos M.H., Boclíni D.S., Antfônio E.L., Levy R.F., Santos A.A., Higuchi M.L., Junior J.A., Magalhães F.C., Vargaña V.G., Krieger J.E., Tucci P.J. Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained beta-adrenergic hyperactivity // *J. Physiol.* – 2010. – **588**, №13. – P.2431–2442.
33. Song Y.H., Li B.S., Chen X.M., Cai H. Ethanol extract from *Epimedium brevicornum* attenuates left ventricular dysfunction and cardiac remodeling through down-

- regulating matrix metalloproteinase-2 and -9 activity and myocardial apoptosis in rats with congestive heart failure // *Int. J. Mol. Med.* – 2008. – **21**, №1. – P.117–124.
34. Spindler M., Saupe K.W., Christe M.E., Sweeney H.L., Seidman C.E., Seidman J.G., Ingwall J.S. Diastolic dysfunction and altered energetics in the alpha-MHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy // *J. Clin. Invest.* – 1998. – **101**, №8. – P.1775–1783.
35. Suga H. Ventricular energetics // *Physiol. Rev.* – 1990. – **70**, №2. – P.247–277.
36. Suga H. How we view systolic function of the heart: Emax and PVA. – In: *Systolic and diastolic function of the heart*/ Ed. Ingels N.B. – Amsterdam: IOS Press and Ohmsha. – 1995. – P.215–225.
37. Sunagawa K, Maughan WL, Sagawa K. Optimal arterial resistance for the maximal stroke work studied in isolated canine left ventricle // *Circulat. Res.* – 1985. – **56**, №4. – P.586–595.
38. Takeshita D., Shimizu J., Kitagawa Y., Yamashita D., Tohne K., Nakajima-Takenaka C., Ito H., Takaki M. Isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts: does short-term treatment correspond to long-term treatment? // *J. Physiol. Sci.* – 2008. – **58**, №3. – P.179–188.
39. Webb I.G., Nishino Y., Clark J.E., Murdoch C., Walker S.J., Makowski M.R., Botnar R.M., Redwood S.R., Shah A.M., Marber M.S. Constitutive glycogen synthase kinase-3 $\alpha/\beta$  activity protects against chronic  $\beta$ -adrenergic remodelling of the heart // *Cardiovasc. Res.* – 2010. – **87** №3. – P.494–503.
40. Zhang G.X., Kimura S., Nishiyama A., Shokoji T., Rahman M., Yao L., Nagai Y., Fujisawa Y., Miyatake A., Abe Y. Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats // *Ibid.* – 2005. – **65** №1. – P.230–238.
41. Zhang G.X., Ohmori K., Nagai Y., Fujisawa Y., Nishiyama A., Abe Y., Kimura S. Role of AT1 receptor in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and oxidative stress in mice // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2007. – **42**, №4 – P.804–811.

*In-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*  
*Kuzmenko@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до редакції 16.11.2010*

О.В. Долга, Н.Х. Погорела, О.С. Богорад - Кобельська,  
С.А. Андронаті, І.С. Магура

## Вплив аміксину на електрофоретичну рухомість Т-лімфоцитів миші

*Методом клітинного електрофорезу досліджували ранні зміни електрофоретичної рухомості (ЕФР) Т-лімфоцитів селезінки миші, індуковані аміксином у дослідях in vitro. Показано, що в перші години впливу аміксин достовірно збільшував абсолютне значення ЕФР Т-лімфоцитів у порівнянні з контролем. Ефект аміксину залежав від його концентрації в інкубаційному середовищі та тривалості впливу. Отримані результати дають змогу зробити висновок про те, що під впливом аміксину збільшувався сумарний негативний поверхневий заряд плазматичної мембрани Т-лімфоцитів. Цей ефект може мати важливе значення для міжклітинної кооперації в процесі реалізації імунної відповіді.*

*Ключові слова: аміксин, індуктори інтерферону, електрофоретична рухомість, Т-лімфоцити.*

### ВСТУП

Індуктори інтерферонів (ІФН) – інтерфероногени – відносяться до нового перспективного покоління лікарських препаратів, що викликають в організмі продукцію власного (ендогенного) ІФН. Використання інтерфероногенів у клінічній практиці є не лише повноцінною заміною екзогенних ІФН, але також має певні переваги щодо них. Зокрема, інтерфероногени позбавлені антигенності та можуть використовуватися впродовж тривалого часу. Вони не викликають гіперінтерференомії, оскільки синтез індукваного ІФН є збалансованим і контролюється організмом. Одноразове введення індуктора ІФН забезпечує довготривалу (впродовж кількох діб) циркуляцію в організмі ІФН у терапевтичній концентрації [7–9, 18].

Інтерфероногени – речовини природного або синтетичного походження. Серед низькомолекулярних синтетичних індукторів ІФН одним з найбільш ефективних є аміксин (вітчизняний аналог тилорону) – похідне флуоренону. Ця сполука має протівірусну,

інтерфероніндукувальну, імуномодулювальну та протипухлинну активність. Завдяки вказаним властивостям аміксин успішно використовується у онкології, клінічній імунології, при інфекційних захворюваннях різної етіології [1, 10, 11].

Аміксин індукує in vivo продукцію  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ -ІФН в еритроцитах, гепатоцитах, гранулоцитах та Т-лімфоцитах, проникає через гематоенцефалічний бар'єр і спричиняє синтез ІФН у клітинах мозку [7].

Початковий етап інтерфероногенезу – взаємодія аміксину з плазматичною мембраною – та його роль у подальшій передачі сигналу для експресії генів ІФН залишаються недостатньо вивченими. Аміксин відноситься до амфіфільних сполук. Його молекула містить неполярний гідрофобний домен, до складу якого входять ароматичні кільця, та два симетричні гідрофільні бокові ланцюги, заряджені позитивно при фізіологічних значеннях рН. Така хімічна структура дає змогу аміксину ефективно впливати на мембрану. Важливе значення у цих процесах має поверхневий заряд клітини. Відповідно до сучасних уявлень,

© О.В. Долга, Н.Х. Погорела, О.С. Богорад - Кобельська, С.А. Андронаті, І.С. Магура

останній бере участь у регуляції великої кількості процесів, серед яких, зокрема, адгезія клітин, їх взаємодія між собою та з позаклітинним матриксом, поділ і диференціювання клітин, продукція монокінів. Зміна величини поверхневого заряду призводить до порушення функцій клітин та розвитку патологій [14-16]. Таким чином, дослідження ендогенних і фармакологічних механізмів регуляції густини поверхневого заряду є актуальним завданням.

Для вивчення поверхневого заряду клітини широко використовується мікроелектрофорез [15]. Цей метод дає можливість визначити величину заряду, не змінюючи при цьому властивостей поверхні клітини. Нині він успішно застосовується в медицині, зокрема для моніторингу змін імунологічного гомеостазу при імуномодулювальній терапії [3, 17].

У літературі відсутні дані стосовно дії аміксіну на поверхневий заряд клітин. Особливої уваги заслуговує вивчення впливу аміксіну на поверхневий заряд Т-лімфоцитів. Це пов'язано з тим, що зміна величини поверхневого заряду може впливати на взаємодію Т-лімфоцитів з іншими імунокомпетентними клітинами в процесі презентації антигена, і, тому, мати велике значення для регуляції імунної відповіді.

Мета нашої роботи полягала у вивченні впливу аміксіну на електрофоретичну рухомість (ЕФР) Т-лімфоцитів у перші години його впливу.

## МЕТОДИКА

**Реактиви.** В роботі використовували 2,7-біс-[2-(діетиламіно)етокси]флуорен-9-он дигідрохлорид (аміксин) [2]. Для приготування базового розчину вказану сполуку розчиняли у дистильованій воді до кінцевої концентрації 2 мг/мл. У роботі використовували солі кваліфікації «хч» і «осч» («Реахим», Росія).

**Виділення лімфоцитів.** Лімфоцити отри-

мували із селезінки мишей лінії СВА 8-тижневого віку (самці) [12] і розділяли на колонках з нейлоною ватою [13]. Кількість Т-лімфоцитів у збагаченій таким чином суспензії клітин була не менше ніж 80 % [6].

**Обробка клітин аміксином.** Т-лімфоцити ( $6,5 \cdot 10^5$  клітин/мл) інкубували за наявності 6, 25 або 50 мкг/мл аміксіну у збалансованому сольовому розчині, що містив (ммоль/л): NaCl - 140,0, KCl - 2,5, CaCl<sub>2</sub> - 2,0, MgCl<sub>2</sub> - 1,0, тріс-HCl - 10,0 (рН 7,4), глюкоза - 5,0, впродовж вказаного часу при 37 °С. Для кожної концентрації аміксіну готували 3 незалежні зразки. Кількість клітин з пошкодженою мембраною до і після інкубації з аміксином визначали за їхнім забарвленням трипановим синім [12]. Після обробки аміксином (50 мкг/мл) протягом 2 год їх число не перевищувало 7 % відносно контролю.

**Вимірювання електрофоретичної рухомості клітин.** Після інкубації з аміксином лімфоцити двічі промивали розчином, який містив (ммоль/л) KCl - 2,5, CaCl<sub>2</sub> - 2,0, тріс-HCl - 10,0 (рН 7,4), глюкоза - 280,0, за допомогою центрифугування впродовж 10 хв при 400 g. ЕФР клітин визначали у тому самому розчині при 20 °С за методикою, описаною раніше [5]. У кожному зразку вимірювали ЕФР не менше ніж 30 клітин.

**Аналіз експериментальних результатів.** Статистичний аналіз експериментальних результатів проводили, використовуючи комп'ютерну програму Microsoft Excel та OriginPro 7.0. Рівень достовірності при оцінці істинного значення вимірюваної величини ЕФР становив 95 %. Результати представлені як середні  $\pm$  помилка середнього. Для визначення достовірності при порівнянні середніх значень використовували критерій t Стьюдента. Значення вважали достовірними при  $P < 0,001$ . При побудові гістограм розподілу ЕФР контрольних та оброблених аміксином Т-лімфоцитів підсумовували вибірки трьох незалежних зразків.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У перші години після впливу аміксину збільшувалось абсолютне значення ЕФР Т-лімфоцитів селезінки миші. Частотні гістограми ЕФР до та після обробки лімфоцитів аміксином (50 мкг/мл) впродовж 2 год при 37 °С представлені на рис. 1. Результати вимірювання ЕФР свідчать про те, що взаємодія аміксину з мембраною лімфоцитів достовірно збільшувала середнє значення ЕФР клітин на 11,9 % ( $1,13 \pm 0,09$  щодо  $1,01 \text{ мкм} \cdot \text{см} \cdot \text{В}^{-1} \cdot \text{с}^{-1} \pm 0,05 \text{ мкм} \cdot \text{см} \cdot \text{В}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  у контролі,  $P < 0,001$ ). Розкид індивідуальних значень ЕФР у популяції контрольних та інкубованих з аміксином клітин відрізнявся неістотно (стандартне відхилення становило 0,40 та 0,35 відповідно). Слід відмітити, що у різних серіях дослідів середні значення ЕФР контрольних лімфоцитів незначно варіювали, але виявлений характер змін електроповерхневих властивостей клітин після інкубації з аміксином зберігався.

Ефект аміксину залежав від його концентрації у інкубаційному середовищі. В інтервалі оптимальних інтерфероніндукованих концентрацій (6–50 мкг/мл) ми спостерігали дозозалежне зростання ЕФР (рис. 2). Т-лімфоцити інкубували з аміксином 2 год при 37 °С у збалансованому сольовому розчині.

Зміна значення ЕФР Т-лімфоцитів у процесі їх інкубації з аміксином (50 мкг/мл) представлена на рис. 3. Слід відмітити, що ЕФР достовірно ( $P < 0,001$ ) збільшувалася протягом першої години, а потім практично не змінювалася впродовж наступної години.

ЕФР клітин залежить від густини поверхневого заряду їх плазматичної мембрани. Тому, на основі отриманих результатів можна зробити висновок про те, що взаємодія аміксину з поверхнею Т-лімфоцитів призводить до збільшення їх сумарного негативного поверхневого заряду, та припустити, що під його впливом змінюються фізико-хімічні властивості плазматичної мембрани Т-лімфоцитів.

Т-лімфоцити являють собою основу клітинної ланки специфічної імунної відповіді. Зміна заряду їх поверхні може мати важливе значення при міжклітинній взаємодії в процесі реалізації імунної відповіді. Крім того, величина поверхневого заряду визначає ліпід-ліпідні, білок-ліпідні, білок-білкові взаємодії в мембранах, впливає на примембранну концентрацію іонів, дифузію, пасивний та активний транспорт, активність мембранозв'язаних ферментів і потенціалкероаних іонних каналів [4, 15, 16]. Таким чином, аміксин за допомогою модуляції поверхневого заряду може регулювати різноманітні ланки активаційної програми

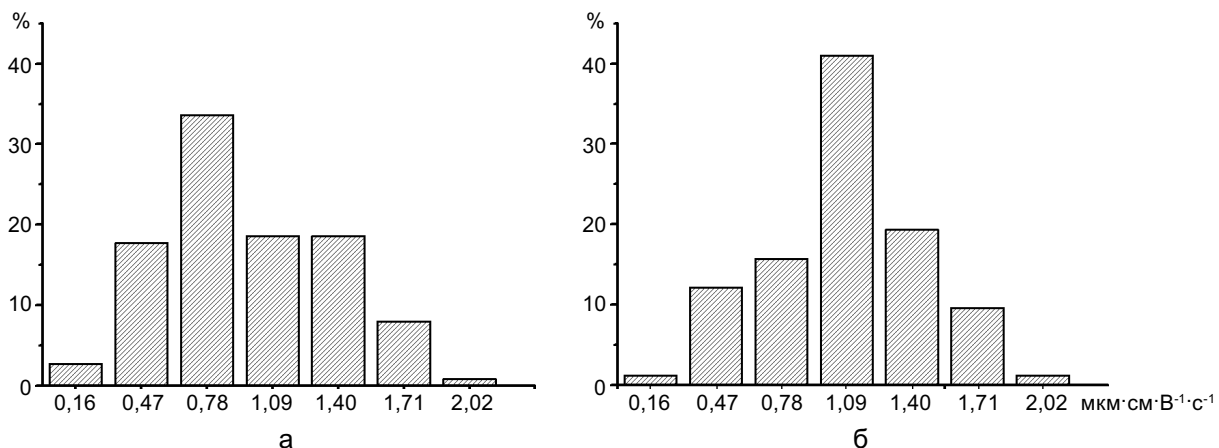


Рис. 1. Частотні гістограми електрофоретичної рухомості (ЕФР) Т-лімфоцитів селезінки миші: а – контроль; б – після обробки аміксином. Т-лімфоцити інкубували за наявності 50 мкг/мл аміксину впродовж 2 год при 37 °С



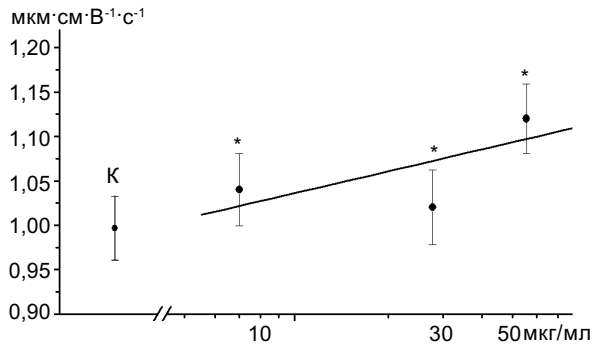


Рис. 2. Залежність електрофоретичної рухомості (ЕФР) Т-лімфоцитів селезінки миші від концентрації аміксину. Т-лімфоцити інкубували за наявності аміксину впродовж 2 год при 37°C. К – середнє значення ЕФР контрольних клітин. \* P < 0,001 порівняно з контролем

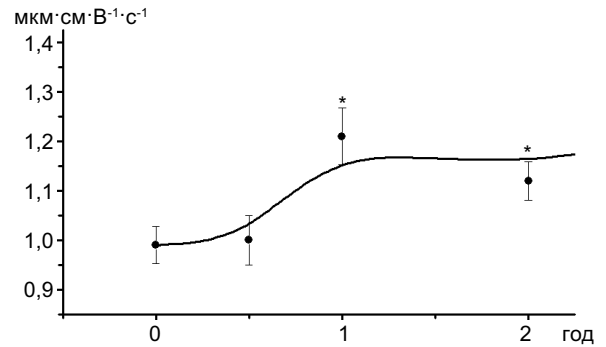


Рис. 3. Залежність електрофоретичної рухомості (ЕФР) Т-лімфоцитів від тривалості дії аміксину. Т-лімфоцити інкубували за наявності 50 мкг/мл аміксину при 37°C. \* P < 0,001 порівняно з контролем

Т-лімфоцитів. Отримані експериментальні результати важливі для розуміння механізмів імуномодулювального ефекту аміксину.

*Автори висловлюють щире подяку к.х.н. С.А. Ляхову за люб'язно наданий 2,7-біс-[2-(діетиламіно)етокси]флуорен-9-он дегідрохлорид (аміксин), синтезований у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України.*

**Е.В. Долгая, Н.Х. Погорелая,  
Е.С. Богорад-Кобельская, С.А. Андронати,  
И.С. Магура**

### **ВЛИЯНИЕ АМИКСИНА НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ МЫШИ**

Методом клеточного электрофореза исследовали ранние изменения электрофоретической подвижности (ЭФП) Т-лимфоцитов селезенки мыши, индуцированные амиксином в опытах *in vitro*. Показано, что в первые часы воздействия амиксин достоверно увеличивал абсолютное значение ЭФП Т-лимфоцитов по сравнению с контролем. Эффект амиксина зависел от его концентрации в инкубационной среде и длительности воздействия. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что под воздействием амиксина увеличивался суммарный отрицательный поверхностный заряд плазматической мембраны Т-лимфоцитов. Этот эффект может иметь важное значение для межклеточной кооперации в процессе реализации иммунного ответа. Ключевые слова: амиксин, индукторы интерферона, электрофоретическая подвижность, Т-лимфоциты.

**E.V. Dolgaya, N.Kh. Pogorelaya,  
E.S. Bogorad-Kobelskaya, S.A. Andronati,  
I.S. Magura**

### **EFFECTS OF AMIXINE ON ELECTROPHORETIC MOBILITY OF MURINE T LYMPHOCYTES**

The amixine-induced early changes in the electrophoretic mobility (EPM) of murine splenic T lymphocytes were studied *in vitro* by the microelectrophoresis technique. It has been found that T lymphocytes treated with amixine have a greater EPM within the first hours of amixine addition than control cells. This change in EPM depends on the concentration of amixine in the medium and the duration of amixine exposure. It was concluded that the amixine-treated cells have a greater net negative surface charge density than control cells. This effect may play an important role in the cell-cell interaction during the immune response.

Key words: amixine, interferon inducers, electrophoretic mobility, T lymphocytes.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv  
O.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute National Academy of Sciences of Ukraine, Odesa*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Андронати С.А., Литвинова Л.А., Головенко Н.Я. Пероральний індуктор ендогенного інтерферона «Аміксин» і його аналоги // Журн. АМН України. – 1999. – 5, № 1. – С. 53–66.
2. Богатський О.В., Грень А.І., Литвинова Л.О., Лемпарт Г.В. Про синтез 2,7-біс-[2-(діетиламіно)етокси]-флуорен-9-ону // Доп. АН УРСР. Сер. Б. – 1976. – № 7.

- С. 610–612 .
3. Вихрев Д.В., Журавель В.А., Стукова Н.Ю., Семенов М.С., Фирстова В.В., Мелешенко Н.Ю., Цека Ю.С., Ледванов М.Ю. Эффективность мониторинга изменений иммунологического гомеостаза при инфекционных заболеваниях методом свободного распределительного клеточного электрофореза // Мед. иммунология. – 2001. – **3**, № 2. – С.216.
  4. Гринштейн С.В., Кост О.А. Структурно-функциональные особенности мембранных белков // Усп. биол. химии. – 2001. – **41**. – С. 77–104.
  5. Долгая Е.В., Миронов С.Л., Погорелая Н.Х. Исследования поверхностного заряда нейронов спинальных ганглиев крыс при помощи метода микроэлектрофореза // Нейрофизиология. – 1984. – **16**, № 2. – С. 176–182.
  6. Долгая Е.В., Крылова И.В., Рожманова О.М. Изменение электрофоретической подвижности Т-лимфоцитов мыши под влиянием конканавалина А // Биол. мембраны. – 1991. – **8**, № 7. – С. 755–762.
  7. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. – М.: Медицина, 1996. – 240 с.
  8. Интерфероногены: перспективы клинического применения. Руководство для врачей / Ред. Романцов М.Г. – М.; СПб.: НТФФ «Полисан», 1998. – 41 с.
  9. Співак М.Я., Карпов О.В., Жолобак Н.М., Лазаренко Л.М., Тимошок Н.О., Зоценко В.М., Грабченко Н.І., Ганова Л.О., Михайленко О.М. Индукторы интерферону – від теорії до практики // Мікробіол. журн. – 2003. – **65**, № 1-2. – С. 191–204.
  10. Филиппова Т.О., Головенко Н.Я. Тилорон: профиль биологической активности. I. Фармакологические свойства // Интегр. Антропология. – 2006. – № 1 (7). – С. 18–23.
  11. Филиппова Т.О., Головенко Н.Я. Тилорон: профиль биологической активности. II. Фармакокинетика, токсичность, механизмы действия // Там само. – 2006. – № 2 (8). – С. 36–41.
  12. Хант С. Выделение лимфоцитов и вспомогательных клеток. – В кн.: Лимфоциты. Методы / Ред. Дж. Клаус, пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – С. 15–68.
  13. Эклирт Р. Разделение клеток иммунной системы. – В кн.: Иммунологические методы / Ред. Фримель Г., пер. с нем. – М.: Мир, 1987. – С.226–253.
  14. Bauer J., Stünkel K.G.E., Kachel V. Linkage between monokine production and regulation of the negative surface charge density of human monocytes // Immunol. Invest. – 1992. – **21**, № 6. – P. 507–521.
  15. Korohoda W., Wilk A. Cell electrophoresis – a method for cell separation and research into cell surface properties // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2008. – **13**, № 2. – P. 312–326.
  16. Mehrishi J. N., Bauer J. Electrophoresis of cells and the biological relevance of surface charge // Electrophoresis. – 2002. – **23**, № 13. – P. 1984–1994.
  17. Schutt W., Thomaneck U., Knippel E., Rychly J., Klinkmann H. Biomedical and clinical applications of automated single cell electrophoresis // Electrophoresis. – 1990. – **11**, № 11. – P. 970–975.
  18. Silin D.S., Lyubomska O.V., Ershov F.I., Frolov M.V., Kutsyna G.A. Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers // Current Pharmaceutical Design. – 2009. – **15**, № 11. – P. 1238–1247.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;*

*Ин-т мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ;*

*Фізико-хім. ін-т ім. О.В. Богатського НАН України, Одеса*

*E-mail: dolgaya@biph.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до  
редакції 05.07.2010*

А.М. Шиш, Д.О. Пашевін, В.Є. Досенко, О.О. Мойбенко

## Корекція порушень перекисного окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту за допомогою біофлавоноїдів при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів

*Досліджено вплив препаратів біофлавоноїдів на процеси перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів. Про збільшення утворення вільних радикалів свідчить підвищення інтенсивності хемілюмінесценції (ХЛ) у плазмі крові та гомогенатах сердець кролів при гіперхолестеринемії. Застосування препарату корвітин (діюча речовина кверцетин) призводило до зниження інтенсивності ХЛ за всіма кінетичними показниками. Показано, що в умовах гіперхолестеринемії концентрація малонового діальдегіду (МДА) в гомогенаті тканини міокарда значно збільшується, тоді як застосування біофлавоноїдів зменшує його вміст на 38,3 %. Встановлено стимулювальний вплив корвітину на активність ключових ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази та каталази. Отримані результати свідчать про здатність біофлавоноїдів інгібувати вільнорадикальні процеси та попереджувати зниження активності ферментів антиоксидантного захисту в умовах моделювання холестеринового атеросклерозу у кролів.*

*Ключові слова: холестериновий атеросклероз, перекисне окиснення, ферменти антиоксидантного захисту, біофлавоноїди, кверцетин.*

### ВСТУП

Широко відомі дані про роль перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в етіології та патогенезі атеросклерозу. Дійсно, перекисні процеси, що відбуваються у ліпідних структурах клітинних мембран, сприяють порушенню їх цілісності, призводячи іноді до незворотних пошкоджень судинної стінки [1, 12]. У зонах атеросклеротичного пошкодження аорти відмічено збільшення вмісту речовин, які є потенційними субстратами ПОЛ [20].

Відомо, що надлишок окиснених ліпопротеїдів в аорті в процесі атерогенезу може створювати умови для різкої інтенсифікації процесів ПОЛ у стінці судини *in situ*. Одним із важливих механізмів пошкоджен-

ня клітин, у тому числі і тканини судин, при атеросклеротичному ураженні є активація продукції вільних радикалів, яка відбувається внаслідок гальмування антиоксидантного захисту [1, 6]. При різних метаболічних процесах утворюються активні форми кисню: супероксидний аніон, гідроксильний радикал, гідроперекисний радикал, перекис водню. Підвищення їх концентрації має виражену проатерогенну дію [6, 12]. Основними внутрішньоклітинними інгібіторами вільнорадикального окиснення є ферменти пероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза, які каталізують реакції з активними формами кисню з утворенням неактивних сполук. Було показано, що активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази суттєво

© А.М. Шиш, Д.О. Пашевін, В.Є. Досенко, О.О. Мойбенко

знижується в зонах атеросклеротичного ураження аорти, при чому це прогресує зі збільшенням ступеня пошкодження [2, 5, 14].

До основної групи препаратів, які можуть запобігати оксидативному стресу, відносять флавоноїди, які пригнічують вільнорадикальні процеси на рівні ініціації, взаємодіючи з активними радикалами [18]. Одним із таких поширених дієтичних біофлавоноїдів є кверцетин, а його водорозчинна форма – корвітин, що була розроблена під керівництвом академіка О.О. Мойбенка, широко застосовується при лікуванні гострого інфаркту міокарда. В дослідженнях було показано, що препарат суттєво зменшує як гемодинамічні порушення, так і обсяг некротичного пошкодження при гострій ішемії та реперфузії серця. Цей ефект зумовлений мембраностабілізуючою дією корвітину, про що свідчить різке гальмування деградації мембранних фосфоліпідів і зменшення накопичення вільних жирних кислот у ішемізованому міокарді, а також пригнічення активації ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти [17]. З цієї точки зору видається перспективним використання біофлавоноїдів, зокрема корвітину, при експериментальному атеросклерозі, з огляду на те, що вплив на процеси ПОЛ при гіперхолестеринемії може розглядатися як „наріжний камінь” антиатерогенного ефекту вищевказаного препарату.

Метою нашої роботи було вивчити вплив корвітину на стан ПОЛ і системи антиоксидантного захисту при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів.

## МЕТОДИКА

Досліди проведені на 30 кролях обох статей масою  $2,95 \text{ кг} \pm 0,35 \text{ кг}$ . Тварини були розподілені на 3 групи по 10 у кожній: I – контрольна, кролі перебували на стандартному кормі віварію, II – склали тварини, які щодня отримували корм із вмістом холестерину (1%) протягом 4 тиж, III – тварини,

яким одночасно із холестериновою дією вводили препарат корвітин (діюча речовина кверцетин) внутрішньовенно у розрахунку 5 мг/кг один раз на дві доби протягом 4 тиж. Вміст холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) визначали за допомогою хімічного аналізатора Bio System A25 (Іспанія).

У гомогенаті тканини міокарда та плазмі крові кролів методом хемілюмінесценції (ХЛ), індукованої 2%-м перекисом водню, досліджували сумарну інтенсивність вільнорадикального окиснення. Вимірювали такі кінетичні показники ХЛ: загальна світлосума реакції за 5 хв, яка залежить від багатьох факторів: як-то стану про-та антиоксидантної системи, наявності ендогенних продуктів перекисного окиснення субстрату. Інтенсивність швидкого спалаху ( $I_{\max}$ ) і швидкість затухання ХЛ ( $I_{\min}$ ) є інтегральним показником стану антиоксидантної системи та стійкості компонентів плазми крові до окиснювального процесу [9].

Біохімічними методами визначали вміст продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА) [10], та активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази [11] та каталази [4].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента. Тварини були задіяні в експериментах з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Про гіперхолестеронемію у кролів свідчать результати оцінки показників ліпідного спектра крові. Слід вважати, що модель, котра використовувалась у дослідах, була адекватною, про що говорить значна проатерогенна зміна показників ліпопротеїнового обміну у кролів, які перебували на гіперхолестериновій дієті, у порівнянні з контролем (рис 1.)

Як видно з рис. 1, застосування препарату корвітину не мало суттєвого впливу на патологічні зміни ліпопротеїдного спектра, викликані атерогенним кормом, що збігається з літературними даними [13]. Наші результати дають змогу стверджувати, що антиатерогенний ефект корвітину не пов'язаний з цією ланкою патогенезу атеросклерозу, а реалізується через вплив на інші ме-

ханізми цього процесу.

У результаті проведених нами досліджень було виявлено підвищення продукції вільних радикалів у плазмі крові та в гомогенаті серця кроля при гіперхолестеринемії. Так, загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації плазми крові збільшувалась у 3,15 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. Однак застосування корвітину за умов

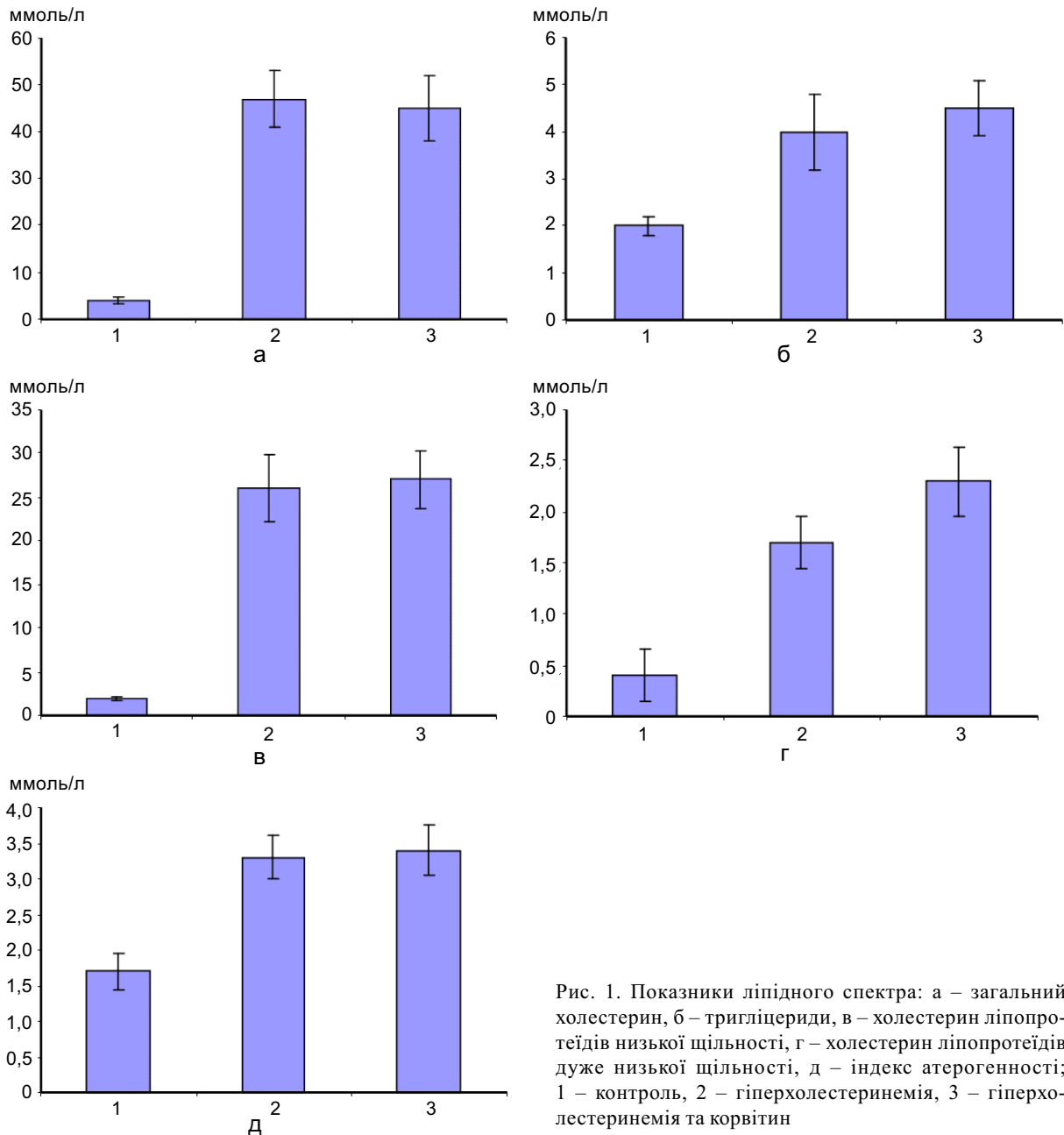


Рис. 1. Показники ліпідного спектра: а – загальний холестерин, б – тригліцериди, в – холестерин ліпопротеїдів низької щільності, г – холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності, д – індекс атерогенності; 1 – контроль, 2 – гіперхолестеринемія, 3 – гіперхолестеринемія та корвітин

гіперхолестеринемії достовірно знижує цей показник у 2,13 раза ( $P < 0,05$ ) щодо значень у II групі (табл. 1). Інтенсивність ХЛ  $I_{\max}$  та  $I_{\min}$  у цій групі були в 5 та 4,9 раза відповідно вищими, ніж у контролі.

Показники інтенсивності ХЛ плазми крові  $I_{\max}$  та  $I_{\min}$  у разі застосування корвітину у III групі тварин зменшувалися у 2,6 та 2,7 раза відповідно у порівнянні з тваринами, що отримували холестеринний корм (II група). Подібні результати спостерігались і у тканині серця кролів: загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації та інтенсивність ХЛ  $I_{\max}$  гомогенатів сердець кролів II групи зростали в 1,7 та 3,4 раза порівняно з контролем. Однак застосування на фоні холестерину корвітину достовірно знижує рівень ХЛ за всіма кінетичними показниками. Зокрема, відмічалось зменшення світлосуми ХЛ за 5 хв реєстрації на 32,8% та інтенсивності ХЛ  $I_{\max}$  на 52,6% відповідно (рис.2).

Отримані нами результати свідчать про зростання інтенсивності вільнорадикальних процесів у системі крові та серці при гіперхолестеринемії, що дало змогу припустити існування порушення балансу між утворенням та інактивацією перекисних ліпідів, яке може призводити до їх надмірного накопичення. На підставі змін  $I_{\min}$  можна судити про швидкість затухання ХЛ та опосередковано про стан антиоксидантної системи. Введення корвітину призводить до зниження активації вільнорадикальних процесів, зокрема, зменшення світлосуми ХЛ свід-

чить про менше утворення перекисних радикалів, що можливо компенсується підвищеною активністю ферментів антиоксидантного захисту. Зафіксоване при цьому в плазмі крові зменшення інтенсивності  $I_{\min}$  у порівнянні зі значеннями у тварин з гіперхолестеринемією, говорить про зменшення здатності ліпідів до перекисного окиснення.

Водночас гіперхолестеронемія викликала у серцях тварин значне зниження активності супероксиддисмутази та каталази на 43,8 та 78,4 % відповідно. Після застосування корвітину у серцях тварин (III група) активність цих ферментів не лише не знижувалась, а й дещо підвищувалася. Порівняно з показниками тварин II групи за умов гіперхолестеронемії активність супероксиддисмутази у III групі збільшилася в 2,6 раза; при цьому активність каталази підвищувалася на 25,5 % (табл. 2).

Отримані нами результати біохімічних досліджень також підтвердили, що застосування корвітину за умов гіперхолестеринемії призводить до зниження концентрації продуктів ПОЛ у гомогенаті тканини міокарда. Виявлено, що у II групі концентрація МДА у гомогенаті тканини міокарда була в 3,3 раза вищою порівняно з контролем. За умов гіперхолестеронемії на фоні введення корвітину цей показник зменшувався на 38,3 % порівняно з групою без застосування корвітину (див. табл. 2). Таке суттєве пригнічення інтенсивності процесів ПОЛ відбувається за рахунок активації

**Таблиця 1. Інтенсивність хемілюмінесценції плазми крові кролів при гіперхолестеринемії та внутрішньовенному введенні препарату корвітин ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )**

Показники	Контроль (I група)	Гіперхолестеринемія (II група)	Гіперхолестеринемія та введення корвітину (III група)
Загальна світлосума хемілюмінесценції за 5 хв, мВ/с	$(39,99 \pm 3,86) \cdot 10^3$	$(126,01 \pm 11,9) \cdot 10^3^*$	$(59,02 \pm 4,18) \cdot 10^3^{**}$
Амплітуда швидкого спалаху, мВ	$195,2 \pm 28,52$	$985,8 \pm 89,7^*$	$369,37 \pm 36,3^{**}$
Інтенсивність випромінювання через 5 хв, мВ	$41,4 \pm 6,62$	$203,0 \pm 76,3^*$	$74,75 \pm 3,2$

Тут і в табл. 2 \* вірогідно у порівнянні з контролем, \*\* вірогідно у порівнянні з гіперхолестеринемією;  $P < 0,05$ .

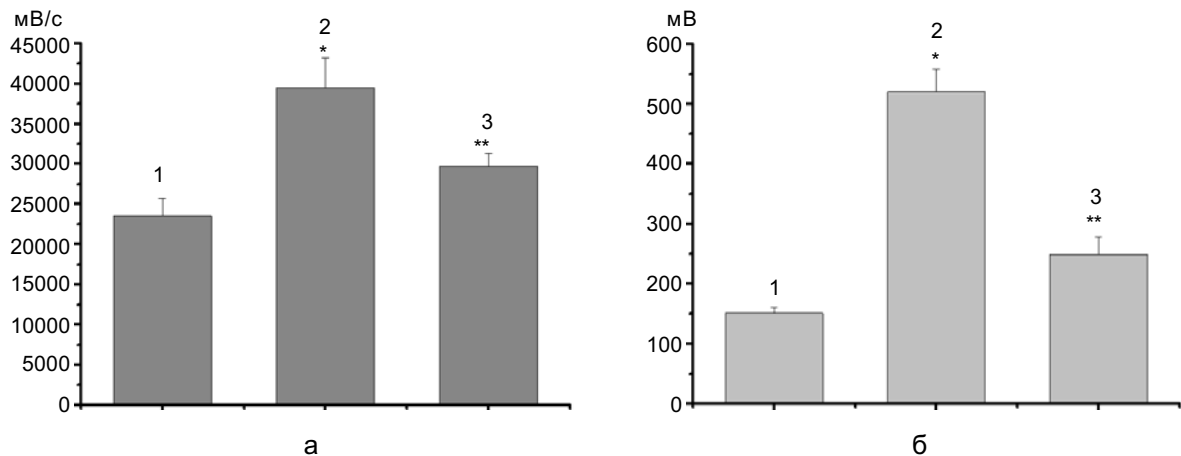


Рис. 2. Інтенсивність загальної світлосуми хемілюмінесценції за 5 хв (а) та амплітуда швидкого спалаху (б) гомогенатів тканини міокарда кролів при гіперхолестеринемії та введенні препарату корвітин: 1 – контроль, 2 – гіперхолестеринемія, 3 – введення корвітину на фоні гіперхолестеринемії. \* вірогідно у порівнянні з контролем, \*\* вірогідно у порівнянні з гіперхолестеринемією;  $P < 0,05$

ключових ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази та каталази. Баланс цих двох систем – перекисного окиснення та антиоксидантного захисту – є одною з важливих умов структурно-функціональної стабільності мембран.

При всій відносності методу оцінки вільнорадикальних процесів, можна передбачити, що однією з сторін протекторної дії корвітину можуть бути його антиоксидантні властивості. Крім того, антиоксидантний вплив також може бути зумовлений спроможністю нейтралізувати радикали  $\text{NO}$  та  $\text{O}_2^-$ . За характером змін показників ферментів антиоксидантного захисту при гіперхолестеринемії, можна вважати, що антиоксидантна активність знижена, але аналізуючи кінетичні параметри ХЛ припустимо, що зменшення активації процесів

ПОЛ залежать і від інших механізмів.

Як свідчать дані літератури [2, 5], у хворих з гіперхолестеринемією чітко спостерігається взаємозв'язок високого вмісту ЛПНЩ у плазмі крові та формування атеросклеротичних бляшок у коронарних артеріях. А також, що підвищення вмісту продуктів ПОЛ у крові хворих на атеросклероз може пояснюватися збільшенням секреції окиснених ліпопротеїдів гепатоцитами внаслідок інтенсифікації процесів ПОЛ та при активації окиснення поліненасичених жирних кислот у процесі їх циркуляції в кров'яному руслі [6, 18]. Так дійсно, атерогенні ЛПНЩ дуже схильні до ПОЛ, тоді як антиатерогенні ліпопротеїди високої щільності не тільки стійкі до окиснення, але і можуть пригнічувати перекисне окиснення ЛПНЩ, як показано

**Таблиця 2. Вплив внутрішньовенного введення корвітину на про- та антиоксидантні процеси в гомогенатах тканини міокарда кролів при гіперхолестеринемії ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )**

Показники	Контроль (I група)	Гіперхолестеринемія (II група)	Гіперхолестеринемія та введення корвітину (III група)
Малоновый діальдегід, $\text{мкмоль хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка	$5,25 \pm 0,16$	$17,35 \pm 1,21^*$	$10,96 \pm 1,2^{**}$
Супероксиддисмутаза, $\text{ум.од./мг}$ білка	$1,87 \pm 0,33$	$1,3 \pm 0,07$	$3,38 \pm 0,45^{**}$
Каталаза, $\text{ммоль хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка	$138,57 \pm 2,8$	$77,67 \pm 6,1^*$	$97,49 \pm 5,56^{**}$

в модельних системах [5, 7]. Посиленому окисненню ЛПНЩ при гіперхолестеринемії та атеросклерозі, ймовірно, сприяє зниження активності ферментів антиоксидантного захисту в крові. Показано, що в крові хворих на атеросклероз виявлена сильна зворотна кореляція між вмістом ліпопротеїдів та активністю глутатіонпероксидази [5, 14]. Наші результати також свідчать про зниження активності ферментів супероксиддисмутази та каталази за умов гіперхолестеринемії, тоді як після застосування корвітину за цих самих умов їх активність підвищується.

Відомо, що майже всі молекулярні механізми ушкодження базуються на порушенні проникності та цілісності клітинних мембран [1, 6, 12]. Виявлено, що при гіперхолестеринемії зростання продукції вільних радикалів за допомогою модуляції активності НАДФ-оксидази призводить до підвищення деградації синтезованого NO. Показано, що вільні радикали індукують окиснення ЛПНЩ, які в свою чергу знижують транскрипційний потенціал NO-синтази та внутрішньоклітинну стабільність мРНК [7, 15]. Як було показано раніше, препарат корвітин відновлює функціональну активність ендотелію, попереджує зниження енергетичного метаболізму клітин і має мембранопротекторну дію [3].

Проаналізувавши наші результати ми припускаємо, що дисбаланс між активністю радикалпродукуючою та антиоксидантною системою при гіперхолестеринемії можна коригувати, застосовуючи препарат корвітин.

Раніше нами було показано, що корвітин має вплив на активність протеасомного протеолізу у клітинах крові та тканинах серця і аорти, що також може бути компонентом його антиатерогенної дії [8]. Було виявлено, що він впливає на попередження чи індукцію апоптозу клітин, вазорелаксацію, має протизапальний, антипроліферативний ефекти та інші впливи, що причетні до

патогенезу атеросклеротичних уражень [18]. Біофлаваноїди знижують здатність ЛПНЩ до окиснення та агрегації, що пов'язано з їх протективними властивостями щодо  $\alpha$ -токоферолу, який є головним антиоксидантом мембранних структур [16, 21]. Застосування біофлаваноїдів знижує активність синтезу та кількість ендотеліну-1, попереджує гіпертрофію гладеньком'язових клітин судинної стінки внаслідок пригнічення активності мітогенактивувальних протеїнкіназ, що може бути пов'язано з їх антиоксидантними властивостями [15].

Отже, водорозчинний, малотоксичний препарат для внутрішньовенного введення корвітин, що має антиатерогенні властивості, знижує активацію процесів ПОЛ і забезпечує антиоксидантну дію при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів.

**А.М. Шиш, Д.О. Пашевин, В.Е. Досенко,  
А.А. Мойбенко**

#### **КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ С ПОМОЩЬЮ БИОФЛАВОНОИДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У КРОЛИКОВ**

Исследовано влияние препаратов биофлавоноидов на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов при моделировании холестеринового атеросклероза у кроликов. Об увеличении образования свободных радикалов свидетельствует повышение интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) в плазме крови и гомогенатах сердец кроликов при гиперхолестеринемии. Применение препарата корвитин (действующее вещество кверцетин) приводило к снижению интенсивности ХЛ по всем кинетическим показателям. Показано, что в условиях гиперхолестеринемии концентрация малонового диальдегида в гомогенате ткани миокарда значительно увеличивается, тогда как применение биофлавоноидов уменьшает ее содержание на 38,3 %. Установлено стимулирующее влияние корвитина на активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы. Полученные результаты свидетельствуют о способности биофлавоноидов ингибировать свободнорадикальные процессы и предотвращать снижение активности ферментов антиоксидантной



защиты в условиях моделирования холестеринового атеросклероза у кроликов.

Ключевые слова: холестериновый атеросклероз, перекисное окисление, ферменты антиоксидантной защиты, биофлавоноиды, кверцетин.

**A.M. Shysh, D.O. Pashevin, V.E. Dosenko,  
A.A. Moibenko**

### **CORRECTION OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM BY BIOFLAVONOIDS DURING MODELING OF RABBIT CHOLESTEROL ATHEROSCLEROSIS**

We have studied the influence of bioflavonoids (quercetin, corvutin) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in the modeling of cholesterol atherosclerosis in rabbits. It has been shown that simultaneous administration of the quercetin derivative corvutin suppressed lipid peroxidation. We showed that under hypercholesterolemia, the concentration of malone dialdehyde in myocardial tissue in rabbits is significantly increased, while administration of bioflavonoids decreased the concentration of malone dialdehyde by 38,3%. Furthermore, corvutin caused activating effects on antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in cardiac tissue. Our data suggest that bioflavonoids are able to suppress lipid peroxidation and prevent the decrease of antioxidant enzymes activity in rabbits with cholesterol-rich diet induced atherosclerosis.

Key words: cholesterol atherosclerosis, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, bioflavonoids, quercetin.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: Наука. Интер-периодика, 2001. – 343 с.
2. Никитин Ю.П., Панин Л.Е., Воевода М.И., Симонина Г.И., Душкин М.И., Рагино Ю.И., Николаев К.Ю., Рябиков А.Н., Денисова Д.В., Тихонов А.В., Шварц Я.Ш. Вопросы атерогенеза. – Новосибирск, 2005. – 372 с.
3. Колчин Ю.М., Мойбенко О.О., Максютіна Н.П. Вплив розчинної форми кверцетину на перебіг експериментального інфаркту міокарда у щурів // Ліки. – 1995. - № 6. – С. 50–57.
4. Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободно-радикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 48–62.

6. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободно-радикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – М.: Наука, 2001. – 78 с.
7. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В., Машина С.Ю., Лямина С.В., Покидышев Д.А., Малышев И.Ю. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии // Кардиология. – 2002. – № 11. – С. 73–84.
8. Пашевін Д.О., Досенко В.С., Биць Ю.В., Мойбенко О.О. Активність протеасоми в тканинах аорти, серця та ізольованих лейкоцитах крові в процесі моделювання холестеринового атеросклерозу // Фізіол. журн. – 2007. – 53, № 6. – С. 3–10.
9. Серкиз Я.И., Дружинина Н.А., Хриенко А.П., Павленко И.О., Шлумукова И.Ф. Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии. – К.: Наук. думка, 1989. – 176 с.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. – В кн.: Совр. методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–67.
11. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксид-дисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Ford D.A. Alterations in myocardial lipid metabolism during myocardial ischemia and reperfusion // Prog. Lipid Res. – 2002. – 41. – P. 6–26.
13. Fukasawa R., Kanda A., Hara S. Anti-oxidative effects of rooibos tea extract on autoxidation and thermal oxidation of lipids // J. Oleo Sci. – 2009. – 58(6). – P. 275–283.
14. Heinecke J.W. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis // J.W. Heinecke Atherosclerosis. – 1998. – 141. – P. 1–15.
15. Jimínez R., Lypéz-Serpyveda R., Kadmiri M., Romero M., Vera R., Sónchez M., Vargas F., O'Valle F., Zarzuelo A., Duecas M., Santos-Buelga C., Duarte J. Polyphenols restore endothelial function in DOCA-salt hypertension: role of endothelin-1 and NADPH oxidase // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – 43(3). – P. 462–73.
16. Kamada C., da Silva E.L., Ohnishi-Kameyama M., Moon J.H., Terao J. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit // Free Radic. Res. – 2005. – 39, №2. – P. 185–194.
17. Lisovy O.O., Dosenko V.E., Nagibin V.S., Tumanovska L.V., Korol M.O., Surova O.V., Moibenko O.O. Cardioprotective effect of 5-lipoxygenase gene (ALOX5) silencing in ischemia-reperfusion // Acta Biochim. Pol. – 2009. – 56(4) – P.687–694.
18. Mulvihill E.E., Huff M.W. Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health // Can. J. Cardiol. – 2010. – 26. – P.17A–21A.
19. Sadik C.D., Sies H., Schewe T. Inhibition of 15-

- lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action // Biochem. Pharmacol. – 2003. – **65**. – P.773–781.
20. Victor V.M., Rocha M., Solb E. Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis // Curr. Pharm. Des. – 2009. – **15**(26). – P.2988–3002.
21. de Whalley C., Rankin S., Hoult J., Jessup W., Leake D. S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages // Biochem. Pharmacol. – 1990 – **39**. – P.1743–1750.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до редакції 08.11.2010*

Н.Д. Носенко, І.Ю. Ганжий, П.В. Сініцин, Л.І. Полякова, Л.В. Тарасенко,  
А.А. Лимарєва, Л.В. Чайковська, О.В. Сачинська, О.Г. Резніков

## Вплив хронічного стресу в пубертатний період на репродуктивну систему самиць щурів з експериментальною гіперандрогенією

*Досліджено вплив хронічного стресу (щоденна 30-хвилинна іммобілізація) з 35-ї по 45-ту добу життя та його поєднання з андрогенізацією (імплантація капсул з тестостероном на 33-тю добу життя) на стан репродуктивної системи самиць щурів віком 2,5 міс. Вивчали строки статевого дозрівання, регулярність і структуру естральних циклів, вміст тестостерону, андростендіону та кортикостерону в плазмі крові, гістологічну будову яєчників. Андрогенізація призводила до підвищення вмісту тестостерону та зниження – андростендіону в плазмі крові, розвитку оліго- або ановуляторного стану, що характеризується порушенням чи припиненням естральних циклів, різким зменшенням кількості або відсутністю постовуляторних жовтих тіл, утворенням кіст, розростанням інтерстиціальної тканини в яєчниках. Вміст кортикостерону в плазмі крові всіх дослідних тварин був у межах норми. За винятком деяких порушень регулярності естральних циклів, стресування щурів не спричиняло суттєвих змін репродуктивної системи, а на тлі андрогенізації затримувало статеве дозрівання, збільшувало кількість оваріальних кіст в яєчниках, водночас децю послаблювало негативні наслідки андрогенізації відносно статевої циклічності у молодих тварин.*

*Ключові слова: хронічний стрес, гіперандрогенія, пубертатний період, репродуктивна система, самиці щурів.*

### ВСТУП

Відомо, що стрес може бути як головним, так і додатковим етіологічним чинником розвитку багатьох захворювань, до яких відносяться і різноманітні розлади репродуктивної системи, в тому числі й синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) [12]. Останній найчастіше розвивається під час статевого дозрівання та супроводжується активацією гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи (ГГАС) [1, 7, 16]. ГГАС, яка забезпечує формування стресової реакції, може суттєво пригнічувати функцію жіночої репродуктивної системи на різних рівнях. Кортикотропін-рилізінг-гормон (КРГ) інгібує секрецію гіпоталамічного гонадотропін-рилізінг-гормону

(ГРГ), тоді як глюкокортикоїди – лютеїнізуючого гормону гіпофіза й оваріальних стероїдів [10, 13]. У свою чергу на ГГАС впливають оваріальні гормони. Так, естрадіол стимулює синтез КРГ і посилює секрецію кортикостероїдів зв'язувального глобуліну [16]. Початок гормональних змін, що модулюють стрес-систему, збігається з періодом пубертації, який характеризується підвищеною вразливістю жіночого організму до стресових стимулів [9, 20]. Показано, що у самиць щурів препубертатного віку значно збільшується чутливість надниркових залоз до адренокортикотропного гормону, що пригнічує репродуктивну систему [14, 18].

Відомо, що СПКЯ характеризується порушеннями оваріального стероїдогенезу.

Разом з тим на його розвиток можуть впливати й інші чинники. Важливим фактором ризику для розвитку СПКЯ під час статевого дозрівання є гіперпродукція андрогенів наднирковими залозами [15, 17]. Причини екстраваріальної гіперсекреції андрогенів досі не зовсім зрозумілі. Проте деякі автори вважають, що одним із механізмів їх надмірної секреції корою надниркових залоз може бути адренкортикальна дисфункція, яка розвивається внаслідок стресу [19].

Мета нашої роботи – визначити особливості статевого розвитку самиць щурів за умов поєднаної дії хронічного стресу та надлишку андрогенів у пубертатний період.

## МЕТОДИКА

Досліди проведено на 40 самицях щурів лінії Вістар з датованим днем народження, який вважали за першу добу життя. Тварин утримували у віварії за природного освітлення та на стандартному дозованому раціоні. Експерименти проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей [3].

Стан гіперандрогенії у самиць щурів пубертатного віку було змодельовано описаним раніше способом [6], тобто за допомогою імплантації силастикових капсул, що містили 5 мг кристалічного тестостерону ("Fluka", Голландія). Імплантацію капсул під шкіру шиї щурів 33-добового віку виконували під легким ефірним наркозом.

Усі тварини були поділені на 4 групи по 10 у кожній: 1-ша – інтактні самиці (контроль); 2-га – самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період (імобілізація протягом 30 хв щодобово з 35-ї по 45-ту добу життя); 3-тя – самиці з експериментальною гіперандрогенією (ЕГА), відтвореною за допомогою імплантації капсул з тестостероном; 4-та група – самиці з ЕГА, що зазнавали впливу хронічного стресу

в пубертатний період.

Тварин зважували з двотижневим інтервалом з початку експерименту. Термін завершення пубертації реєстрували за добою розкриття піхви та появи першого еструсу. Фазову структуру естральних циклів вивчали за допомогою щоденного цитологічного аналізу вагінальних мазків методом світлової мікроскопії.

У 2,5-місячному віці щурів у стадії метаеструсу або діеструсу швидко декапітували під ефірним рауш-наркозом. У гепаринізовані пробірки збирали кров, що відтікала від судин шиї, центрифугували для відокремлення плазми, яку зберігали при -18 °С до проведення аналізів на вміст гормонів. Вилучали і зважували органи статевої системи та надниркові залози. Яєчники фіксували у рідині Буена для подальшого гістологічного дослідження. З парафінових блоків виготовляли серійні зрізи яєчників товщиною 5–6 мкм, фарбували гематоксиліном і еозином і вивчали за допомогою світлової мікроскопії. На серійних зрізах підраховували за загально-визнаними ознаками кількість жовтих тіл, утворених після останньої овуляції. Концентрацію тестостерону та андростендіону в плазмі крові визначали радіоімунологічним методом за допомогою наборів RIA Testosterone direct та RIA Androstenedione ("Immunotech", Франція). Радіоактивність зразків вимірювали на  $\gamma$ -лічильнику 5500-B ("Beckman", США). Вміст кортикостерону в плазмі крові визначали флуориметричним мікрометодом [2].

Результати опрацьовували з використанням критерію *t* Стьюдента. Статистично вірогідною вважали різницю при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз змін маси тіла, як інтегральний показник загального фізичного стану тварин, показав, що стресування самиць щурів у пубертатний період не мало нега-

тивних наслідків щодо їх соматичного розвитку: маса тіла впродовж усього періоду спостереження не відрізнялася від норми (табл. 1). У самиць з імплантованими капсулами з тестостероном та таких, що додатково зазнали впливу хронічного стресу, маса тіла вірогідно збільшувалася на 49-ту добу життя ( $P < 0,05$ ), що за все наймовірніше, пов'язано з проявом анаболічного ефекту екзогенного андрогену. Наприкінці експерименту (на 75-ту добу життя) маса тіла в самиць з ЕГА нормалізувалась, а в аналогічній групі тварин, підданих хронічному стресу – залишалася вірогідно підвищеною відносно контрольних показників ( $P < 0,05$ ).

Розкриття піхви, що зазвичай збігається із закінченням пубертатного періоду, в контрольних самиць відбувалося в середньому на 47,1 добу  $\pm$  0,9 добу життя і не було порушеним як у стресованих, так і у тварин з ЕГА: 49,0 дб  $\pm$  0,4 і 48,1  $\pm$  0,8 дб відповідно. В самиць з ЕГА, які зазнавали хронічного стресу, дещо збільшувався термін пубертатного періоду і, як результат, піхва у цих тварин відкривалася в середньому на 50,0 добу  $\pm$  0,8 добу після народження ( $P < 0,05$ ).

Як показано нами раніше [4, 5], після досягнення статевої зрілості у тварин, яким імплантували капсули з тестостероном на по-

чатку пубертації, спостерігаються розлади статевої циклічності. І в цьому дослідженні у переважній більшості самиць (у 7 з 10) відмічалися нерегулярні естральні цикли, у решти – цитологічна картина вагінальних мазків відповідала стану персистентного дієструсу. Тривалість стадії спокою збільшувалася (75,9 порівняно 53,5 % у контролі), а стадії проєструсу і еструсу скорочувалися (9,9 і 14,2 % відповідно) порівняно з контрольними значеннями (22,9 і 23,6 %).

У самиць щурів, обтяжених стресуванням у пубертатному віці, порушення естральних циклів хоча й спостерігалися, але були менш вираженими. Нерегулярні естральні цикли виявлені у 7 з 10 тварин, водночас у трьох самиць зберігалися регулярні естральні цикли. Співвідношення стадій проєструсу, еструсу та метаєструсу в комплексі з дієструсом становило 16,8, 25,3 і 57,9 % відповідно, отже, наближалось до показників інтактних щурів. Цілком імовірно, що розвиток зазначених порушень статевої циклічності може бути пов'язаний з гальмівним впливом надлишку глюкокортикоїдів на секрецію ендогенних гонадотропних і оваріальних гормонів внаслідок стресової активації ГГАС у пубертатному періоді [10]. Певну роль можуть також відігравати ендогенні опіоїди, які вивільнюються через стрес і пригнічують секре-

**Таблиця 1. Зміни маси тіла у інтактних та андрогенізованих самиць щурів, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Група тварин	Маса тіла, г			
	на 35-ту добу	на 49-ту добу	на 63-тю добу	на 75-ту добу
Інтактні самиці (контроль)	55,0 $\pm$ 1,2	108,1 $\pm$ 1,7	159,6 $\pm$ 3,3	168,9 $\pm$ 4,1
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном	57,1 $\pm$ 1,0	126,0 $\pm$ 6,1*	159,3 $\pm$ 8,6	168,7 $\pm$ 13,7
Самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період	53,6 $\pm$ 1,0	106,8 $\pm$ 11,7	148,0 $\pm$ 5,4	160,4 $\pm$ 6,9
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період	60,0 $\pm$ 0,7***	118,7 $\pm$ 2,3*	171,0 $\pm$ 3,1***	190,0 $\pm$ 2,1***

Примітка. Тут і в табл. 2 \* $P < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами; \*\* $P < 0,05$  порівняно зі стресованими тваринами; \*\*\* $P < 0,05$  порівняно з тваринами з імплантованими капсулами з тестостероном.

цію ГРГ [8, 11].

Досить несподіваним виявилось те, що у стресованих самиць щурів з ЕГА зміни структури естральних циклів були схожі з такими у стресованих в пубертатному віці. Стадія спокою у тварин цієї групи, що становила 63,9 %, дещо скорочувалася порівняно з самицями з ЕГА, проте залишалася більшою, ніж у контрольних тварин. Відносна тривалість стадій проеструсу та еструсу була 14,4 і 21,5 % відповідно. Отже, стресування у пубертатному віці самиць щурів дещо послаблювало ефекти андрогенізації щодо статевої циклічності у молодих тварин. Цей феномен стає більш зрозумілим з огляду на здатність глюкокортикоїдів гальмувати секрецію КРГ у гіпоталамусі [9] і в такий спосіб зменшувати його пригнічувальний вплив на секрецію ГРГ. У цьому зв'язку особливий інтерес викликають дані Zangeneh та співавт. [21], які показали, що хронічний холодний стрес перешкоджає індукції СПКЯ у щурів.

Одним із інформативних показників розвитку неплідності або субфертильності гіперандрогенного походження було зменшення відносної маси яєчників у самиць з ЕГА ( $P < 0,05$ , табл. 2). Водночас у тварин цієї групи зменшувалася відносна маса матки та надниркових залоз, що спостерігалось в самиць з ЕГА, підданих дії хронічного стресу. Такі зміни маси статевих органів можуть бути зумовлені порушеннями гіпоталамо-гіпофізарної регуляції репродуктивної системи внаслідок пригнічувальної дії надлишку тестостерону як

антагоніста естрогенів. Слід зазначити, що хоча у стресованих у пубертатному віці тварин відносна маса яєчників і надниркових залоз була вищою ( $P < 0,02$ ), ніж в андрогенізованих самиць, проте вона залишалася нижчою ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. Маса матки не відрізнялася від норми.

Порушення статевої циклічності та зміни маси статевих органів у самиць щурів з ЕГА характеризувалися збільшенням вмісту тестостерону в плазмі крові більш ніж утричі порівняно з нормою і були пов'язані із надходженням андрогену з капсул до судинного русла (рис. 1, а, II). Концентрація андростендіону в плазмі крові при цьому вірогідно зменшувалася ( $P < 0,05$ ; див. рис. 1, б, II), що може бути зумовлено зниженням секреції лютеїнізуючого гормону гіпофіза під впливом екзогенного тестостерону. В самиць з ЕГА, що зазнавали хронічного стресу в пубертатний період, вміст тестостерону в плазмі крові залишався підвищеним ( $P < 0,05$ ), а андростендіону – наближався до контрольних значень (див. рис. 1, а, IV; б, IV). Стресування самиць упродовж пубертатного періоду суттєво не змінювало базальний вміст досліджуваних гормонів (див. рис. 1, а, III; б, III). Андрогенізація та/або стресування самиць щурів у пубертатному віці не впливали на базальний вміст кортикостерону в плазмі їхньої крові (див. рис. 1, в).

На гістологічних препаратах яєчників інтактних щурів знаходили помірну кількість фолікулів різних стадій розвитку та велику кількість жовтих тіл, що належали до трьох

**Таблиця 2. Маса органів статевої системи та надниркових залоз самиць щурів 2,5-місячного віку ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Група тварин	Маса органів, мг/100 г маси тіла		
	Яєчники	Матка	Надниркові залози
Інтактні самиці (контроль)	53,1 ± 1,3	200,9 ± 15,3	38,0 ± 1,1
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном	32,6 ± 2,9*	123,9 ± 3,2*	28,2 ± 1,7*
Самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період	44,8 ± 2,7* <sup>***</sup>	172,3 ± 15,5 <sup>***</sup>	32,9 ± 1,4* <sup>***</sup>
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період	36,1 ± 3,2*	119,8 ± 9,4* <sup>**</sup>	29,3 ± 1,3*

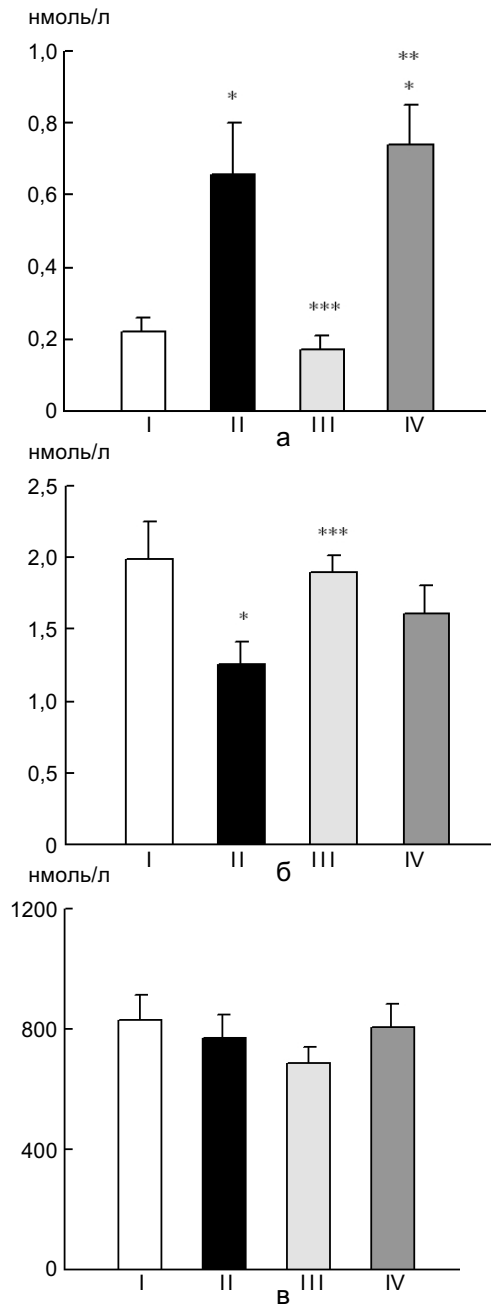


Рис. 1. Вміст тестостерону (а), андростендіону (б) та кортикостерону (в) у плазмі крові самиць щурів 2,5-місячного віку. I – інтактні самиці (контроль); II – з імплантованими капсулами з тестостероном в пубертатний період; III – самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період; IV – самиці з імплантованими капсулами з тестостероном, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період. \* $P < 0,05$  відносно контролю; \*\* $P < 0,05$  порівняно зі стресованими тваринами; \*\*\* $P < 0,05$  порівняно з тваринами з імплантованими капсулами з тестостероном

послідовних генерацій – новоутворених, попереднього циклу та старих жовтих тіл у фазі інволюції (рис. 2, а).

Під впливом надлишку андрогенів в яєчнику збільшувалася площа інтерстиціальної тканини, активувався ріст фолікулів, відбувалися дегенеративні зміни фолікулярного епітелію, що посилювало атрезію фолікулів, дрібнокістозного або кістозного їх переродження. У самиць з ЕГА з нерегулярними естральними циклами в яєчниках було значно менше жовтих тіл (табл. 3), а активованих фолікулів – більше, ніж у контрольних тварин, проте значна їх частина зазнавала кістозного переродження внаслідок дегенерації фолікулярного епітелію в антральних фолікулах або піддавалась атрезії на більш ранніх стадіях розвитку, про що свідчить велика кількість атретичних тіл (див. рис. 2, б). В яєчниках щурів з ЕГА, у яких естральні цикли припинялись і розвивався стан персистентного дієструсу також активізувався фолікулогенез, проте у цих тварин було більше великих кіст, утворених зі збільшених, можливо, персистентних фолікулів (див. рис. 2, в). Жовтих тіл не було (див. табл. 3). В усіх тварин з ЕГА інтерстиціальна тканина займала більшу площу, ніж у контрольних тварин.

У стресованих під час пубертації самиць щурів спостерігали активацію фолікулогенезу та утворення фолікулярних кіст (див. рис. 3, I, а, б). Більшу площу, порівняно з контролем, займала інтерстиціальна тканина. Навіть у тих самиць, у яких зберігалися регулярні цикли, площа інтерстиціальної тканини була збільшена, відбувалося дрібнокістозне переродження частини фолікулів та утворення фолікулярних кіст із преовуляторних фолікулів. Серед нормальних клітин інтерстиціальної тканини, які мали нормохромні ядра та невеликого об'єму дрібнодисперсну оксифільну цитоплазму, зустрічалися клітини з пікнотичними ядрами. Можливо, це є відображенням поступової нормалізації активності

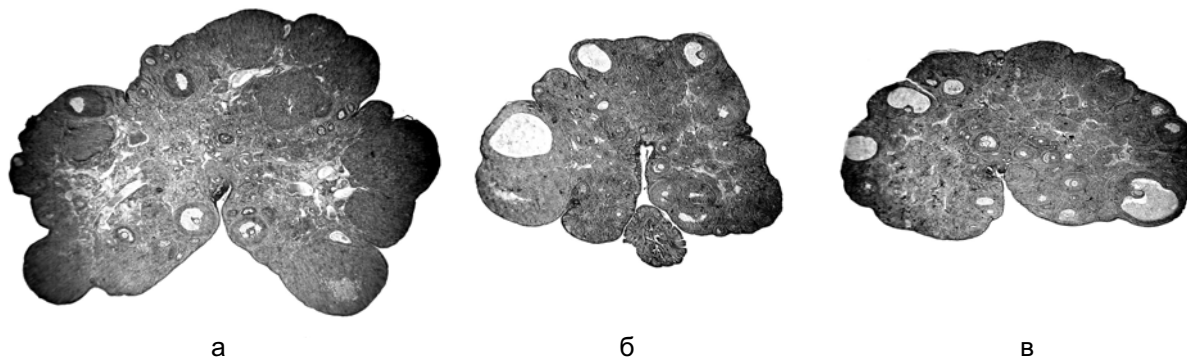


Рис. 2. Гістологічна будова яєчників інтактних і андрогенізованих у пубертатному віці самиць щурів: а – інтактні тварини з регулярними циклами (стадія метаеструс); б – тварини з імплантованими капсулами з тестостероном з нерегулярними циклами (стадія метаеструс); в – тварини з імплантованими капсулами з тестостероном з персистентним дієструсом. Забарвлення гематоксилін-еозином, об. 4

інтерстиціальної тканини після припинення дії стресового чинника.

Стресування самиць щурів пубертатного віку з ЕГА дещо збільшувало кількість оваріальних кіст в яєчниках дорослих тварин, водночас воно підвищувало кількість жовтих тіл порівняно з андрогенізованими тваринами. В яєчниках утворювалося більше фолікулів, ніж у контрольних тварин, значна їх частина піддавалась атрезії, про що свідчать численні атретичні тіла (див. рис. 3, II, а,б). Спостерігали дегенерацію фолікулярного епітелію антральних і преовуляторних фолікулів, які нерідко мали ознаки

персистентних, та утворення з них великих кіст. Такі кісти знаходили у 2/3 тварин з нерегулярним циклом. Площа інтерстиціальної тканини була такою самою, як у тварин з ЕГА. Отже, морфологічні зміни яєчників самиць цієї групи були такими, як у тварин з ЕГА з нерегулярним циклом.

Підсумовуючи результати проведених досліджень, можна дійти висновку про те, що хронічне стресування самиць щурів у пубертатний період затримувало початок статевого дозрівання, збільшувало кількість оваріальних кіст в яєчниках, проте дещо послаблювало негативні наслідки

Таблиця 3. Кількість жовтих тіл і фолікулярних кіст у яєчниках самиць щурів 2,5-місячного віку

Група тварин	Кількість	
	жовтих тіл	фолікулярних кіст
Інтактні самиці з регулярними циклами (n = 5)	12,0 (8-15)	0,2 (0-1)
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном з персистентним дієструсом (n = 3)	-	1,3 (1-3)
з нерегулярними циклами (n = 6)	5,6 (1-9)	1,0 (0-4)
Самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу з регулярними циклами (n = 3)	9,3 (4-15)	1,0 (0-2)
з нерегулярними циклами (n = 5)	7,0 (4-10)	0,25 (0-1)
Самиці з імплантованими капсулами з тестостероном, що зазнавали впливу хронічного стресу з регулярними циклами (n = 3)	7,3 (4-11)	0,67 (0-3)
з нерегулярними циклами (n = 7)	7,2 (2-10)	1,5 (0-6)

Примітка. У дужках – діапазон коливань, n – кількість обстежених яєчників.



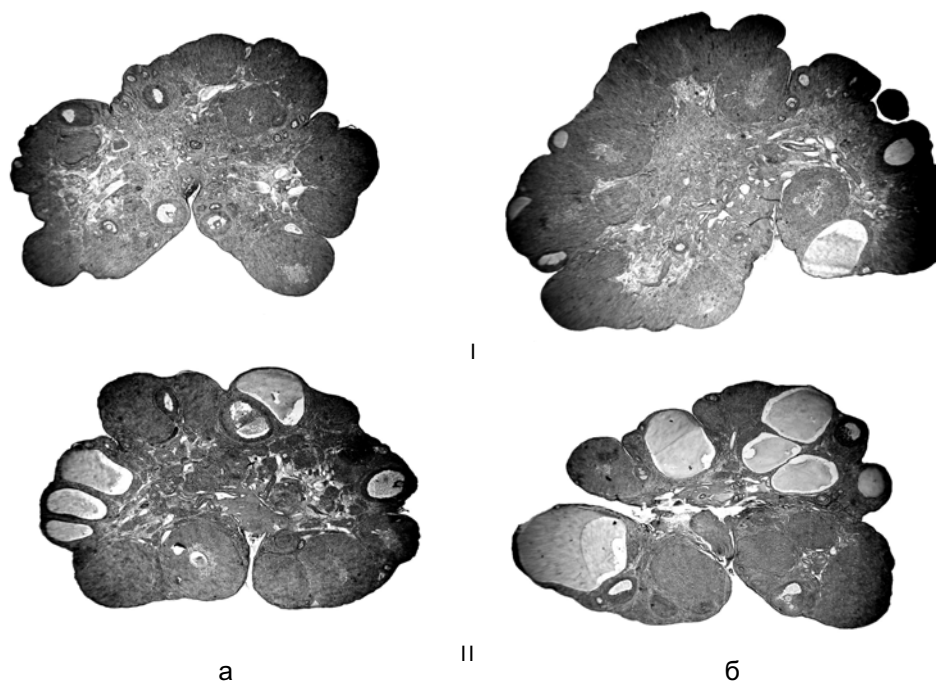


Рис. 3. Гістологічна будова яєчників молодих статевозрілих щурів: I – самиці, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період; II – самиці з імплантованими капсулами з тестостероном, що зазнавали впливу хронічного стресу в пубертатний період. а – регулярний цикл (стадія метаеструсу); б - нерегулярний цикл (стадія метаеструсу). Забарвлення гематоксилін-еозином, об. 4

андрогенізації відносно статевої циклічності у молодих тварин при досягненні статевої зрілості.

**Н.Д. Носенко, І.Ю. Ганжий, П.В. Сініцин,  
Л.І. Полякова, Л.В. Тарасенко,  
А.А. Лимарева, Л.В. Чайковская,  
О.В. Сачинская, А.Г. Резников**

#### **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА В ПУБЕРТНЫЙ ПЕРИОД НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СИСТЕМУ САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ**

Изучено влияние хронического стресса (ежедневная 30-минутная иммобилизация) с 35-го по 45-й дни жизни и его сочетания с имплантацией капсул с тестостероном на 33-е сутки жизни на состояние репродуктивной системы самок крыс в возрасте 2,5 мес. Исследовали сроки полового созревания, регулярность и структуру эстральных циклов, содержание тестостерона, андростендиона и кортикостерона в плазме крови, гистологическое строение яичников. Андрогенизация приводила к повышению содержания тестостерона и снижению андростендиона в плазме крови, развитию олиго- или ановуляторного состояния, характери-

зующегося нарушением или прекращением эстральных циклов, резким уменьшением количества или отсутствием постовуляторных желтых тел, образованием кист, разрастанием интерстициальной ткани в яичниках. Концентрация кортикостерона в плазме крови сохранялась в пределах нормы у всех подопытных животных. За исключением некоторых нарушений регулярности эстральных циклов, стрессирование крыс не вызывало существенных изменений репродуктивной системы. Стрессирование на фоне андрогенизации задерживало половое созревание, увеличивало количество овариальных кист в яичниках, в то же время ослабляло негативные последствия андрогенизации относительно половой цикличности у молодых животных. Ключевые слова: хронический стресс, гиперандрогения, пубертатный период, репродуктивная система, самки крыс.

**N.D. Nosenko, I.Yu. Ganzhiy, P.V. Sinitsyn,  
L.I. Polyakova, L.V. Tarasenko, A.A. Limareva,  
L.V. Chaikovskaya, A.G. Reznikov**

#### **EFFECT OF CHRONIC STRESS DURING PUBERTY ON REPRODUCTIVE SYSTEM OF FEMALE RATS WITH EXPERIMENTAL HYPERANDROGENICITY**

Effects of chronic stress (daily 30-min immobilization) on

35-45 days of life and its combination with androgenization (implantation of testosterone-containing capsules on 33<sup>rd</sup> day of life) on reproductive system of 2.5 month old female rats were studied. The term of sexual maturation, estrous cycles regularity and structure, blood plasma levels of testosterone, progesterone and androstenedione as well as ovarian histology were examined. Androgenization resulted in the blood plasma testosterone level increase and the androstenedione level decrease, development of oligo- or anovulatory condition characterized by disorders or discontinuation in estrous cyclicity. We also detected abrupt reduction or absence of postovulatory luteal bodies, cysts formation and ovarian interstitial tissue overgrowth. All experimental animals had normal blood plasma corticosterone level. Stressed rats had no considerable changes in reproductive system except of some cyclicity disorders. Stressed against androgenization rats demonstrated delayed pubescence, an increased number of ovarian cysts along with attenuation of androgenization-caused negative effects on the sexual cyclicity.

Key words: chronic stress, hyperandrogenia, puberty, reproductive system, female rats.

*V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv; Zaporozhye State Medical Academy for Postgraduate Education, Zaporozhye*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абабкова Г. Н., Зайченко О. Н., Юдина Т. В., Григоренко С. А. К вопросу о лечении начальной стадии синдрома поликистозных яичников у девушек // Репродукт. здоровье женщины. – 2004. – 3, № 19. – С. 93–94.
2. Балашов Ю. Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостерона: сравнение с другими методами // Физиол. журн. СССР. – 76, № 2. – С. 280–283.
3. Резніков О.Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142–145.
4. Резніков О.Г., Ганжий І.Ю., Носенко Н.Д., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В., Полякова Л.І., Лимарева А.А., Чайковська Л.В. Превентивна дія флутаміду щодо функціональних розладів репродуктивної системи у андрогенізованих в препубертатному віці самиць щурів // Там само. – 2009. – 14, № 1. – С. 65–76.
5. Резніков О.Г., Ганжий І.Ю., Полякова Л.І., Носенко Н.Д., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В., Лимарева А.А., Чайковська Л.В. Вплив тестостерону та блокатора андрогенних рецепторів, застосованих під час пубертації, на гістологічну будову органів статевої системи самиць щурів // Патологія. – 2009. – 6, № 2. – С. 18–22.
6. Резніков О.Г., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В., Полякова Л.І. Нейроендокринні механізми розвитку ановуляторного синдрому гіперандрогенного походження у щурів // Физиол. журн. – 1995. – 41, № 5–6. – С. 33–37.
7. Уитлоу Дж. Когда особенно не вовремя – синдром поликистоза яичников у подростков // Новая медицина тысячелетия. – 2008. – № 6. – С. 7–9.
8. Bhanot R., Wilkinson M. Opiatergic control of LH secretion is eliminated by gonadectomy // Endocrinology. – 1983. – 112. – P. 399–401.
9. Charmandari E., Kino T., Souvatzoglou E., Chrousos G.P. Pediatric stress: hormonal mediators and human development // Horm. Res. – 2003. – 59, № 4. – P.161–179.
10. Chrousos G.P., Torpy D.J., Gold P.W. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications // Ann. Intern. Med. – 1998. – 129, № 3. – P.229–240.
11. Eyvazzadeh A.D., Pennington K.P., Pop-Busui R., Sowers M., Zubieta J.K., Smith Y.R. The role of the endogenous opioid system in polycystic ovary syndrome // Fertil. Steril. – 2009. – 92, №1. – P.1–12.
12. Greiner M., Paredes A., Araya V., Lara H.E. Role of stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovary syndrome // Endocrine. – 2005. – 28, № 3. – P. 319–324.
13. Kinsey-Lones J.S., Li X.F., Knox A.M., Lin Y.S., Milligan S.R., Lightman S.L., O'Byrne K.T. Corticotrophin-releasing factor alters the timing of puberty in the female rat // J. Neuroendocrinol. – 2010. – 22, № 2. – P. 102–109.
14. MacFarland L.A., Mann D.R. The inhibitory effects of ACTH and adrenalectomy on reproductive maturation in female rats // Biol. Reprod. – 1977. – 16. – P. 306–314.
15. Marouliss G.B., Triantafillidis I.K. Polycystic ovarian disease: the adrenal connection // Pediatr. Endocrinol. Rev. – 2006. – Suppl 1. – P. 205–207.
16. Mastotakos G., Pavlatou M.G., Mizamtsidi M. The hypothalamic-pituitary-adrenal and the hypothalamic-pituitary-gonadal axes interplay // Pediatr. Endocrinol. Rev. – 2006. – 3. – P.172–181.
17. Moran C., Azziz R. The role of the adrenal cortex in polycystic ovary syndrome // Obstet.Gynecol.Clin. North.Amer. – 2001. – 28, № 1. – P. 63–75.
18. Romeo R.D., Lee S.J., McEwen B.S. Differential stress reactivity in intact and ovariectomized prepubertal and adult female rats // Neuroendocrinology. – 2004. – 80, № 6. – P. 387–393.
19. Teran Davila J., Terra-Garran A.D. Polycystic ovary syndrome of extra-ovarian origin. Review // Invest. Clin. – 2001. – 42, №1. – P. 51–78.
20. Young E.A., Altemus M. Puberty, ovarian steroids, and stress // Ann N. Y. Acad Sci. – 2004. – 1021. – P. 124–133.
21. Zangeneh F.Z., Abdollahi A., Tavassoli P., Naghizadeh M.M. The effect of cold stress on polycystic ovary syndrome in rat: before and during modeling // Arch. Gynecol. Obstet. – 2010 (Epub ahead of print).

*ДУ «Ін-т ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України», Київ;  
Запорізь. мед. академія післядиплом. освіти  
E-mail: areznikov69@mail.ru*

*Матеріал надійшов до редакції 17.12.2010*

Н.А.Рижкова, Т.І.Гавриленко, О.М.Пархоменко, С.М.Кожухов

## Метаболічна активність нейтрофільних гранулоцитів і можливі шляхи її корекції у хворих з гострим коронарним синдромом

*Вивчали метаболічну активність нейтрофільних гранулоцитів і дію корвітину на вміст супероксид-аніона і активність мієлопероксидази клітин in vitro з обчисленням індексу споживання мієлопероксидази у хворих з гострим коронарним синдромом. Усі пацієнти за вмістом супероксид-аніона і дії на нього корвітину були розділені на 2 групи. Хворі (68 %) з початково низьким вмістом супероксид-аніона склали 1-шу групу. Додавання корвітину до клітин таких пацієнтів сприяло нормалізації цього показника. У цій групі відмічені також виражений нейтрофілез, низький індекс споживання мієлопероксидази і високий рівень даного ферменту в загальній популяції нейтрофільних гранулоцитів. Хворі (32 %) з початково нормальним вмістом супероксид-аніона склали 2-гу групу, при цьому корвітин істотно не впливав на нього. Активність мієлопероксидази і індекс споживання даного ферменту у таких хворих були також в межах контрольних значень. Аналіз госпітального періоду показав, що у пацієнтів 1-ї групи частіше розвивалися шлуночкова тахікардія/фібриляція шлуночків, пароксизми фібриляції передсердя, блокади ніжок пучка Гіса, погіршувалася ниркова функція. Це дає підставу вважати, що низький вміст супероксид-аніона в нейтрофільних гранулоцитах під час надходження хворих з гострим коронарним синдромом до стаціонару може бути одним з несприятливих ознак ускладненого перебігу госпітального періоду захворювання. При цьому корвітин (in vitro) здатний відновлювати метаболічну активність нейтрофільних гранулоцитів.*

*Ключові слова: гострий інфаркт міокарда, нейтрофільні гранулоцити, кверцетин.*

### ВСТУП

Дослідження останніх років свідчать про те, що істотну роль у патогенезі гострого коронарного синдрому відіграє запалення як локальне, так і системне [11, 13]. Запалення – це виникла під час еволюції захисно-приспосовна реакція живих систем на дію патогенного подразника, що викликає пошкодження. При цьому у відповідь на пошкодження тканин організм також відповідає місцевою запальною реакцією (може поєднуватися і з генералізованою). До ефекторів запалення відносяться нейтрофільні гранулоцити (НГ), що визначають ініціацію, розвиток і результат запального процесу у кожному конкретному випадку.

Зрілі НГ містять багатий набір цитотоксичних чинників, вивільнення яких не вимагає вираженої морфологічної перебудови, на відміну від інших клітин крові, і відбувається відразу. Послідовність подій стереотипна і не залежить від етіологічного чинника. Поєднання готового ефекторного потенціалу зі здатністю до його швидкої мобілізації є основою, що робить НГ одним з головних учасників найбільш ранніх етапів гострого запалення [2]. Накопичення НГ у вогнищі запалення допомагають організму вирішити раптово виниклу тактичну задачу – очистити зону пошкодження від інфекційного агента і продуктів розпаду аутологічних клітин, готуючи тим самим «фронт

© Н.А.Рижкова, Т.І.Гавриленко, О.М.Пархоменко, С.М.Кожухов

робіт» для інших імунокомпетентних клітин (моноцитів/макрофагів і лімфоцитів). Акумулюючись у вогнищі запалення, НГ лавиноподібно виділяють цитотоксичні продукти, створюючи локальну перевагу над їх інгібіторами [3, 12].

При гострому інфаркті міокарда (ГІМ) НГ уже до кінця 1-ї доби накопичуються на периферії некрозу і мігрують до його центру. Деструкція тканин внаслідок ішемічного пошкодження призводить до протеолізу білків і появи пептидів, що є хемоатрактантами для НГ. Протягом 1-ї доби ГІМ у зоні ішемії–реперфузії число НГ збільшується в 10–15 разів [3]. Їх скупчення утворюють демаркаційну зону між живою і загиблою тканиною, формування якої сягає максимуму на 2–4-ту добу. Розташовані в периферичних ділянках некротичної зони міокарда НГ фагоцитизують і розщеплюють частинки тканинного дедриту, а також виділяють у навколишні тканини різні метаболіти – кисневі радикали, мієлопероксидазу (МПО), лейкотриєни, чинник активації тромбоцитів, еластазу, колагеназу тощо, що викликають пошкодження ендотелію, розлади мікроциркуляції і деструкцію матриксу сполучної тканини в зоні пошкодження. Відіграючи початково захисну роль, НГ здатні викликати додаткову альтерацію тієї тканини, яку вони інфільтрують [3, 12]. Такий механізм може бути відповідальний за відомі клінічні феномени «не відновленого тканинного кровотоку» після тромболітичної терапії або ангіопластики–стентування внаслідок мікросудинної обструкції (відомого як феномен *no-reflow* у англійській літературі), подальшого збільшення зони некрозу і процес ранньої дилатації порожнини серця. Деякі дослідники [11] вважають, що мікросудинні і міокардіальні пошкодження при ГІМ є результатом неконтрольованої імунної відповіді, асоційованої з нейтрофілією. Значення чисельності лейкоцитів для погіршення перебігу і прогнозу ГІМ описано раніше [1, 14, 19].

На відміну від інших клітин, НГ добре переносять гіпоксію і можуть здійснювати властиві їм фізіологічні функції в умовах гіпоксії і навіть анабіозу. Вони є основними джерелами кисневих радикалів в організмі людини. Раптовість і швидкість, з якою виникають і розвиваються реакції утворення потужних біооксидантів, стали приводом для образного порівняння їх з вибухом (“респіраторний вибух”). Реакції респіраторного вибуху не є системою життєзабезпечення НГ. Таким чином вони проявляють свій деструктивний потенціал. У фізіологічних умовах респіраторний вибух НГ є виключно захисною реакцією організму з утворенням активних форм кисню, що беруть участь в окисненні ліпідів, білків і таким чином впливають на стан клітинних мембран як власних, так і будь-яких інших клітин [3, 12].

Активовані НГ під час респіраторного вибуху генерують супероксид-аніон (СОА), який утворюється за участю НАДФ-оксидази. Надалі утворюється перекис водню ( $H_2O_2$ ), синглетний кисень і гідроксильний радикал.  $H_2O_2$  в комбінації з МПО формує ферментно-субстратний комплекс, який окиснює іони галогенів ( $Cl^-$ ,  $I^-$ ,  $Br^-$ ) і утворює високореакційні агенти, зокрема гіпохлорну кислоту. Ці метаболіти, вивільняючись у зоні ішемії, здатні викликати додаткову альтерацію і некроз навколишніх тканин [3, 16, 17].

В експериментальних роботах наводяться відомості про те, що, знижуючи інфільтрацію міокарда нейтрофілами, можна істотно зменшити розмір його пошкодження. Водночас у клінічних дослідженнях не доведено подібної можливості. Воді з співавт. вважають, що НГ, напевно, не самий відповідний об’єкт для самостійної дії для попередження пошкодження міокарда. Хоча не виключають, що проти-запальна дія деяких препаратів пов’язана і з їх впливом на НГ [6, 10].

Одним з відомих модуляторів активності різних ферментів є біофлавоноїд,

зокрема, кверцетин і його водорозчинна форма – корвітин, що мають антиоксидантну дію. Впливаючи на активність ферментів, що беруть участь у вільнорадикальних процесах, вони гальмують деградацію фосфоліпідів клітинних мембран і утворення патогенних метаболітів арахідонової кислоти – лейкотриєнів, що є хемоатрактантами для НГ. Останні – основні продуценти як вільних радикалів, так і лейкотриєнів. Експериментальні дослідження показали, що корвітин попереджує підвищення вмісту  $H_2O_2$  в крові, активує ферменти, які продукують NO і регулюють транспорт кальцію, зменшує приріст вмісту дієнових кон'югатів [4]. Вивчення дії корвітину дало змогу виявити істотну протизапальну дію препарату на рівні клітин крові та імунних реакцій організму. Клінічні дослідження показали, що лікарські форми кверцетину зменшують реперфузійні порушення коронарного кровообігу в серці, покращують гемо- і кардіодинаміку, зменшують об'єм некротизованого міокарда і мають антиаритмічну дію [15, 20].

Метою нашої роботи було вивчення функціонального стану НГ і дії корвітину на активність киснезалежного метаболізму клітин *in vitro*.

## МЕТОДИКА

Було обстежено 20 практично здорових осіб і 50 хворих (віком  $54,8$  років  $\pm 1,61$  років) з гострим коронарним синдромом (ГКС) з підйомом сегмента ST на ЕКГ під час надходження до стаціонару до початку лікування (середній час від початку болювого синдрому  $3,13$  год  $\pm 0,26$  год), зокрема до реперфузійної (фармакологічної, механічної) терапії. Медикаментозну терапію проводили згідно з рекомендаціями для лікування хворих з ГКС з підйомом сегмента ST на ЕКГ Європейського товариства кардіологів і Асоціації кардіологів України [5, 21].

Для характеристики функціонального стану НГ визначали киснезалежний метаболізм клітин, оцінюючи вміст СОА в

реакції з нітротетразолієвим синім (НСТ-тест) і активність МПО, ґрунтуючись на бензидиновій реакції за Грехем і Кнолем. Роботу проводили з чистою популяцією НГ у концентрації  $1 \cdot 10^6$  клітин на 1 мл живильного середовища, що отримується на подвійному градієнті щільності фікол-верографину (1.076 і 1.120). Реакції ставили в плоскодонних полістиролових планшетах. В обох випадках відбувалася цитохімічна реакція, в результаті якої змінювався колір розчину субстрату, який додавали. В НСТ-тесті нітротетразолієвий синій під впливом СОА перетворюється в темно-синій діформазан. У результаті взаємодії МПО та бензидину за участю перекису водню розчин набуває блакитного кольору. Інтенсивність забарвлення відповідає кількості досліджуваної речовини [8]. Результат реакцій враховували на імуноферментному аналізаторі iEMS Labsystems (Фінляндія), при довжині хвилі 405 нм [7]. Для оцінки реакції вираховували цитохімічний показник, який являє собою різницю дослідної та контрольної проби (розчин субстрату). Підрахунок формених елементів крові проводили на апараті «Advia» (Австрія) в клінічній лабораторії ННЦ «Інститут кардіології імені академіка М.Д.Стражеска». Для обліку витрати МПО під час респіраторного вибуху розраховували індекс споживання (ІС) МПО, який є співвідношенням рівнів СОА і МПО ( $\times 100$ ).

Корвітин (Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод, Київ) вводили в реакції *in vitro* в кінцевій концентрації 125 мкг/мл (інкубація 10 хв). Вибір дози зумовлений розрахунком концентрації циркулюючого в крові препарату у хворих з ГІМ при його внутрішньовенному введенні.

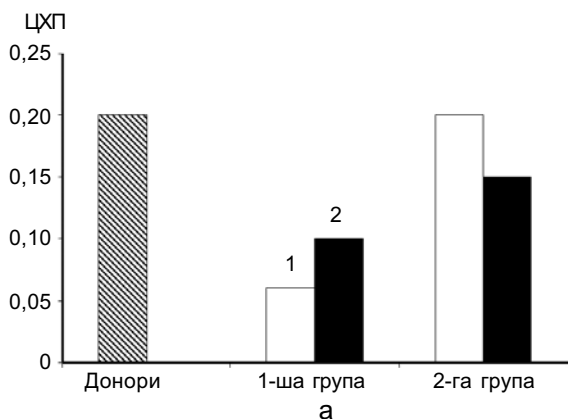
При статистичній обробці результатів використовували програму “Microsoft Excel”. Для оцінки ступеня взаємозв'язку пар ознак використовували коефіцієнт вибіркової кореляції ( $r$ ). Вірогідність відмінностей розраховували за критерієм  $t$  Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати свідчили, що у хворих з ГКС реєструвався низький вміст СОА ( $0,1 \pm 0,016$ , при нормі  $0,2$  од./ $10^6$  клітин  $\pm 0,015$  од./ $10^6$  клітин,  $P < 0,05$ ), який відіграє ключову позицію в молекулярних трансформаціях кисню. Цей показник відображає ступінь активації киснезалежного метаболізму і пов'язане з ним напрацювання подальших кисневих радикалів. Проте токсичність НГ пов'язана не стільки з СОА, скільки з перекисом водню, що накопичується, і іншими його похідними, а також залученням до процесу киснезалежних чинників.

Невисокий вміст СОА супроводжується практично незмінним рівнем МПО ( $0,5 \pm 0,06$  при нормі  $0,6$  од./ $10^6$  клітин  $\pm 0,05$  од./ $10^6$  клітин,  $P > 0,05$ ).

На МПО в НГ припадає близько 5 % об'єму клітини і в невеликій кількості вона міститься в моноцитах периферичної крові [9, 17]. У макрофагах і інших клітинах організму її немає. Цей фермент не залежить від стимуляції клітини, а цілком визначається кількістю речовини, синтезованої в процесі гранулопоезу. МПО з'являється в НГ на рівні промієлоциту в азурофільних гранулах і виділяється миттєво після активації різними агоністами, що призводить до ендотеліального пошкодження і збільшення прокоагулянтної активності [8].

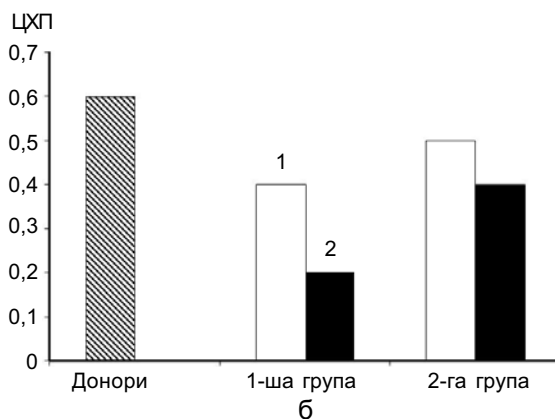


Слід відмітити неоднозначну дію корвітину на вміст кисневих радикалів хворих з ГКС. Детальніший аналіз отриманих результатів показав, що всі пацієнти за вмістом СОА і дією на нього корвітину розділилися на дві групи.

Хворі (68 %), у яких вихідний вміст СОА (рисунок, а) була гранично низькою склали 1-шу групу. Додавання корвітину до НГ таких пацієнтів сприяло підвищенню цього показника. Хворі (32 %), у яких початковий вміст СОА істотно не відрізнявся від значень практично здорових людей і дія корвітину істотно не змінювала його, склали 2-гу групу.

Обстежені хворі були переважно чоловічої статі (94,0 %), реваскуляризація міокарда (тромболітична терапія, стентування коронарних артерій) проведена у 74,1 %. За такими показниками, як час від початку симптомів захворювання до госпіталізації, локалізація інфаркту міокарда, фракція викиду лівого шлуночка обстежені не мали статистичних відмінностей.

Пацієнти 1-ї групи мали більшу частоту ускладнень упродовж перших 10 діб ГІМ (див. таблицю). У них частіше розвивалися фібриляція шлуночків/шлуночкова тахікардія, пароксизми фібриляції передсердь, блокади ніжок пучка Гіса як у 1-шу добу захворювання, так і впродовж усього госпітального періоду. Також у пацієнтів цієї



Дія корвітину на показники киснезалежного метаболізму у хворих з гострим коронарним синдромом залежно від початкового вмісту супероксид-аніона: а – супероксид-аніон, б – мієлопероксидаза: 1 – без корвітину, 2 – з корвітином

## Перебіг гострого коронарного синдрому впродовж госпітального періоду

Ознака	1-ша група (n=34)	2-га група(n=16)
Фібриляція шлуночків/шлуночкова тахікардія		
1 доба	7 (20,59)	відсутня
після 1-ї доби	1 (2,94)	відсутня
Гостра лівошлуночкова недостатність		
1 доба	11 (32,35)	4 (25,0)
3-тя доба	6 (17,65)	1 (6,25)
Атріо-вентрикулярна блокада, блокада ніжки пучка Гіса, фібриляція передсердь		
1 доба	6 (17,65)	відсутня
після 1-ї доби	3 (8,82)	відсутня

Примітка. У дужках значення у відсотках.

групи слід відзначити відсутність статистично значущого зниження вмісту С-реактивного протеїну, при однаковому його значенні на момент госпіталізації (16,7 мг/л  $\pm$  4,62 мг/л), у цій групі він знижувався всього на 8,47 %, тоді як у пацієнтів 2-ї групи – на 47,15 % ( $P < 0,05$ ). Спостерігались особливості показника функції нирок – швидкості клубочкової фільтрації. Так, у хворих 1-ї групи цей показник у динаміці на 10-ту добу збільшувався тільки на 5,1 % (з 77,68 до 81,87 мл/хв), тоді як у хворих 2-ї групи – на 20,3 % (з 73,8 до 89,2 мл/хв,  $P < 0,05$ ).

Представлені групи хворих розрізнялися і за абсолютною кількістю НГ, яка у хворих 1-ї групи істотно вище ( $9,6 \pm 1,0$ )  $\cdot 10^9$ /л, ніж в 2-й групі ( $7,1 \pm 0,9$ )  $\cdot 10^9$ /л ( $P < 0,05$ ) при нормі – ( $3,2 \pm 0,2$ )  $\cdot 10^9$ /л. Між вмістом СОА в окремі клітинні одиниці і абсолютною кількістю НГ у периферичному руслі при ГКС постійно прослідковується [7] негативна кореляційна залежність ( $r = -0,6$ ). Тому ми припускаємо, що низький вміст СОА може бути одним із чинників масового виходу НГ з кісткового мозку, де депонується близько 75 % зрілих НГ. Це може бути пов'язано, з одного боку, з «омолоджуванням» периферичного пулу за рахунок функціонально неповноцінних клітин кісткового мозку. Сегментоядерні НГ кісткового мозку, морфологічно ідентичні НГ крові, за деякими функціональними

ознаками можуть розглядатися як недостатньо зрілі, внаслідок чого вони набагато слабші в процесах киснезалежного метаболізму. З іншого боку, ослаблення цитотоксичного потенціалу може бути одним з ранніх ознак «функціонального стомлення» клітин, яке настає за будь-якою стимуляцією НГ [3, 8].

Крім того, в анаеробному середовищі деструктивні чинники НГ, не залежні від кисню, виступають на перший план. Якщо НГ не має можливості споживати кисень, блокується напрацювання киснезалежних чинників – не утворюються СОА і перекис водню, а значить не споживається МПО і при зустрічі НГ з мішенню, за законами функціонування клітини, секретуватиметься разом з іншими ферментами азурофільних і специфічних гранул НГ у зовнішнє середовище. Як високо катіонний білок МПО здатна пошкоджувати клітинні мембрани незалежно від її ферментної активності [3, 16, 17].

Наші дослідження показали, що низький вміст СОА у пацієнтів 1-ї групи, незважаючи на нормальний рівень МПО, призвела до того, що ІС МПО був істотно нижчий, ніж у практично здорових людей  $18,0 \pm 3,0$  ( $40,0 \pm 5,0$ ). Вірогідно, через відсутність СОА, а значить і перекису водню, МПО не споживається в реакціях кисневого вибуху, а значить, секретується поза клітиною. Більше того, при перерахунку активності

МПО на загальну популяцію клітин цей показник збільшується більш ніж удвічі ( $4,7 \pm 0,7$  при нормі –  $1,8$  од./ $10^6$  клітин  $\pm 0,3$  од./ $10^6$  клітин).

Експериментальні роботи [16] показали, що МПО при гострому запаленні виділяється в кровотік і може виявлятися не тільки на поверхні ендотелію, але і всередині ендотеліальних клітин і в субендотеліальному просторі. Деякі автори [18] вказують на позитивний чинник дефіциту МПО в перебігу серцево-судинних захворювань, зокрема інфаркту міокарда.

Дослідження з вивчення дії корвітину *in vitro* показали зниження активності МПО у хворих 1-ї групи майже на 50 % (див. рисунок, б), що у результаті разом з підвищенням вмісту СОА на 44 % призвело до нормалізації ІС МПО ( $45,0 \pm 10,0$ ) у цих пацієнтів. Відносні значення зазначених показників не сягали нормального рівня. Водночас у перерахунку на загальну популяцію клітин активність МПО під впливом корвітину була практично нормальною: ( $2,6 \pm 0,4$ ) од./ $10^6$  клітин.

У пацієнтів 2-ї групи рівень МПО і ІС МПО як до, так і після дії корвітину залишалися в межах контрольних значень.

Таким чином, низька активність СОА в НГ під час надходження хворих з ГКС до стаціонару може бути одним з несприятливих ознак ускладненого перебігу госпітального періоду захворювання (збільшення частоти шлуночкових порушень ритму, погіршення ниркової функції). Деструктивна дія НГ зумовлена ферментами азурофільних гранул, зокрема МПО, високий рівень якої спостерігається у хворих з важчим перебігом захворювання. Ефект дії розчинного біофлаваноїда кверцетину (препарат корвітин) підвищує початково низький рівень СОА, що нормалізує внутрішньоклітинні киснезалежні механізми, включаючи посилення споживання МПО, тим самим знижуючи позаклітинний деструктивний потенціал НГ.

**Н.А. Рыжкова, Т.И. Гавриленко,  
А.Н. Пархоменко, С.Н. Кожухов**

### **МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЕЁ КОРРЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ**

Изучалась метаболическая активность нейтрофильных гранулоцитов и действие корвитина на активность супероксид-аниона и миелопероксидазы клеток *in vitro* с вычислением индекса потребления миелопероксидазы у больных с острым коронарным синдромом. Все пациенты по содержанию супероксид-аниона и действию на него корвитина были разделены на 2 группы. Больные (68 %) с исходно низким содержанием супероксид-аниона составили 1-ю группу, а добавление корвитина к клеткам таких пациентов способствовало его нормализации. В этой группе отмечены также выраженный нейтрофилёз, низкий индекс потребления миелопероксидазы и высокий уровень данного фермента в общей популяции нейтрофильных гранулоцитов. Больные (32 %) с исходно нормальным содержанием супероксид-аниона составили 2-ю группу, при этом корвитин существенно не влиял на этот показатель. Активность миелопероксидазы и индекс потребления данного фермента у таких больных были также в пределах контрольных значений. Анализ госпитального периода показал, что у пациентов 1-й группы чаще развивались желудочковая тахикардия/фибриляция желудочков, пароксизмы фибрилляции предсердий, блокады ножек пучка Гиса, отмечалось ухудшение почечной функции. Это даёт основание считать, что низкий уровень супероксид-аниона в нейтрофильных гранулоцитах при поступлении больных с острым коронарным синдромом в стационар может являться одним из неблагоприятных признаков осложненного течения госпитального периода заболевания. При этом корвитин (*in vitro*) способен восстанавливать метаболическую активность нейтрофильных гранулоцитов.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, нейтрофильные гранулоциты, кверцетин.

**N.A. Ryzhkova, T.I. Gavrilenko,  
A.N. Parkhomenko, S.N. Kozhukhov**

### **METABOLIC ACTIVITY OF NEUTROCYTES AND POSSIBLE WAYS OF ITS CORRECTION IN PATIENTS WITH AN ACUTE CORONAL SYNDROME**

The present study aimed to investigate the metabolic activity of neutrocytes and the action of corvitin on the level of superoxide anion and myeloperoxidases of cells *in vitro* with the calculation of index of consumption of myeloperoxidase in patients with ST-elevation acute coronary syndrome. Patient



were divided into 2 groups according to the level of superoxide anion. Group 1 included the patients (68 %) with the initially low level of superoxide anion, and adding of corvitin to the cells of such patients promoted normalization of this index. In this group we observed also neutrocytosis, low index of consumption of myeloperoxidase and a high level of this enzyme in general population of neutrocytes. Group 2 included patients (32 %) with initially normal level of superoxide anion. In this group, corvitin did not influence substantially this factor. Such patients had a level of myeloperoxidase within control values and the index of consumption of this enzyme was also within control values. The analysis of hospital period showed that the patients of group 1 had a higher frequency of ventricular tachycardia / ventricular fibrillation, paroxysms of atrial fibrillation, bundle-branch blocks and worsening of the kidney function. We suppose that a low level of superoxide anion in neutrocytes play a major role in the development of complications in patients with acute coronary syndrome. An intravenous administration of corvitin was effective in restoring the metabolic activity of neutrocytes.

Key words: acute coronal syndrome, neutrocytes, quercetinum.

*M.D. Strazhesko Institute of Cardiology, AMS of Ukraine, Kyiv*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кремнева Л.В. Лейкоцитоз как показатель риска ИБС // Терап. архив. – 2004. – №11. – С.30–35.
2. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
3. Маянский Д.Н., Маянская С.Д. Роль нейтрофилов в ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Терап. архив. – 2001. – №12. – С.84–88.
4. А.А.Мойбенко, В.Е.Досенко, А.Н.Пархоменко. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К.: Наук. думка, 2008. – 520 с.
5. Пархоменко О.М., Амосова К.М., Дзяк Г.В., Голобородько Б.І., Іркін О.І., Коваль О.А., Копица М.П., Нетяженко В.З., Следзевська І.К., Соколов Ю.М., Ташук В.К., Шумаков В.О. Клінічні рекомендації з діагностики та лікування гострого інфаркту міокарда. Укр. кардіол. журн. – 2009. – № 2 (тематичний додаток). С. 4–23.
6. Пинегин Б.В., Маянский А.Н. Нейтрофилы: структура и функции // Иммунология. – 2007. – №6. – С.374–382.
7. Рижкова Н.А. Особенности функционального состояния иммунокомпетентных клеток при остром коронарном синдроме // Імунологія та алергологія. – 2006. – №4. – С.21–25.
8. Alyasin S., Amin R. Intracellular myeloperoxidase in myocardial infarction // Shiraz E-Med. J. – 2005. – 6. – P.312–320.
9. Bergt C., Pennathur S., Fu X., Byun J., O'Brien K., McDonald Th.O., Singh P., Anantharamaiah G.M., Chait A., Brunzell J., Geary R.L., Oram J.F. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport // PNAS. – 2004. – 101. – P.13032–13037.
10. Bodi V., Sanchis J, Nunez J., Rumiz E., Mainar L., Lopez-Iereu M.P., Monmeneu J.V., Oltra R., Forteza M.J., Chorro F.J., Llacer A. Post-reperfusion lymphopenia and microvascular obstruction in ST-segment elevation acute myocardial infarction // Rev. Esp. Cardiol. – 2009. – 62 (10). – P.1109–1117.
11. Bodi V., Sanchis J, Nunez J., Mainar L., Minana G., Benet I., Solano C., Chorro F.J., Llacer A. Uncontrolled immune response in acute myocardial infarction: Unraveling the thread // Amer. Heart J. – 2008 – 156. – P.1065–1073.
12. Cascao R., Rosario H.S., Fonseca J.E. Neutrophils: warriors and commanders in immune mediated inflammatory diseases // Acta Reumatol. Port. – 2009. – 34. – P.313–326.
13. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery diseases // N. Engl. J. Med. – 2005. – 352. – P.1685–1695.
14. S.Kozhukhov, A. Parkhomenko. Administration of 5-lipoxygenase inhibitor quercetin in patients with acute myocardial infarction and elevated white blood cells count: impact on necrotic zone and cardiac hemodynamics. – In: Materials of 1<sup>st</sup> Congress of Acute Cardiac Care Working Group of European Society of Cardiology “Acute Cardiac Care 2004”. – Rome, 2004. – P.58.
15. S.Kozhukhov, A.Parkhomenko. Myocardial protection by intravenous 5-lipoxygenase inhibitor Quercetin administration before primary angioplasty in patients with acute myocardial infarction: short-term results an open blind randomized trial // J. Amer. Coll. Cardiol. – 2007. – 49(9), Suppl. A. – P.226A.
16. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // J. Leucoc. Biol. – 2005. – 77. – P.598–625.
17. Nambi V. The use of myeloperoxidase as a risk marker for atherosclerosis // Cur. Ather. Rep. – 2005. – 7. – P.127–131.
18. Nichols S., Hazen S. The role of myeloperoxidase in pathogenesis of coronary artery disease // Jap. J. Infect. Dis. – 2004. – 57. – P.21–22.
19. Nunez J., Nunez E, Bodi V., Sanchis J., Minana G., Mainar L., Santas E., Melros P., Rumiz E., Darmofal H., Heatta A.M., Llacer A. Usefulness of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term mortality in ST segment elevation myocardial infarction // Amer. J. Cardiol. – 2008. – 101. – P.747–752.
20. Parkhomenko A., Kozhukhov S., Gurjeva O. Clinical efficacy of intravenous lipoxygenase inhibitor quercetin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of a prospective randomized open-label trial // Sem. Cardiol. – 2005. – 11(№4). –

P.154–158.  
21. Van de Werf F., Bax J., Betriu A., Blomstrom-Lundquist C., Crea F., Falk V., Filippatos G., Fox K., Huber K., Kastrati A., Rosengren A., Steg P.G., Tubaro M., Verheugt F., Weidinger F., Weis M. Management of

acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the task force on the management of st-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology // Eur. Heart J. – 2008. – 29(23). – P. 2909–2945.

*ННЦ “Ін-т кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска  
АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов до  
редакції 15.11.2010*

О.В.Атаман, Ю.О.Атаман

## Порівняльна характеристика порушень енергозабезпечення стінок артерій та вен у кролів з алоксановим діабетом і моноіодацетатною інтоксикацією

*Показано порушення енергозабезпечення стінок грудної аорти і задньої порожнистої вени кролів через 2 тиж від початку відтворення алоксанового діабету та моноіодацетатної інтоксикації, що проявляється зниженням інтенсивності поглинання глюкози, споживання кисню, утворення молочної кислоти і ресинтезу аденозинтрифосфату (АТФ) у препаратах вивчених судин. При цьому істотно зменшується вміст АТФ у тканинах артерій і вен. Обговорюється можливе значення таких порушень у розвитку артеріосклерозу Менкеберга. Ключові слова: артерії, вени, алоксановий діабет, моноіодацетат, артеріосклероз Менкеберга.*

### ВСТУП

Незважаючи на те, що діабетичні макроангіопатії вивчають досить довго, механізми їх розвитку залишаються до кінця не з'ясовані. Про це, зокрема, свідчить велика кількість теорій і гіпотез щодо патогенезу склеротичних уражень судин у хворих на різні типи цукрового діабету.

Серед чинників, котрі можуть відігравати важливу роль в ушкодженні судинної стінки у хворих на діабет, великого значення надають розладам метаболізму тканин кровоносних судин. Ще в 60–80-ті роки минулого століття було встановлено, що розвиток експериментального діабету супроводжується пригніченням енергетичного обміну артеріальної стінки: інтенсивності споживання кисню, активності ферментів гліколітичного розщеплення глюкози, ресинтезу аденозинтрифосфату (АТФ) тощо [11, 17, 21, 22]. Проте відкритим залишається питання, чим зумовлені ці порушення – діабетичними змінами обміну речовин у

тканинах судин (дефіцит інсуліну) чи пов'язаними з діабетом відхиленнями гомеостазу (гіперглікемія, гіперліпопротеїнемія, ацидоз тощо). Крім того, неясно, який характер мають виявлені порушення: первинний (прояв власне діабету) чи вторинний, тобто є наслідком діабетичного ушкодження судин, що відбувається через інші причини (наприклад, оксидативний стрес, неферментне глікозилювання білків, активацію поліолового шляху деградації глюкози).

Один з підходів до з'ясування цього питання – порівняння обміну речовин у кровоносних судинах тварин з діабетом із змінами метаболізму судинної стінки, зумовленими патогенними чинниками з добре відомими механізмами дії. Таким агентом може бути, наприклад моноіодацетатна кислота (моноіодацетат) – метаболічна отрута, яка пригнічує енергетичний обмін, виступаючи специфічним інгібітором ключового ферменту гліколітичного розщеплення глюкози – гліцеральдегід-3-фосфат-

© О.В.Атаман, Ю.О.Атаман

дегідрогенази, що здійснює центральну гліколітичну оксидоредукцію. Водночас під впливом моноіодацетату пригнічується окиснення цілої низки субстратів (ізоцитрату,  $\alpha$ -кетоглютарату, сукцинату, малату) у циклі Кребса, а також активність деяких ферментів пентозного циклу [5, 8].

Мета нашого дослідження – порівняти деякі основні показники енергетичного обміну судинної стінки у кролів з експериментальним алоксановим діабетом і у тварин з моноіодацетатною інтоксикацією для виявлення спільних і відмінних рис порушень метаболізму артерій і вен, що виникають при цьому.

## МЕТОДИКА

Досліди виконано на 55 кролях-самцях віком 6 міс, масою 2,0–2,2 кг. Цукровий діабет відтворювали одноразовим внутрішньовенним введенням тваринам алоксану (“Sigma Aldrich”, США) з розрахунку 100 мг/кг. Препарат вводили в ізотонічному розчині хлориду натрію (загальний об’єм якого становив 5 мл) у крайову вену вуха кролів, що були позбавлені їжі протягом 18 год. Контрольним тваринам внутрішньовенно вводили таку саму кількість ізотонічного розчину NaCl.

Через 14 діб після ін’єкції тварин забивали. Концентрацію глюкози в крові контролювали перед початком експерименту та через 3, 7 і 14 діб. Вміст глюкози крові визначали за допомогою експрес-аналізатора “GLUCOCARD”.

Моноіодацетат вводили щодоби внутрішньовенно (у крайову вену вуха) з розрахунку 10 мг/кг протягом 14 діб. Відповідну кількість речовини додавали до фізіологічного розчину (10 мг/мл), рН доводили до 7,4 насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$ . Через 24 год після останньої ін’єкції тварин забивали.

Евтаназію здійснювали, відтворюючи повітряну емболію. Одразу після забою тварин виділяли грудну аорту та задню

порожнисту вену. Судини поміщали в чашку Петрі з розчином Кребса, за допомогою гострого леза очищали їх від прилеглої жирової тканини і адвентиції, розрізали так, щоб утворювалися спіральні смужки. Одержані препарати поміщали в спеціальні скляні посудини, з’єднані з манометрами Варбурга. Натяг судинних смужок не створювали, що давало змогу вивчати мінімальний, так званий базальний рівень енергетичного обміну артерій і вен. Препарати інкубували в розчині Кребса протягом 3 год при концентрації глюкози 10 ммоль/л, газовим середовищем був кисень, температура становила 37,4 °С.

Споживання кисню ізольованими смужками судин здійснювали манометричним методом [6]. Інтенсивність поглинання глюкози розраховували за різницею її концентрації в розчині Кребса до і після тригодинної інкубації препаратів. Вміст глюкози визначали глюкооксидазним методом. Інтенсивність утворення молочної кислоти оцінювали за концентрацією лактату в середовищі одразу після закінчення інкубації смужок судин. Вміст лактату визначали гідрохіноновим методом [12]. Інтенсивність утворення АТФ препаратами артерій і вен розраховували за формулою:  $J_{\text{АТФ}} = J_L + 4,9J_{\text{O}_2}$  [18], де  $J_{\text{АТФ}}$  – інтенсивність утворення АТФ,  $J_L$  – інтенсивність утворення молочної кислоти,  $J_{\text{O}_2}$  – споживання кисню.

Вміст вільних аденінових нуклеотидів (АМФ, АДФ, АТФ) у тканинах артерій і вен визначали методом електрофорезу на папері [3, 20]. Розчинний у кислоті екстракт, отриманий із заморожених у рідкому азоті гомогенатів, розганяли протягом 3 год при напрузі 300 В і силі струму 30 мА. Після просушування паперові смужки вивчали в променях ультрахеміскопа, визначали локалізацію окремих фракцій, ідентифікуючи їх за отриманими при розгонці стандартного розчину плямах. Елюацію аденінових нуклеотидів проводили в 5 мл 0,1 N розчину хлористоводневої кислоти при

кімнатній температурі протягом 24 год. Елюати нуклеотидів і контрольної проби вивчали на спектрофотометрі СФ-26 (ЛОМО, Росія) при довжині хвиль 260 і 290 нм.

Увесь цифровий матеріал опрацьовано методами статистики з використанням критерію t Стьюдента та непараметричних статистичних методів (критерію Вілкоксона–Манна–Уїтні) [4, 7].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Одноразове введення кролям алоксану супроводжується значним підвищенням концентрації глюкози в крові, що відображає розвиток у тварин цукрового діабету. Так, базальна глікемія у них становила через 3 доби  $21,3 \pm 0,73$ ; через 7 діб –  $19,1 \pm 0,72$ ; через 14 діб –  $17,8 \pm 0,76$  порівняно з  $4,4$  ммоль/л  $\pm 0,13$  ммоль/л на початку експерименту ( $P < 0,001$ ). Максимальний рівень гіперглікемії відзначали через 3 доби

після введення алоксану, що характерно для цієї моделі цукрового діабету. У тварин, яким вводили моноіодацетат, вміст глюкози протягом усього часу експерименту залишався незмінним і становив  $4,6 \pm 0,18$  на початку дослідів,  $4,3 \pm 0,15$  через 3 доби,  $4,5 \pm 0,15$  через 7 діб,  $4,3$  ммоль/л  $\pm 0,17$  ммоль/л через 14 діб ( $P > 0,05$ ).

Результати проведених досліджень (таблиця) ще раз підтвердили, що рівень енергетичного обміну у венозній стінці кролів набагато вищий, ніж у тканинах аорти [1, 2]. Так, споживання кисню смужками венозних судин було приблизно в 5 разів більшим, якщо порівнювати з грудною аортою. Водночас продукування молочної кислоти в тканинах артерій відбувалося набагато (у 2,5 раза) швидше, ніж у венах. Як наслідок, інтенсивність ресинтезу АТФ у венозних судинах була більш як у 4 рази вищою порівняно з грудною аортою. Є думка, що такі відмінності в

**Енергетичний обмін стінки грудної аорти та стінки задньої порожнистої вени кролів з алоксановим діабетом і моноіодацетатною інтоксикацією (M $\pm$ m)**

Показник	Алоксан		Моноіодацетат	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
<b>Стінка грудної аорти</b>				
Поглинання глюкози, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$9,4 \pm 0,26$ (6)	$6,2 \pm 0,34^*$ (6)	$9,6 \pm 0,14$ (6)	$2,9 \pm 0,32^*$ (5)
Продукування молочної кислоти, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$8,4 \pm 0,35$	$6,0 \pm 0,33^*$	$8,5 \pm 0,27$	$4,4 \pm 0,39^*$
Споживання кисню, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$9,4 \pm 0,31$	$4,8 \pm 0,26^*$	$9,7 \pm 1,11$	$2,11 \pm 0,41^*$
Утворення аденозинтрифосфату, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$54,3 \pm 1,7$	$30,4 \pm 1,6^*$	$56,3 \pm 5,6$	$14,9 \pm 2,0^*$
Вміст аденозинтрифосфату, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$	$0,35 \pm 0,031$ (6)	$0,2 \pm 0,024^*$ (6)	$0,35 \pm 0,035$ (10)	$0,2 \pm 0,035^*$ (10)
<b>Стінка задньої порожнистої вени</b>				
Поглинання глюкози, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$11,2 \pm 0,37$ (6)	$4,1 \pm 0,2^*$ (6)	$10,6 \pm 0,32$ (6)	$5,3 \pm 0,35^*$ (5)
Продукування молочної кислоти, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$3,4 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,1^*$	$3,0 \pm 0,33$	$1,8 \pm 0,26^*$
Споживання кисню, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$44,6 \pm 0,88$	$15,7 \pm 0,54^*$	$52,9 \pm 3,2$	$25,0 \pm 2,9^*$
Утворення аденозинтрифосфату, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$ $\cdot$ год $^{-1}$	$222 \pm 4,5$	$79 \pm 2,7^*$	$264 \pm 15,8$	$125 \pm 14,4^*$
Вміст аденозинтрифосфату, мкмоль $\cdot$ г $^{-1}$	$0,55 \pm 0,037$ (6)	$0,25 \pm 0,021^*$ (6)	$0,5 \pm 0,023$ (10)	$0,17 \pm 0,036^*$ (10)

Примітка. У дужках – кількість тварин, \*P < 0,05.

енергозабезпеченні артерій і вен можуть пояснювати різну стійкість цих типів судин до розвитку склеротичних уражень [2].

Відтворення алоксанового діабету супроводжується значним пригніченням усіх вивчених показників енергетичного обміну як артеріальних, так і венозних судин (рисунок). Слід зазначити, що пригнічення в тканинах задньої порожнистої вени було значно більшим порівняно з грудною аортою.

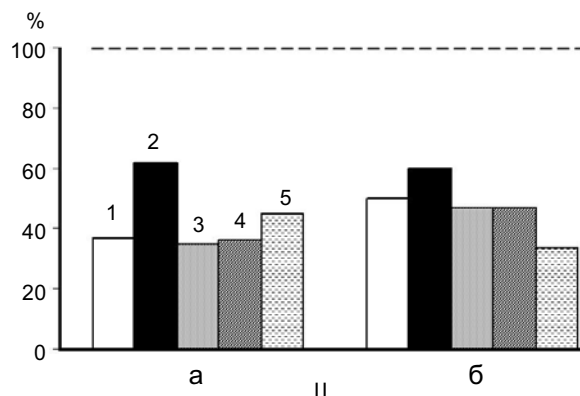
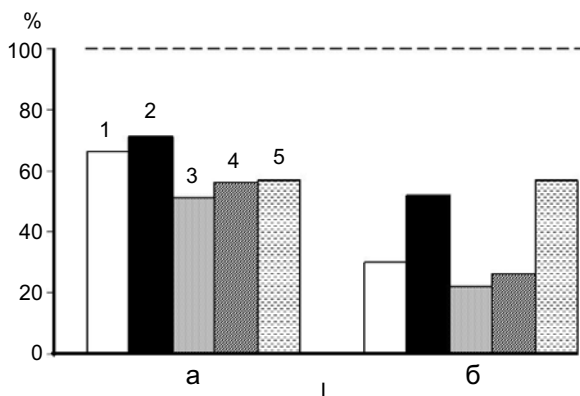
Інтوكсикація моноіодацетатом, так само як і алоксановий діабет, порушує енергозабезпечення кровоносних судин. Відмінності, однак, полягають у тому, що в грудній аорті за умов моноіодацетатної інтоксикації ці порушення були більш вираженими, ніж за умов алоксанового діабету, тоді як у задній порожнистій вені – навпаки.

Доведено [1, 2], що пригнічення енергозабезпечення кровоносних судин за допомогою моноіодацетату закономірно призводить до розвитку уражень артеріальної стінки, що мають ознаки артеріосклерозу Менкеберга: некроз, кальциноз і склерозування середньої оболонки (медії) аорти кролів. Крім того, введення кролям цієї отрути зменшує високу стійкість венозних судин до розвитку гіпер-D-вітамінозних уражень.

У дослідженнях показано, що розвитку виражених проявів артеріосклерозу Менке-

берга передують зменшення валових показників енергозабезпечення судинної стінки (споживання кисню, ресинтезу АТФ тощо). Це стосується не тільки згадуваної моноіодацетатної моделі, а й дії токсичних доз адреналіну та вітаміну D. Водночас при моделюванні холестеролового атеросклерозу такого зв'язку не існує, більше того, на ранніх стадіях його розвитку артеріальна стінка реагує не зменшенням, а навіть збільшенням основних показників енергопостачання.

З огляду на це, є підстави вважати, що виявлене нами пригнічення енергетичного обміну в судинах кролів з алоксановим діабетом може бути одним із механізмів розвитку макроангіопатій, котрі виявляють себе саме дистрофічно-склеротичними ураженнями медії. Про те, що менкебергівський тип уражень артерій у хворих на цукровий діабет (особливо 2-го типу) розвивається так само часто (а може й частіше!), як і “класичний” атеросклероз, свідчить велика кількість праць [10, 13, 14, 15]. А тому пошук механізмів, котрі лежать в основі цього виду макроангіопатій, нині є вкрай актуальним. Одним з них може бути індукована діабетичною гіперглікемією гіперпродукція супероксидних аніон-радикалів [19]. Останні чинять сильну інгібіторну дію на гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу – ключовий фермент гліколізу.



Зміни показників енергетичного обміну артеріальної (I) і венозної (II) стінки у кролів з алоксановим діабетом (а) і моноіодацетатною інтоксикацією (б). Пунктирна лінія – контроль (100 %): 1 – поглинання глюкози, 2 – продукування молочної кислоти, 3 – споживання кисню, 4 – утворення аденозинтрифосфату, 5 – вміст аденозинтрифосфату

Якщо взяти до уваги, що моноіодацетат є специфічним інгібітором цього ферменту [5, 8], то можна дійти висновку, що в основі порушень енергозабезпечення судинної стінки у тварин з алоксановим діабетом і моноіодацетатною інтоксикацією лежать схожі механізми, пов'язані з пригніченням гліколітичного розщеплення глюкози та подальшого її використання в реакціях клітинного дихання.

Зменшення інтенсивності гліколізу в судинах тварин з діабетом, крім безпосереднього впливу на їх енергопостачання, може мати й інші наслідки, які зумовлюють ушкодження клітин судинної стінки. Серед них – активація поліолового та гексозамінового шляхів деградації глюкози, що і визначають значну частину ефектів глюкотоксичності [9, 16]. Вивчення ролі цих шляхів у розвитку артерioskлерозу Менкеберга взагалі та при цукровому діабеті зокрема може пролити світло на патогенез зазначеного типу уражень.

## ВИСНОВКИ

1. Алоксановий діабет і моноіодацетатна інтоксикація у кролів супроводжуються істотним пригніченням енергозабезпечення як артеріальної, так і венозної стінки.

2. Однакова спрямованість і вираженість змін енергетичного обміну судин при обох моделях може бути частково зумовлена схожими механізмами ушкоджувальної дії.

3. Пригнічення енергозабезпечення артеріальної стінки слід розглядати як один з можливих механізмів розвитку діабетичних макроангіопатій, що виявляють себе артерioskлерозом Менкеберга.

**А.В.Атаман, Ю.А.Атаман**

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАРУШЕНИЙ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ СТЕНОК АРТЕРИЙ И ВЕН У КРОЛИКОВ С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ И МОНОИОДАЦЕТАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ**

В опытах на кроликах показаны нарушения энерго-

обеспечения стенок грудной аорты и задней полой вены через 2 нед от начала воспроизведения аллоксанового диабета и моноиодацетатной интоксикации, что проявляется снижением интенсивности поглощения глюкозы, потребления кислорода, образования молочной кислоты и ресинтеза аденозинтрифосфата (АТФ) в препаратах изученных сосудов. При этом существенно уменьшается содержание АТФ в тканях артерий и вен. Обсуждается возможное значение этих нарушений в развитии артериосклероза Менкеберга.

Ключевые слова: артерии, вены, аллоксановый диабет, моноиодацетат, артериосклероз Менкеберга.

**A.V.Ataman, Y.A.Ataman**

### **COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF ENERGY SUPPLY DISTURBANCES IN ARTERIAL AND VENOUS WALLS OF RABBITS WITH ALLOXAN DIABETES AND MONOIODACETATE INTOXICATION**

We showed here that energy metabolism in thoracic rabbit aorta and posterior vena cava is disturbed two weeks following the induction of alloxan-induced diabetes and monoiodacetate intoxication. In the vessels studied, the alterations are manifested in the decrease in the intensity of glucose uptake, oxygen consumption, lactic acid production, and ATP resynthesis. Simultaneously, the ATP content is significantly reduced. The possible significance of these disorders in the development of Monckeberg's arteriosclerosis is discussed. Key words: arteries, veins, alloxan diabetes, monoiodacetate, Monckeberg's arteriosclerosis.

*Sumy University of Ministry of Education and Science, Ukraine*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Атаман О.В. Венозна стінка: загальнотеоретичні й експериментальні аспекти.– Суми: Ангіо, 2001. – 248 с.
2. Быць Ю.В., Пишак В.П., Атаман А.В. Сравнительно-патолофизиологические аспекты энергообеспечения сосудистой стенки. – К. – Черновцы: Прут, 1999. – 330 с.
3. Воскобойников Г.В. Электрофоретическое разделение и расчет содержания кислоторастворимых нуклеотидов из тканей животных // Вопр. мед. химии. – 1970. – 16, №3. – С. 323–326.
4. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 141 с.
5. Лабори А. Регуляция обменных процессов. – М.: Медицина, 1970. – 438 с.
6. Тринус Ф.П. Методика одновременной регистрации сокращения и дыхания изолированной мускулатуры сосудов // Фармакология и токсикология. – 1963. – 26, №3. – С. 375–377.

7. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975. – 295 с.
8. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизм. – М.: Мир, 1966. – 654 с.
9. Buse M.G. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status // Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metabol. – 2006. – **290**. – P. E1–E8.
10. Chen N.X., Moe S.M. Arterial calcification in diabetes // Curr. Diab. Rep. – 2003. – **3**. – P. 28–32.
11. Dahlkvist H.H., Arnqvist H.J., Norrby K. Influence of diabetes on oxidation of exogenous substrates in rat aorta // Diabete Metabol. – 1981. – **7**. – P. 275–281.
12. Dische Z., Laszlo D. Über eine neue kolorimetrische Bestimmungsmethode der Milchsäure im Blute // Bioch. Zeitschrift. – 1927. – **187**. – S. 344–362.
13. Edmonds M.E. Medial arterial calcification and diabetes mellitus // Z. Kardiol. – 2000. – **89**. – P. 101–104.
14. Everhart J.E., Pettitt D.J., Knowler W.C., Rose F.A., Bennett P.H. Medial arterial calcification and its association with mortality and complications of diabetes // Diabetologia. – 1988. – **31**. – P. 16–23.
15. Fuchs U., Caffier P., Schulz H.G., Wieniecki P. Arterial calcification in diabetics // Virch. Arch. – 1985. – **407**. – P. 431–439.
16. Gleissner C.A., Galkina E., Nadler J.L., Ley K. Mechanisms by which diabetes increases cardiovascular disease // Drug Discov. Today Dis. Mech. – 2007. – **4**. – P. 131–140.
17. Morrison A.D., Clements R.S., Winegrad A.I. Effects of elevated glucose concentrations on the metabolism of the aortic wall // J. Clin. Invest. – 1972. – **51**. – P. 3114–3123.
18. Peterson J.W., Paul R.J. Aerobic glycolysis in vascular smooth muscle: relation to isometric tension // Biochim. and Biophys. Acta. – 1974. – **357**. – P. 167–176.
19. Rolo A.P., Palmeira C.M. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2006. – **212**. – P. 167–178.
20. Sato T.R., Thomson J.F., Dantorth W.F. Electrochromatographic separation of inorganic phosphate, adenosine monophosphate, adenosine diphosphate, adenosine triphosphate // Anal. Biochem. – 1963. – **5**. – P. 542–547.
21. Winegrad A.I., Yalcin S., Mulcahy P.D. Alterations in aortic metabolism in diabetes // On the nature and treatment of diabetes. – Amsterdam etc.: Excerpta medica foundation, 1965. – P. 452–462.
22. Yalcin S., Winegrad A.I. Defect in glucose metabolism in aortic tissue from alloxan diabetic rabbits // Amer. J. Physiol. – 1963. – **205**. – P. 1253–1259.

Сумск. ун-т М-ва освіти і науки України  
E-mail: ataman\_av@mail.ru

Матеріал надійшов до  
редакції 21.09.2010



В.В. Кальниш, А.В. Швець, О.І. Єщенко

## Зміни розумової працездатності операторів за умов добової трудової діяльності

*Розглянуто особливості впливу добових чергувань на психофізіологічні показники працездатності операторів. Показано, що у операторів-військовослужбовців розвиваються значні прояви втоми і виділено інформативні психофізіологічні характеристики, які можуть бути її надійними індикаторами. Запропоновано індивідуальні індикатори рівня втоми з урахуванням різних особливостей її розвитку. Сформульовано гіпотезу про наявність декількох компенсаторних механізмів підтримки працездатності при тривалому чергуванні операторів. Ключові слова: проста психомоторна реакція, складна психомоторна реакція, функціональна рухливість нервових процесів, працездатність.*

### ВСТУП

Особливістю сучасної операторської діяльності є різке збільшення обсягу інформації, більш жорсткий ліміт часу для виконання професійних завдань, змінний графік роботи та інші інформаційні фактори, що викликають посилення нервово-емоційної напруженості та знижують якість професійної діяльності. Існує ціла низка чинників, що шкідливо впливають на працездатність людини: низька рухова активність (гіподинамія), монотонність праці; тривала підтримка робочої пози, що напружує м'язи шиї, верхнього плечового пояса та поперекового відділу хребта; інформаційні стрес-фактори; втома оператора, яка знижує функції слухового та зорового аналізаторів тощо. Відомо, що у регуляторних процесах, які відбуваються в організмі людини, домінуюча роль належить центральній нервовій системі (ЦНС), тому при аналізі стану людини переважно слід оцінювати рівень її функціонування [18]. Для характеристики стану ЦНС, як правило, використовують психофізіологічні показники діяльності зорового та слухового аналізаторів, що характеризують перш за все ефективність роботи [16].

© В.В. Кальниш, А.В. Швець, О.І. Єщенко

Нині дослідниками багатьох держав значна увага приділяється вивченню впливу змінного виду трудової діяльності операторів. Так, на базі «Пункту управління в кризових ситуаціях Далекосхідного регіонального центру МНС Росії» були обстежені оператори в період чергування. У числі причин, що негативно впливали на виконання посадових обов'язків відмічено стомлення: слухового апарату (37,5 %), пальців рук (14,1 %), м'язів спини та шиї (17,4 %), очей (12,8 %); зниження уваги (10,2 %) і сонливість (8,0 %) [2]. Під час кожного добового чергування виявляли прогресуюче стомлення, яке відчували близько 90 % респондентів. При дослідженні працездатності операторів командно-вимірювальних комплексів російськими вченими також були встановлені негативні зміни психофізіологічних функцій. Так, збільшилася кількість помилок при виконанні тестів на дослідження швидкості розумових процесів, а стійкість і переключення уваги погіршилися через 24 год у 2,3–4,5 раза [17]. Крім того, встановлено, що в перші 12 год чергування напруження психофізіологічних функцій було адекватним до робочого навантаження, а поява ознак

сильної втоми та значне зниження працездатності припадали на наступні 12 год чергування [3]. Найбільш критичним періодом щодо виникнення помилкових дій (помилки було більше на 31–50 % від їх середньодобового рівня) вважається відрізок часу з 18.00 до 23.00 [4].

Європейськими вченими встановлені деякі порушення стану здоров'я, які були спричинені змінним видом професійної діяльності. Так, виявлено дисфункції з боку серцево-судинної системи (зокрема, кардіоваскулярні у 24,4 % випадків), якості сну та пильнування у 17,7, 13,3 % випадків спостерігалися метаболічні зміни [20, 21, 23]. Крім того, підвищувалася частота появи окремих форм злоякісних пухлин [19, 22].

Разом з тим досить мало досліджень присвячено вивченню стану вищих відділів ЦНС і працездатності операторів за умов впливу добових чергувань. Літературні дані свідчать, що немає жодного показника, який був би здатний адекватно характеризувати працездатність людини в усьому діапазоні доступних навантажень [20].

Отже, вивчення стану ЦНС за показниками психофізіологічних функцій і працездатності операторів при добовому режимі професійної діяльності і на цій основі розробка інформативних індикаторів втомі є актуальним напрямом досліджень у фізіології праці, що і було метою нашої роботи.

## МЕТОДИКА

Обстежені чоловіки оператори-радіотелеграфісти (40 осіб) віком від 18 до 23 років, які працювали безперервно протягом доби. Стан ЦНС досліджували в ранковий час (з 8.00 до 9.00) до заступання на добове чергування та безпосередньо після нього.

Психофізіологічні характеристики реєстрували за допомогою спеціального апаратно-програмного комплексу, що був розроблений у Харківському національному університеті радіоелектроніки [10, 11].

Методики оцінки психофізіологічних функцій було реалізовано з використанням захисних непрозорих окулярів, у які вмонтовані різнокольорові світлодіоди для забезпечення стандартного пред'явлення подразників і підтримки належної контрастності фону та стимулу, а для звукових стимулів використовували навушники. Програмне забезпечення розроблене з використанням Microsoft .NET Framework 3.5 мовою C++, що дає можливість при необхідності трансформувати його в інші операційні системи (наприклад, Linux тощо) і може використовуватися на IBM-сумісних комп'ютерах з операційними системами Windows 2000/XP/Vista/7.

Стан вищих відділів ЦНС визначали за показниками функціональної рухливості (ФРНП) і сили нервових процесів при дії зорових і слухових сигналів, а також латентних періодів (ЛП) психомоторних реакцій: простих (зоровомоторної на червоний подразник – ЛП ПЗМР; слухомоторної на надпороговий подразник з частотою 1000 Гц – ЛП ПСМР) і складних (складної зоровомоторної на сигнали червоного та зеленого кольору – ЛП СЗМР; складної слухомоторної на надпорогові сигнали з частотою 200 та 1000 Гц – ЛП ССМР). За цими показниками було обчислено різницю між простою та складною психомоторними реакціями, яка відображає час вибору [8].

Лабільність нервових процесів визначали за показниками критичної частоти світлових миготінь червоного ( $K_{ЧСМ}_{чс}$ ) і зеленого ( $K_{ЧСМ}_{зс}$ ) кольорів. Проявом цієї властивості вважається максимальна частота, при якій обстежуваний фіксує момент зникнення або появи світлових миготінь [13, 14]. Вважається, чим більшу частоту подразнення здатні відтворити ті чи інші нервові структури при здійсненні свого реагування, тим вища лабільність нервових процесів, яку виражають у герцах. Для визначення ступеня втоми за показниками КЧСМ було розраховано показник кольорової асиметрії ( $K_{ч/з}$ ) [7] за формулою:

$$K_{\psi/3} = \frac{KЧСМ_{\psi c} - KЧСМ_{\psi c}}{KЧСМ_{\psi c} + KЧСМ_{\psi c}}$$

Діагностування ФРНП здійснено за модифікованою нами методикою Макаренка [14]. За показник ФРНП приймали гранично коротку експозицію, при якій обстежуваний правильно диференціював позитивні та гальмівні подразники: зорові – червоний, зелений та синій – (гальмівний подразник) кольори; звукові – звук з частотою 4000, 1000 та 200 Гц (гальмівний подразник). Крім того, враховували загальний час і результативність виконання завдання ( $R$ ), яку обраховували за формулою Корогодіна [9], що розроблена для оцінки ступеня цінності інформації відносно рівномірних відповідей:

$$R = \frac{0,5 - P}{1 - P},$$

де  $P$  – імовірність помилкової дії.

Для оцінок інших показників за тестуванням кожного респондента також обчислена функція, яка адекватно ( $P < 0,001$ ) описує криву зміни експозицій подразників у часі ( $t$ ) при роботі в режимі зі зворотним зв'язком:  $y = a + b \times e^{(-c \times t)}$ , де « $a$ » інтерпретували як силу нервових процесів, « $c$ » – як їх динамічність [15], « $b$ » – інерційність чи стійкість досліджуваних процесів [1]. Останній показник є важливим для вивчення фізіологічних процесів. Так, з літературних джерел відомо, що у живих об'єктів, з одного боку, спостерігається прагнення працюючої системи повернутися до оптимальних умов функціонування, а з іншого – важкість, з якою система виводиться збуджувальними подразниками з оптимального стану. Все це дає підґрунтя для висновку, що жива система має властивість – інерційність (стійкість), наявність якої пояснюється існуванням своєрідного резонансу між власною та зовнішньою частотами збудження цієї системи [5, 12].

Аналіз результатів проводили за допомогою методів варіаційної та непараметричної (критерій Манна–Уїтні) статис-

тики, кластерного аналізу та побудови нелінійних регресійних рівнянь з використанням пакета програм Statistica 8.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень були отримані показники психофізіологічних якостей операторів, які характеризують функціонування ЦНС до та після добового чергування (табл. 1, 2).

З табл. 1 видно, що після добового чергування значно погіршилося функціонування ЦНС за показниками зорового аналізатора. Крім того, суттєво збільшився час виконання завдання з переробки сигналів. Слід зазначити, що ЛП ПЗМР та ЛП СЗМР майже не змінилися, проте час переробки інформації в певних ланках ЦНС збільшився. Істотної зміни зазнала КЧСМ: за червоним спектром світла її значення погіршилися суттєвіше порівняно з зеленим. Цікавим, на нашу думку, є динаміка  $K_{\psi/3}$ . Його зміни значніші від таких  $KЧСМ_{\psi c}$ , і тому він може бути застосований як індикатор втоми.

Аналогічні зміни спостерігаються і в слухових психомоторних реакціях операторів до та після чергування (див. табл. 2). Тут також можна відмітити негативну динаміку показників ФРНП, сили та інерційності нервових процесів, результативності діяльності та часу виконання завдання. Крім того, погіршується ЛП ССМР. Наявність достовірних зрушень у слуховому та зоровому аналізаторах, імовірно, свідчить про існування тотальних змін функцій організму – розвитку вираженої втоми.

Достовірні значення асиметрії та ексцесу деяких характеристик психомоторних реакцій може указувати на наявність серед обстежених різних змін у стані ЦНС до та після добового чергування. Тому для окремого поглибленого аналізу було виділено дві однорідні за своїми психофізіологічними показниками підгрупи з різними проявами зрушень працездатності – I

Таблиця 1. Психофізіологічні характеристики операторів за зоровим аналізатором, (M±m)

Показники	До початку добового чергування	Після добового чергування
Латентний період, мс		
Простої зоровомоторної реакції	210,26±4,44	211,21±5,71
Складної зоровомоторної реакції	348,86±10,03	354,71±10,59
Час вибору, мс	139,74±8,84**	176,34±8,41
Функціональна рухливість нервових процесів, мс	176,08±3,99***	218,75±7,68***
Час роботи, с	63,18±1,69***##	75,88±4,16***
Результативність, у.о.	0,13±0,001***	0,11±0,01
Сила нервових процесів, мс	227,12±7,95***	289,10±11,29
Інерційність нервових процесів, у.о.	940,01±18,76**	866,78±17,13
Динамічність нервових процесів, у.о.	0,10±0,01	0,12±0,01
Критична частота світлових мерехтінь, Гц		
Червоного світла	56,26±0,84*	54,30±0,46
Зеленого світла	54,93±0,59	54,88±0,54
Показник кольорової асиметрії ( $K_{\text{ч/з}}$ ), у.о.	0,018±0,006**	-0,006±0,005

Примітка. Тут і в табл. 2: \*\*, \*\*\* – вірогідність позитивної асиметрії (As) та ##, ### ексцесу (Ex) за критерієм t Стьюдента відповідно на рівні (P<0,01 і P<0,001); \*, \*\*, \*\*\* – вірогідність різниці середніх значень до та після чергування за критерієм t Стьюдента відповідно на рівні (P<0,05, P<0,01, P<0,001).

підгрупа становила 55 % обстежених, II – 45 %. Це було зроблено за допомогою кластерного аналізу (критерієм кластеризації обрано показник кореляції між нормованими різницями ФРНП, сили нервових процесів та часу вибору до та після добового чергування).

З табл. 3 видно, що особи I підгрупи мають істотні відмінності психофізіологічних показників після добового чер-

гування, а саме: ФРНП, інерційність, сила нервових процесів, час виконання та результативність роботи. Суттєвих змін зазнав лише показник КЧСМ<sub>чс</sub>, а також достовірно знизився рівень  $K_{\text{ч/з}}$ . Разом з тим у операторів II підгрупи відмічається істотна зміна інших показників: часу вибору, ЛП СЗМР, динамічності нервових процесів, а також  $K_{\text{ч/з}}$ , який змінює свій знак порівняно з I підгрупою (її значення достовірно

Таблиця 2. Психомоторні реакції операторів за слуховим аналізатором, (M±m)

Показники	До початку добового чергування	Після добового чергування
Латентний період, мс		
Простої слухомоторної реакції	191,11±5,51	178,37±5,20
Складної слухомоторної реакції	330,39±8,17*	362,26±10,91
Час вибору, мс	142,18±6,61***	182,60±8,90
Функціональна рухливість нервових процесів, мс	195,03±7,40***	239,19±9,67
Час роботи, с	73,83±2,54*	91,36±6,39
Результативність, у.о.	0,08±0,01*	0,05±0,01###
Сила нервових процесів, мс	246,56±11,70**	314,40±16,99###
Інерційність нервових процесів, у.о.	928,76±21,21*	847,32±31,82
Динамічність нервових процесів, у.о.	0,08±0,01	0,08±0,01

Таблиця 3. Психофізіологічні характеристики за зоровим аналізатором у різних підгруп операторів,  $M \pm m$ 

Показники	До початку добового чергування		Після добового чергування	
	Підгрупа I	Підгрупа II	Підгрупа I	Підгрупа II
Латентний період, мс				
Простої зоровомоторної реакції	208,82±6,81	219,50±9,58	203,27±8,45	204,30±7,93
Складної зоровомоторної реакції	366,91±14,86	331,50±15,76*	343,91±14,49	370,60±13,94#
Час вибору, мс	158,09±14,18#	112,00±14,52**	160,18±15,20	190,40±12,57#
Функціональна рухливість нервових процесів, мс	178,27±4,05*	180,10±8,52	223,73±15,03	204,40±8,32#
Час роботи, с	59,96±1,46*	66,08±2,58#	71,04±3,65	68,15±3,24
Результативність, у.о.	0,13±0,01*	0,12±0,01	0,10±0,01	0,10±0,01
Сила нервових процесів, мс	225,07±6,93**	245,39±8,84#	293,88±20,60	275,47±15,99
Інерційність нервових процесів, у.о.	977,19±15,97**	940,27±35,71	869,06±27,54	880,61±31,05
Динамічність нервових процесів, у.о.	0,12±0,01	0,11±0,01**	0,11±0,01	0,14±0,01##
Критична частота світлових мерехтінгів, Гц				
Червоного світла	60,75±0,89***	56,77±0,61	52,87±0,78	53,03±1,27
Зеленого світла	54,94±0,65	56,45±0,74	52,82±0,90	52,44±0,88
Показник кольорової асиметрії ( $K_{ч/з}$ ), у.о.	0,033±0,010***	-0,013±0,006*###	0,0003±0,001	0,004±0,004

Примітка. Тут і в табл. 4: \*, \*\*, \*\*\* – вірогідність різниці вибірок в окремих підгрупах до та після чергування за критерієм Мана–Уїтні відповідно на рівні ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ ); #, ##, ### – вірогідність різниці вибірок між підгрупами до та після чергування за критерієм Мана–Уїтні відповідно на рівні ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ ).

змінилося з від'ємного на додатне).

Таким чином, в обох підгрупах спостерігаються протилежні зрушення рівня працездатності. Це можна пояснити різними механізмами розвитку втоми у представників I та II підгруп. До роботи у осіб I підгрупи – суттєво вищі значення часу вибору, що може бути ознакою такого стартового погіршення механізмів центральної переробки інформації, яке навіть після добового навантаження не може суттєво змінитися. З іншого боку,  $K_{ч/з}$  до роботи мав найвищі значення, тобто функціональний стан операторів I підгрупи був дуже сприятливим. Після добового чергування він значно знизився, що свідчить про розвиток втоми. У II підгрупі вихідне значення цього показника було від'ємне, тобто він ідентифікував наявність втоми перед початком роботи. Після добо-

вого чергування погіршення функціонального стану, мабуть, не могло відбутися через дуже низьке стартове значення. Компенсаторні механізми функціонування організму в цьому разі, ймовірно, працювали на стабілізацію його стану, про що свідчить стала інерційність нервових процесів.

Дещо інші зміни відбуваються у функціонуванні слухового аналізатора (табл. 4). Для нього характерним є наявність у обстежених I підгрупи меншої кількості достовірних різниць психофізіологічних показників порівняно із зоровомоторними. У II підгрупі теж відбулися певні зміни: суттєво погіршилися час вибору, ФРНП, сила, інерційність і динамічність нервових процесів, час роботи.

Для поглибленого аналізу індивідуальних змін психофізіологічних показників до та після добового чергування застосовано

Таблиця 4. Психомоторні реакції у різних підгруп операторів за слуховим аналізатором, М±m

Показники	До початку добового чергування		Після добового чергування	
	підгрупа I	підгрупа II	підгрупа I	Підгрупа II
Латентний період, мс				
Простої слухомоторної реакції	196,00±9,13	193,80±11,20	183,73±7,87	180,20±11,01
складної слухомоторної реакції	343,45±9,92	331,30±12,06	349,64±17,51	364,60±15,99
Час вибору, мс	147,45±10,04	137,50±13,19*	165,91±14,78	184,40±11,92
Функціональна рухливість нервових процесів, мс	189,00±14,07*	181,60±14,78**	243,73±17,26	242,50±16,07
Час роботи, с	71,09±4,30	73,60±5,45**	79,80±5,73 <sup>#</sup>	98,97±12,40
Результативність, у.о.	0,09±0,01*	0,09±0,02	0,06±0,01	0,05±0,02
Сила нервових процесів, мс	222,65±22,54*	259,44±16,70**	302,51±21,02	308,87±20,18
Інерційність нервових процесів, у.о.	907,47±38,21	939,62±35,75*	846,69±30,18	837,82±32,24
Динамічність нервових процесів, у.о.	0,08±0,01	0,10±0,01**	0,09±0,01 <sup>#</sup>	0,07±0,01

нормування їх зрушень. У зв'язку з тим, що абсолютні значення цих змін за окремими показниками відрізняються до 10000 разів, для їх представлення на одній пелюстковій діаграмі за віссю значень відкладається відношення різниці зареєстрованих показників (за шкалою «краще – гірше») до їхньої суми для кожної підгрупи осіб у відсотках:

$$\Delta x = \frac{\delta x_{кр} - \delta x_{гир}}{\delta x_{кр} + \delta x_{гир}} \times 100\%$$

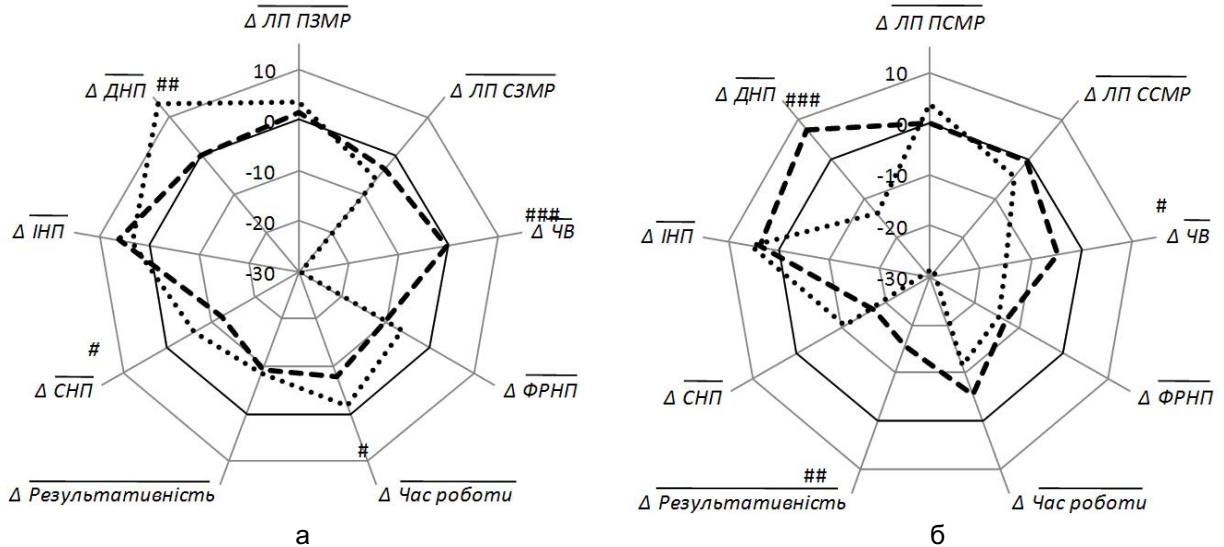
де  $\Delta x$  – індивідуальний показник зрушення психофізіологічної функції протягом добового чергування;  $\delta x_{кр}$  – значення різниці показників до та після або після та до чергування, що характеризує кращий функціональний стан оператора;  $\delta x_{гир}$  – значення різниці показників до та після або після та до чергування, що характеризує гірший функціональний стан оператора. Це було зроблено для отримання односпрямованої шкали оцінки втоми за окремим показником (позитивні значення – покращення функціонального стану; негативні значення – погіршення).

З рисунка видно, що зміни психофізіологічних показників обстежених мають такі особливості. По-перше, порівнюючи результати I та II підгруп за різними аналізаторами, можна заключити, що достовірні зрушення окремих психофізіологічних

функцій є протилежними за динамічністю нервових процесів; а за такими характеристиками, як час роботи, сила нервових процесів (зоровий) та результативність (слуховий) не збігаються. По-друге, характеристика часу вибору має однаково достовірну спрямованість зрушень як за зоровим, так і за слуховим аналізаторами.

В теоретичному плані можна констатувати, що механізми підтримки працездатності на належному рівні є неоднаковими для різних операторів. Потрібні ще ретельні дослідження для уточнення цих механізмів взаємної компенсації психофізіологічних функцій при розвитку значної втоми. В практичному плані виділені інформативні психофізіологічні функції дають змогу оцінювати індивідуальну схильність до прояву того чи іншого механізму компенсації при розвитку втоми.

Особливості розвитку втоми у операторів добре описані в літературі [5, 6, 16, 17, 20]. Проте невідпрацьованим залишилося питання про різні компенсаторні можливості організму в умовах довготривалої напруженої операторської діяльності. Виявлені нами особливості трансформації різних психофізіологічних характеристик, що торкаються саме основ діяльності ЦНС (функціональна рухливість, сила, динаміч-



Зміни психофізіологічних характеристик операторів до та після добового чергування, %. а – психофізіологічні показники, отримані за функціонуванням зорового аналізатора; б – за функціонуванням слухового аналізатора.  $\Delta\bar{x}$  – середньогрупове значення кожного показника: ДНП – динамічність нервових процесів, ІНП – інерційність нервових процесів, СНП – сила нервових процесів, ФРНП – функціональна рухливість нервових процесів, ЧВ – час вибору, ЛП ПЗМР – латентний період простої зоровомоторної реакції, ЛП СЗМР – латентний період складної зоровомоторної реакції, ЛП ПСМР – латентний період простої слухомоторної реакції, ЛП ССМР – латентний період складної слухомоторної реакції

ність, лабільність та інерційність нервових процесів), свідчать про генералізований негативний вплив на організм тривалої напруженої роботи. Застосована в цьому дослідженні модель розвитку втоми дає можливість більш повно зрозуміти її механізми завдяки великій однорідності обстежуваних (військовослужбовці – чоловіки, що мають єдиний режим проживання, харчування, проходження служби, невелику різницю у віці). Тому отримана навіть у цих умовах неоднорідність розвитку втоми за різними психофізіологічними показниками може свідчити про об'єктивне існування декількох компенсаторних механізмів підтримання працездатності на належному для виконання своїх службових обов'язків рівні.

## ВИСНОВКИ

1. Показано, що під час безперервного добового чергування у операторів-військовослужбовців розвивається значна втома ЦНС, яка може бути ідентифікована за показни-

ками функціональної рухливості, сили, лабільності та інерційності нервових процесів, а також часу вибору, які, слід гадати, можуть бути високовірогідними індикаторами її рівня.

2. Запропоновані індивідуальні психофізіологічні індикатори рівня втоми (час вибору та динамічність нервових процесів), що враховують наявність різних механізмів її розвитку у операторів.

3. Сформульована гіпотеза про наявність декількох компенсаторних механізмів підтримки працездатності при довготривалому чергуванні операторів, які проявляються в превалюванні негативних зрушень у слуховому аналізаторі в одній підгрупі та превалюванні зорових – у іншій.

**В.В. Кальниш, А.В. Швець, А.И. Єщенко**

## ИЗМЕНЕНИЯ УМСТВЕННОЙ РАБОСПОСОБНОСТИ ОПЕРАТОРОВ ПРИ СУТОЧНОЙ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Рассмотрены особенности влияния суточных дежурств на психофизиологические показатели работоспособности

операторов. Показано, что у операторов-военнослужащих развиваются значительные проявления утомления. Выделены информативные психофизиологические характеристики, которые могут служить надежными индикаторами уровня утомления. Предложены индивидуальные индикаторы с учетом разных механизмов его развития. Сформулирована гипотеза о наличии нескольких компенсаторных механизмов поддержания работоспособности при длительном дежурстве операторов. Ключевые слова: простая психомоторная реакция, сложная психомоторная реакция, функциональная подвижность нервных процессов, работоспособность.

**V. Kalnysh, A. Shvets, A. Yeschenko**

### THE CHANGES IN MENTAL WORKING CAPACITY OF OPERATORS AT 24-HOUR SHIFT WORK CONDITIONS

Psychophysiological peculiarities of influence of a 24-hour shift work on the efficiency of operators have been discussed. It was shown that servicemen operators develop significant fatigue as a result of 24 hrs duty services. The informative psychophysiological characteristics which can be reliable indicators of fatigue level are highlighted. Individual psychophysiological indicators of fatigue level, according to different mechanisms of its development, have been proposed. The hypothesis about the existence of several compensatory mechanisms for maintenance of long duty operators' working capacity has been formulated.

Key words: Simple psychomotor reaction, compounded psychomotor reaction, functional mobility of nervous processes, working capacity.

*Research Institute of Military Medicine Problems of Military Forces of Ukraine, Irpin.*

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов Ю.Г. Моделирование биологических систем. Справочник. – К.: Наук. думка, 1977. – 260 с.
2. Бармина О.С. Особенности профессионально-прикладной физической подготовки операторов мобильных комплексов связи // Уч. записки. – 2009. – 52, № 6. – С. 13–16.
3. Белевитин А.Б., Цыган В.Н., Благинин А.А., Котов О.В., Таяновский В.Ю. Направления совершенствования психофизиологического обеспечения профессиональной деятельности специалистов управления космическими аппаратами // Воен. - мед. журн. – 2010. – №4. – С. 4–6.
4. Благинин А.А. Надежность профессиональной деятельности операторов сложных эргатических систем. – СПб.: Изд-во Ленинград. ун-та им. А.С. Пушкина, 2006. – 144 с.
5. Виноградов М.И. Физиология трудовых процессов. – М.: Медицина, 1966. – 368 с.

6. Ильин Е.П. Психофизиология состояний человека. – СПб.: Питер, 2005. – 412 с.
7. Ким Су Ин, Башкин В.М., Павлова Л.П. Способ оценки функционального состояния коры головного мозга человека / Пат. Рос. Федерации, Донецк. НИИ гигиены труда и профзаболеваний, RU2141244, SU1066533 A/6 A61 B3/06. – 20.11.99, бюл. №32.
8. Коробейникова И.И. Параметры сенсомоторных реакций, психофизиологические характеристики, успеваемость и показатели ЭЭГ человека // Психол. журн. – 2000. – 21, № 3. – С. 132–136.
9. Корогодина В.И. Информация и феномен информации. – Пушкино: Изд-во АН СССР, 1991. – С. 22–24.
10. Кочина М.Л., Фирсов А.Г. Информационная технология оценки временных и частотных показателей организма человека // Системы обработки информации. – 2010. – 83, №2. – С. 243–247.
11. Кочина М.Л., Фирсов А.Г. Многофункциональный прибор для проведения психофизиологических исследований // Прикл. радиоэлектроника. – 2010. – 9, № 2. – С.260–265.
12. Латманнизова Л.В. Очерк физиологии возбуждения. – М.: Высш. школа, 1972. – 272 с.
13. Макаренко М. В. Швидкість переробки інформації – як критерій властивості функціональної рухливості нервових процесів // Вісн. Нац. академії оборони України. – 2009. – 10, №2. – С. 94–101.
14. Макаренко М.В. Основи професійного відбору військових спеціалістів та методику вивчення індивідуальних психофізіологічних відмінностей між людьми. – К.: Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; Наук.- дослід. центр гуманітар. проблем Збройних Сил України, 2006. – 395 с.
15. Макаренко Н.В., Кальниш В.В., Сытник Н.И. Способ профотбора операторов / А.с. № 1607777 СССР. Заяв. 04.07.88. № 4454516, опубл. в Б.И., 1990. – № 43. – МКИ А 61 В 5/16.
16. Маслов Н.Б., Блошинский И.А., Максименко В.Н. Нейрофизиологическая картина генеза утомления, хронического утомления и переутомления человека-оператора // Физиология человека. – 2003. – 29, № 5. – С. 123–133.
17. Новиков В.С., Лустин С.И., Благинин А.А., Козлов В.П. Изменение работоспособности операторов командно-измерительных комплексов в процессе суточного дежурства // Воен. - мед. журн. – 1997. – №6. – С. 55–59.
18. Полевщиков М.М., Роженцов В.В., Шабрукова Н.П., Палагин Ю.С. Тестирование спортсменов для определения уровня физической работоспособности на основе психофизиологических параметров // Физ. воспитание студентов. – 2010. – № 3. – С. 69–71.
19. Akerstedt T., Wright K.P. Sleep Loss and fatigue in shift work and shift work disorder // Sleep Med. Clin. – 2009. – 4, №2. – P. 257–271.
20. Ekstedt M., Suderström M., Akerstedt T., Nilsson J., Sundebergard H.P., Aleksander P. Disturbed sleep and



- fatigue in occupational burnout // Scand. J. Work Environ Health. – 2006. – **32**, №2. – P.121–131.
21. Gemelli K.K., Hilleshein E.F., Lautert L. The effect of shift work on the health of workers: a systematic review // Rev Gaucha Enferm. – 2008. – **29**, №4. – P. 639–646.
22. Knutsson A. Health disorders of shift workers // Occup. Med. – 2003. – **53**, №2. – P.103–108.
23. Kaida K., Akerstedt T., Kecklund G., Nilsson Jens P., Axelsson J. Use of subjective and physiological indicators of sleepiness to predict performance during a vigilance task // Ind. Health. – 2007. – **45**, №4. – P. 520–526.

*Наук.-досл. ін-т проблем військ. медицини ЗС  
України, Київ. обл., Ірпінь  
E-mail: kalnysh@mail.ru*

*Матеріал надійшов до  
редакції 14.10.2010*

Л.С. Язловицька, М.Р. Хара, Л.Г. Паламар

## Вікові особливості функціонального стану серцево-судинної системи дітей із церебральним паралічем

*Досліджені вікові особливості функціонального стану серцево-судинної системи (ССС) дітей віком від 7 до 9 років з діагнозом дитячий церебральний параліч (ДЦП) з помірно вираженими функціональними порушеннями. Встановлена статистично значуща вікова різниця за багатьма показниками центрального кровообігу. Виявлені вікові особливості гемодинамічної реакції дітей з ДЦП у відповідь на дозоване фізичне навантаження. Встановлено, що за значенням адаптаційного потенціалу, розрахованого методом порівняльного аналізу амплітудної та варіаційної пульсометрії, серед хворих дітей зустрічається 38 % з високим, а 50 % – з низьким рівнем адаптаційних можливостей ССС.*

*Ключові слова: дитячий церебральний параліч, серцево-судинна система, адаптаційний потенціал.*

### ВСТУП

Дитячий церебральний параліч (ДЦП) – займає провідне місце в структурі захворювань нервової системи [14]. При цьому захворюванні рухові розлади супроводжуються порушеннями функцій низки сенсорних систем (зору, вестибулярного апарату, слуху тощо), патологією дихальної, ендокринної та серцево-судинної систем (ССС) [1, 3, 5, 6, 8, 13]. Реабілітація дітей із церебральним паралічем полягає у створенні їм сприятливих умов для фізичного і соціального розвитку. При ДЦП широко використовують фізіотерапевтичні методи лікування поряд із лікувальною фізкультурою, рефлексотерапією тощо [7]. Найбільш об'єктивним та адекватним методом діагностики адаптаційних можливостей дитячого організму, з огляду на незавершеність морфофункціонального розвитку дітей, є адаптаційний потенціал (АП) ССС, який дає змогу оцінити ефективність роботи серця [2, 9]. АП ССС характеризує

© Л.С. Язловицька, М.Р. Хара, Л.Г. Паламар

діапазон можливих змін функціональної активності фізіологічних систем за рахунок резервів регуляторних механізмів під час впливу чинників зовнішнього середовища. Знання особливостей функціонування, вікової динаміки та резервів адаптації ССС дітей, хворих на церебральний параліч, за дії нормованого фізичного навантаження необхідні для розробки науково обґрунтованої системи фізичної підготовки.

Мета нашого дослідження – вивчення особливостей функціонального стану та аналіз рівня пристосувальних можливостей ССС за значенням АП у дітей від 7 до 9 років із діагнозом ДЦП.

### МЕТОДИКА

У дослідженні взяли участь діти віком від 7 до 9 років, серед яких було 75 здорових, що навчалися в гімназії і за рівнем здоров'я відносилися до основної медичної групи, та 45 із діагнозом ДЦП з помірно вираженими функціональними порушеннями, які перебу-

вали на реабілітаційному курсі в неврологічному відділенні Чернівецького обласного медико-соціального центру реабілітації дітей з органічним ураженням нервової системи. Обстежено дітей з різними формами ДЦП, а саме: зі спастичною диплегією – 26; з право- і лівобічним геміпарезом – 5 і 4 відповідно; зі спастичним тетрапарезом – 3; зі змішаною формою – 4; із подвійною геміплегією – 2; з атонічно-астатичною формою – 1. Для встановлення діагнозу ДЦП використовували міжнародну клінічну класифікацію [12].

Реєстрували показники серцевої діяльності в умовах оперативного спокою (у положенні сидячи) та протягом перших 15 с після дозованого навантаження (20 присідань за 30 с): частоту пульсу (ЧП), артеріальний тиск (АТ) за методом Короткова. Розраховували хроноінотропний показник (ХІП); ударний об'єм крові (УОК) за модифікованою формулою Старра; хвилинний об'єм крові (ХОК). Електричну активність серця досліджували за показниками ЕКГ, яку записували у II стандартному відведенні за допомогою електрокардіографа "ЮКАРД-200" (Україна) у стані спокою протягом 5 хв. Проаналізовано ЕКГ 9 (56 %) хлопців і 7 дівчат (44 %) із різними формами ДЦП і 6 здорових хлопців і 6 дівчат. АП системи кровообігу досліджували математичним аналізом визначеної вибірки амплітуди комплексів QRS (100 комплексів) та кардіоінтервалів R-R (100 комплексів) за формулою Малікова [9]. Проведено якісний

аналіз значень АП (табл. 1).

Нормальний (гаусівський) розподіл вибірки визначали за допомогою критерію Шапіро–Уїлкі. Для порівняння непараметричних результатів двох залежних вибірок був застосований критерій Вілкоксона, а двох незалежних – критерій Мана–Уїтні, при порівнянні параметричних результатів – критерій t Стьюдента, для порівняння відсоткових значень використовували кутове перетворення Фішера. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним  $P < 0,05$  [11]. Опис вибіркового розподілу досліджуваних показників проводили на основі значень медіани (Me), нижнього (25 %) і верхнього (75 %) квантилів для розподілу, який не відповідав нормальному, та на основі середнього (M), середньоквадратичного відхилення (s) для розподілу, що відповідав гаусівському.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вивчення хронотропної функції серця в стані відносного спокою показало, що діти з ДЦП порівняно зі здоровими ровесниками мають вищу ЧП у всіх вікових категоріях (табл. 2). Зокрема, значення досліджуваного показника у 7-річних дітей із обмеженими можливостями здоров'я на 22 % більше, ніж у здорових однолітків, у 8-річних – на 15 %, а у 9-річних – на 21 %. Із віком ЧП у здорових дітей не змінювалась, а у хворих 7- та 8-річних – зменшувалася

Таблиця 1. Шкала оцінок адаптаційного потенціалу за результатами Малікова [9, 10] з нашою модифікацією

Рівні адаптивних можливостей	Значення адаптаційного потенціалу, ум. од.					
	7 років		8 років		9 років	
	хлопці	дівчата	хлопці	дівчата	хлопці	дівчата
Низький	до 0,930	До 0,940	до 0,830	до 0,790	до 0,740	до 0,700
Нижче від середнього	0,930-0,965	0,940-0,975	0,830-0,865	0,790-0,820	0,740-0,765	0,700-0,730
Середній	0,966-1,035	0,976-1,045	0,866-0,935	0,821-0,880	0,766-0,815	0,731-0,790
Вище від середнього	1,036-1,070	1,046-1,080	0,936-0,970	0,881-0,910	0,865-0,840	0,791-0,820
Високий	понад 1,070	понад 1,080	понад 0,970	понад 0,910	понад 0,840	понад 0,820

**Таблиця 2. Оцінка функціонального стану серцево-судинної системи дітей здорових та із дитячим церебральним паралічем віком від 7 до 9 років (M±s; Me [25%;75%])**

Показники	7 років		8 років		9 років		Всі діти	
	Хворі (n=17)	Здорові (n=24)	Хворі (n=16)	Здорові (n=20)	Хворі (n=12)	Здорові (n=31)	Хворі (n=45)	Здорові (n=75)
Частота пульсу, хв <sup>-1</sup>								
до навантаження	96±4,1****	75±11,3**	88±6,4***	75±7,0**	91±5,8	72±8,8**	92±6,4	74±9,2**
			86[85;92]		92[88;95]		93[88;96]	
після навантаження	109±7,3*	88±11,9	100*	88±9,2***	105*	86±9,6***	106*	87±10,2
	110[100;115]	***	[99;111]	87[82;95]	[100;113]		[100;115]	***
Систолічний тиск, мм рт.ст								
до навантаження	100	90****	110***	100±9,0****	105±11,6	100	110	100**
	[100;110]	[90;100]	[110;117]	100[95;103]	110[95;110]	[100;110]	[100;110]	[90;105]
після навантаження	120*	100****	120***	108±10,2****	120*	110*	120*	110*
	[120;120]	[95;110]	[120;128]	110[100;110]	[110;125]	[100;120]	[120;123]	[100;115]
Діастолічний тиск, мм рт.ст								
до навантаження	70	60****	70	70***	70	70	70	70**
	[70;70]	[60;70]	[70;80]	[60;70]	[65;80]	[60;80]	[70;70]	[60;70]
після навантаження	80[80;80]*	70[70;80]	80[80;85]*	80[73;80]	80[80;85]*	75[70;80]***	80*	70*
		***		****			[80;85]	[60;70]
Ударний об'єм крові, мл								
до навантаження	40,4****	41,2****	41,5±4,79	40,4±7,24	41,5±5,85	46,8****	40,4±4,69	41,7±5,93
	[35,4;40,4]	[35,4;41,4]	43,6[37,6;44,1]	38,6[38,6;44,6]	41,3[35,8;46,8]	[40,8;47,8]		41,4[38,6;46,8]
після навантаження	34,4*	35,4****	37,1±6,13*	34,6±5,01****	36,3±5,02*	40,2±4,07***	36,0±5,30*	37,6*
	[33,9;34,4]	[29,4;38,4]	37,6[33,4;38,9]	33,1[32,6;37,6]		41,3[37,8;43,3]	34,9[32,5;40,3]	[32,6;41,3]
Хвилиний об'єм крові, л/хв								
до навантаження	3,7±0,36	2,9±0,57**	3,7±0,50	3,0±0,65**	3,8±0,60	3,2±0,56	3,7±0,48	3,1±0,59**
	3,7[3,4;4,0]							
після навантаження	3,8	3,0±0,70****	3,8±0,72	3,1±0,60**	3,9±0,53	3,4±0,49	3,8±0,60	3,2±0,63**
	[3,4;4,0]	2,9[2,4;3,6]	3,8[3,3;4,2]			*****		
Хроноінотропний показник, ум.од.	101±10,3	70±11,7**	98±11,1	75±9,8**	95±11,8	76±12,4**	98±10,9	74±11,7**

\* різниця значуща при P<0,05 при порівнянні показників: до та після фізичного навантаження; \*\* у хворих та здорових дітей одного віку; \*\*\* у дітей 7 та 8 років; \*\*\*\* у дітей 7 та 9 років; \*\*\*\*\* у дітей 8 та 9 років.

на 9 %. Отже, у дітей із церебральним паралічем відмічено тенденцію до вікового зниження ЧП, яку можна пояснити підсиленням вагусного впливу на серцеву діяльність.

У результаті проведених досліджень встановлено, що значення АТ як систолічного (САТ), так і діастолічного (ДАТ) у хворих дітей вище, ніж у здорових (див. табл. 2). Збільшення абсолютних значень САТ і ДАТ спостерігалось у 7-річних дітей із обмеженими можливостями здоров'я на відміну від їх здорових однолітків. Для хворих дітей віком 8 років характерне зростання лише САТ відносно значень у їх здорових ровесників. Між хворими та здоровими 9-річними дітьми статистично значущих відмінностей за цими показниками не виявлено. Аналіз вікових змін САТ свідчить про його підвищення від 7 до 8 років у дітей (хворих і здорових). Надалі достовірних відмінностей із попереднім роком за САТ не встановлено. Отримані нами результати щодо вікових змін САТ не суперечать даним літератури, які показують, що в здорових дітей рівень АТ суттєво зростає у 8-річному віці (на 7,2 %), а наступне його підвищення зафіксовано в 10 років [15].

Аналіз внутрішньогрупового розподілу дітей за значенням АТ за центильними номограмами показав, що серед 7- та 8-річних дітей із ДЦП переважає кількість гіпертоніків, тоді як у здорових дітей цього віку більшість гіпотоніків. Кількість нормотоніків серед хворих і здорових достовірно не відрізнялась і становила близько 40, 50 та 60 % у 7-, 8- та 9-річних дітей відповідно. Зокрема, у 47 % 7-річних дітей з ДЦП САТ був вищим: 108 та 105 мм рт. ст. для хлопчиків і дівчат відповідно, тоді як серед здорових дітей тільки у 4 % спостерігались явища гіпертонії. Водночас у 12 % дітей із обмеженими можливостями здоров'я та у 58 % здорових однолітків значення цього показника були нижчими (92

мм рт. ст.), що притаманно гіпотонікам. У 93 % дітей ДАТ знаходився в межах норми (60–72 мм рт. ст.). У віці 8 років частка хворих дітей із САТ вищим ніж 110 мм рт. ст. становила 56 %, тоді як серед здорових однолітків – 10 %. До гіпотоніків можна віднести 6 % дітей із ДЦП та 25 % здорових, оскільки значення САТ у них було нижчим від норми (94 та 96 мм рт. ст. для хлопців і дівчат відповідно). За ДАТ статистично значущих відхилень у розподілі не виявлено. Із віком відбулися позитивні зміни, які призвели до того, що кількість 9-річних дітей із ДЦП із високим значенням САТ зменшилася порівняно з 8-річними і становила 17 %.

Слід відмітити, що статистично значущих відмінностей щодо УОК у дітей з ДЦП порівняно зі здоровими однолітками нами не виявлено (див. табл. 2). Проте з віком паралельно зниженню хронотропного ефекту підвищувався УОК. Так, у 9 років цей показник був вищим, ніж у 7 у всіх дітей (хворих і здорових), що, можливо, зумовлено морфофункціональним дозріванням серця. При порівнянні значень у 8- та 9-річних дітей відмінності виявлені тільки у здорових. Аналогічні дані були отримані при дослідженні стану центральної та периферичної гемодинаміки у дітей від 3 до 6 років, хворих на ДЦП. Зокрема встановлено, що частота серцевих скорочень (ЧСС) та УОК пов'язані зворотним кореляційним зв'язком [3]. Інтегральним показником кровообігу є ХОК, на який впливає багато факторів. Встановлено, що в здорових дітей усіх досліджуваних вікових груп його значення було меншим, ніж у хворих у середньому на 19 % (див. табл. 2). Проте у дітей, що страждають на ДЦП, більшою мірою цей показник визначається ЧП, тоді як у здорових обстежуваних у його значенні більше питомої ваги ударного викиду, що може свідчити про менш ефективну скоротливу діяльність серця у дітей із руховими розладами. Цікаві результати відмічені при

дослідженні центральних показників гемодинаміки в спокої у дітей від 3 до 8 років (5,4 років  $\pm$  0,49 років) із середнім і тяжким ступенем ДЦП, спастичною диплегією [1]. Зокрема, значення ЧСС відповідали віковим нормам, а УОК, ХОК, ударний та серцевий індекси були вищі від них. Автори пояснюють це тим, що на ССС дітей зі спастичним станом протягом усього періоду їх росту і розвитку постійно діє надмірне навантаження, яке викликає перманентне напруження всіх регуляторних систем. Таке навантаження пов'язане з тяжким ураженням м'язової системи. Спастично напружені м'язи потребують підвищеного надходження кисню і, відповідно, підвищеного серцевого викиду. Одночасно у пацієнтів, які знаходилися на стаціонарному лікуванні і отримували реабілітаційні заходи – лікувальну фізкультуру, фізіотерапевтичні процедури тощо – зростало навантаження на кровообіг. Це спричиняло збільшення ударного викиду та гіпердинамію, що автори оцінювали як стан стресової норми для таких дітей [1]. Додатковою характеристикою резервних можливостей ССС є значення ХІП. Останній у дітей із обмеженими можливостями здоров'я всіх вікових груп був вищим, ніж у їх здорових ровесників на 31, 24, 20 % у 7, 8 та 9 років відповідно (див. табл. 2.). Виявлений нами факт може свідчити як про економічність функціонування, так і про більш високі функціональні резерви ССС здорових дітей на відміну від їх хворих однолітків. Таким чином, результати наших досліджень дають змогу говорити про більш низький рівень функціональної зрілості ССС у дітей із ДЦП. Особливо напружене функціонування системи кровообігу в 7 років. Аналіз літературних даних свідчить про наявність статистично значущих відмінностей за багатьма показниками центрального кровообігу, які залежали від статі та віку дітей. Так, при дослідженні стану ССС у дітей від 10 до 15 років із ДЦП встановлено, що значення ЧСС, ДАТ вищі, а УОК, пульсо-

вого тиску – нижчі, ніж у дітей контрольної групи [5].

Дослідження реакції ССС дітей із ДЦП у відповідь на дозоване фізичне навантаження виявило певні вікові особливості. У здорових і хворих дітей усіх досліджуваних вікових груп спостерігалася однонаправлена реакція ЧП, САТ, ДАТ на пробу з присіданням, а саме – їх зростання, ступінь якого (за ЧП) був тим вищим, чим старші діти (див. табл. 2). Так, у здорових дітей віком 7 та 8 років ЧП підвищилася на 17 %, 9 років – на 19 %. У 7-річних дітей із ДЦП після присідань цей показник зріс на 12 %. Підвищення ЧП і САТ після фізичного навантаження спрямоване на забезпечення потреб організму в додатковій кількості кисню, які збільшуються при м'язовій роботі. Водночас реакція центральної ланки системи кровообігу в дітей віком від 7 до 9 років відрізнялася зниженням УОК у відповідь на фізичне навантаження. Зокрема, у хворих 8-річних дітей цей показник знизився на 11 %, а в здорових однолітків – на 15 %. У 9-річних хворих дітей він зменшився на 13 %. Аналогічна картина спостерігалась і в інших вікових категоріях. Можна припустити, що у хворих дітей зменшення УОК виникає внаслідок зниження скоротливості міокарда у зв'язку з розвитком втоми, а також через порушення капілярного кровотоку [5]. Водночас такий вид фізичного навантаження, можливо, спричиняє значний приріст ЧП, що призводить до різкого зниження часу діастолі та кровонаповнення шлуночків і, як наслідок, зменшення УОК. У результаті аналізу наших досліджень встановлено, що тільки в здорових дітей 9-річного віку після присідань ХОК збільшився на 6 % (див. табл. 2.). Серед інших вікових груп статистично значущих відмінностей за цим показником в умовах фізичного навантаження не виявлено як у хворих, так і в здорових дітей. Такий факт можна пояснити більш істотним зменшенням УОК, незважаючи на збільшення ЧП. Відомо, що

ХОК залежить від загального обміну і визначається потребою різних органів і систем у кисні. І підвищується внаслідок збільшення УОК, ЧП або одночасного їх зростання. Отже, у результаті проведених досліджень встановлено особливості гемодинамічної реакції дітей із ДЦП у відповідь на дозоване фізичне навантаження. При цьому спостерігається різнонаправлений характер змін досліджуваних параметрів у дітей порівнюваних груп. Так, у здорових і хворих дітей віком 7–9 років фізичне навантаження призводить до підвищення ЧП, САТ, зменшення УОК. Збільшення ХОК спостерігається тільки у здорових дітей 9-річного віку. Можливо, такий тип реагування є віддзеркаленням більш низького рівня функціональної зрілості ССС дітей із ДЦП.

Аналіз показників варіаційної пульсометрії виявив, що в дітей із ДЦП, зменшена участь гуморального впливу регуляції серцевого ритму автономною нервовою системою, оскільки значення моди RR-інтервалів у них було на 14 % нижчим порівняно зі здоровими (табл. 3). Більша на 12 % амплітуда моди та менший на 38 % варіаційний розмах кардіоінтервалів у хворих на ДЦП свідчили про посилення адренергічного контролю діяльності серця

з боку автономної нервової системи та зменшення холінергічного. Активація центральних і пригнічення автономних механізмів регуляції серцевого ритму у дітей із обмеженими можливостями здоров'я викликало напруження регуляторних механізмів, що підтверджувалося збільшенням інтегрального показника, яким є індекс напруження. Такий тип регуляції є менш досконалий через небезпеку перенапруження та виснаження адаптаційних систем організму. Аналогічні дані були отримані при дослідженні вегетативного забезпечення діяльності хворих із ДЦП віком від 11 до 15 років [4]. Показано, що ДЦП характеризувався дисбалансом регуляції серцевого ритму, коли її центральні механізми переважали над автономними. Важливі відмінності отримані нами при аналізі результатів амплітудної пульсометрії. Діти з ДЦП мали більш оптимальні порівняно зі здоровими значення амплітуди моди і варіаційного розмаху QRS-комплексів, і, як наслідок, істотно більші показники ефективності роботи серця (ПЕРС). Порівняльний аналіз амплітудної та варіаційної пульсометрії показав, що для дітей-інвалідів характерні вищі значення показників ефективності роботи серця та функціонального напруження регуляції ССС, ніж

**Таблиця 3. Результати амплітудної та варіаційної пульсометрії здорових і хворих на дитячий церебральний параліч дітей віком від 7 до 9 років (M±s; Me [25%;75%])**

Показники електрокардіограми	Хворі (n=16)	Здорові (n=12)
Амплітуда моди RR-інтервалів, %	47,2 ± 14,67*	35,3 ± 8,96
Мода RR-інтервалів, с	0,61 ± 0,081*	0,70 ± 0,065
Варіаційний розмах RR-інтервалів, с	0,20 ± 0,083*	0,32 ± 0,095
Індекс напруження, ум.од.	167 [94,1; 276]*	87,5 [47,6;121]
Показник ефективності роботи серця, ум.од.	153 [136;172]*	97,2 [57,8; 132]
Амплітуда моди QRS-комплексів, %	51,0 [43,0; 58,5]*	37,0 [33,0; 42,5]
Мода QRS-комплексів, мВ	1,07 ± 0,340	1,21 ± 0,313
Варіаційний розмах QRS-комплексів, мВ	0,20 [0,15; 0,20]*	0,27 [0,23; 0,38]
Адаптаційний потенціал ум.од.	0,92 ± 0,601	1,47 ± 1,042

\* різниця між показниками у хворих та здорових дітей значуща при P<0,05.

для здорових.

Адаптаційні можливості ССС хворих і здорових дітей, розраховані як співвідношення індексу напруження та ПЕРС, суттєво не відрізнялися. Про це свідчать як абсолютні значення АП, так і характер розподілу дітей досліджуваних вікових груп за їх розміром. Статистичних відмінностей між цими показниками у хворих і здорових дітей також не виявлено (див. табл. 3). Якісний аналіз значень АП у межах групи показав, що у 38 % дітей із обмеженими можливостями здоров'я та 50 % здорових спостерігається високий рівень адаптаційних можливостей ССС. При цьому серед хворих були діти обох статей, усіх досліджуваних вікових категорій та з різною формою церебрального паралічу. Водночас нами визначено наявність незадовільного рівня адаптаційних можливостей ССС у 42 % здорових і 50 % хворих дітей. Зокрема, такий рівень спостерігався у 7 дітей зі спастичною диплегією та у одного восьмирічного хлопця зі змішаною формою ДЦП. Слід відзначити, що абсолютні значення АП у здорових дітей свідчили про високі адаптаційні можливості ССС. У той час як для дітей із ДЦП характеристика адаптаційних можливостей ССС за абсолютними значеннями АП була неоднозначною. Залежно від віку дитини, їх можна охарактеризувати як низькі, середні та високі для дітей віком 7, 8 і 9 років відповідно.

## ВИСНОВКИ

1. Для дітей віком від 7 до 9 років із ДЦП характерні більш високі порівняно з їх здоровими однолітками ступінь функціонального напруження ССС та рівень її діяльності, проте однакові адаптаційні можливості.

2. Порівняльний аналіз амплітудної та варіаційної пульсометрії може бути додатковим методом функціональної діагностики

для оцінки індивідуальних адаптаційних можливостей дитячого організму.

3. Для збільшення ефективності реабілітації перед призначенням та під час проведення відновного лікування дітям 7–9 років із ДЦП слід враховувати АП ССС для передбачення виникнення критичних періодів у її роботі та зниження ступеня функціонального напруження систем регуляції.

**Л.С. Язловицкая, М.Р. Хара, Л.Г. Паламар**

### **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ С ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧЕМ**

Изучены возрастные особенности функционального состояния сердечно-сосудистой системы (ССС) детей от 7 до 9 лет с диагнозом детский церебральный паралич (ДЦП) со средне выраженными функциональными нарушениями. Установлена статистически значимая возрастная разница по многим показателям центрального кровообращения. Выявлены возрастные особенности гемодинамической реакции детей с ДЦП в ответ на дозированную физическую нагрузку. Установлено, что по адаптационному потенциалу, рассчитанному методом сравнительного анализа амплитудной и вариационной пульсометрии, среди больных детей встречается 38 % с высоким, а 50 % - с низким уровнем адаптационных возможностей ССС.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, сердечно-сосудистая система, адаптационный потенциал.

**L.S. Yazlovytska, M.R. Khara, L.H. Palamar**

### **AGE-DEPENDENT PECULIARITIES OF THE FUNCTIONAL STATE OF CARDIOVASCULAR SYSTEM IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY**

The age-dependent peculiarities of the functional state of the cardiovascular system (CVS) in children of 7-9 years old with cerebral palsy (CP) with moderately marked functional disorders have been studied. Statistically significant age difference in multiple indicators of central circulation has been detected. Age-dependent peculiarities of hemodynamic response in children with CP in response to dosed physical load have been revealed. The adaptive capacity of the CVS was calculated by the method of comparative analysis of the amplitude and the variation heart rate monitoring. We found that 38% of the studied children had a high level of adaptive capacity of the CVS, while 50% of the children had a low level of adaptive capacity of the CVS.



Key words: children's cerebral palsy, cardio-vascular system, adaptive potential.

*Y. Fedkovych Chernivtsi National University,*

*I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University,  
Regional Medical and Social Rehabilitation Center for  
Children with Organic Affection of the Nervous System,  
Chernivtsi*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айзенберг В.Л., Диордиев А.В., Салмаси К.Ж. Реакции центральной гемодинамики на физическую нагрузку у больных с детским церебральным параличом как возможность выбора способа анестезии и прогнозирования ее течения // *Анестезиология и реаниматология*. – 2009. – № 1. – С. 14–17.
2. Богдановська Н.В. Про інформативність деяких методичних підходів до оцінки адаптивних можливостей серцево-судинної системи організму дітей молодшого шкільного віку // *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біологічна*. – 2002. – Вип.31. – С. 249–255.
3. Вольский Г.Б. Возрастно-половые и индивидуальные особенности центрально-периферической гемодинамики у детей, больных детским церебральным параличом // *Биомед. журн.* – 2005. – 6. – С. 79–80.
4. Гришуніна Н.Ю. Адаптивна фізкультурно-спортивна корекція стато-моторних та вегетативних порушень у дітей хворих на церебральний параліч // *Мед. перспективи*. – 2004. – IX, № 1. – С. 96–99.
5. Киамова Н.И., Хасанова А.Р. Особенности физического развития и функционального состояния сердечно-сосудистой системы детей и подростков с ДЦП // *Вестник Татар. гос. гуманитар. пед. ун-та*. – 2007. – № 2–3. – С. 58–61.
6. Колкер І.А. Нейрофізіологічне дослідження зору та слуху в дітей зі спастичними формами дитячого церебрального параліча // *Буков. мед. вісник*. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 32–36.
7. Лайшева О.А., Сергеев Е.Ю., Парастаев С.А., Фрадкіна М.М. О необходимости новых подходов к разработке методик восстановительного лечения у детей с детским церебральным параличом // *Рос. мед. журн.* – 2007. – № 2. – С. 25–27.
8. Лунь Г.П. Дихальні порушення у хворих на церебральні паралічі та їхня динаміка в процесі реабілітації за методом проф. В. Козявкіна – Львів: Дизайн-студія “Папуга”, 2007. – 128 с.
9. Маліков М.В. Богдановська Н.В. Особливості функціонального стану організму юнаків і дівчат різних клімато-географічних регіонів СНД // *Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер.біологія*. – 2001. – №1 (12). – С. 80–84.
10. Маліков Н.В. Регіональні особливості динаміки адаптивних можливостей системи кровообігу у шкільному віці // *Вісник Львів. ун-ту*. – 2002. – Вип. 28. – С. 287–296.
11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
12. Семенова К.А. Методические рекомендации по применению рабочей классификации детского церебрального паралича. – М., 1973. – 20 с.
13. Семов В.С. Левченко В.А., Вакалюк І.П. Стан показників зовнішнього дихання у дітей, хворих на дитячий церебральний параліч // *Архів клін. медицини*. – 2008. – № 1. (13) – С. 38–39.
14. Слабкий Г.О., Шевчук О.В. Деякі питання організації реабілітації дітям з церебральними паралічами (аналітичний огляд) // *Вісник соціал. гігієни та організації охорони здоров'я України*. – 2007. – № 1. – С. 62–65.
15. Шарапов А.Н., Безобразова В.Н., Догадкина С.Б. Кмить Г.В., Рублева Л.В. Комплексный анализ ряда функциональных параметров сердечно-сосудистой системы в онтогенезе школьников младшего возраста // *Новые исследования*. – 2008. – 1, № 14. – 1. – С.41–51.

*Чернів. нац. ун-т ім. Юрія Федьковича;  
Терноп. мед. ун-т ім. І.Я. Горбачевського;  
Чернів. обл. медико-соціальний центр реабілітації  
дітей із органіч. ураженням нервової системи  
E-mail: torak08@rambler.ru*

*Матеріал надійшов до  
редакції 01.10.2010*

О.В. Денефіль

## Значення адрено- і холіноблокаторів у забезпеченні автономного балансу серцевого ритму за різних типів погоди

*У досліджах на щурах віком 4,5–5 міс було досліджено вплив адрено- і холіноблокаторів на автономний баланс серцевого ритму при I, II і III типах погоди. Блокаду  $\beta$ -адренорецепторів викликали введенням анаприліну (1,5 мг/кг), M-холінорецепторів – атропіну сульфату (1,0 мг/кг). Електрокардіограми для наступного математичного аналізу записували в контролі та через 30 хв після введення препаратів. Виявлено, що в щурів-самців при I типі погоди найбільша вихідна активність симпатичної ланки автономної нервової системи. Висока реактивність  $\beta$ -адренорецепторів спостерігається при всіх типах погоди у тварин обох статей. Атропін блокує периферичні M-холінорецептори у самців за II і III типів погоди, самиць – усіх типів. Компенсаторно посилюється вплив симпатичної ланки у самців за всіх типів погоди, самиць – I і II. Таким чином, у тварин виявлено статеві відмінності при адаптації до погоди, які пов'язані з різною реактивністю адрено- і холінорецепторів.*  
Ключові слова:  $\beta$ -адренорецептори, M-холінорецептори, погода, щури.

### ВСТУП

Варіації природних геліогеофізичних факторів значно впливають на виникнення і загострення хвороб серцево-судинної, нервової систем, порушення функцій вищої нервової діяльності [4, 17]. Висока захворюваність і смертність від кардіоваскулярної патології, пов'язана зі зростанням геофізичної активності, свідчить, що існуючі лікарські препарати не мають етіопатогенетичної дії щодо відновлення електромагнітної рівноваги в організмі [12]. Ось чому сучасна медицина може допомогти тільки 5–10 % людей, чие здоров'я потребує корекції при несприятливих погодних умовах [1]. Вивчення причин виникнення та механізмів розвитку підвищеної чутливості до змін метеорологічної ситуації та адаптації до них допоможе розробити адекватні методи профілактики та лікування цієї залежності.

Існує багато класифікацій типів погоди, але у медицині найчастіше застосовують наступну [10, 11]:

© О.В. Денефіль

– I тип погоди – умови антициклону, коли спостерігається рівний хід метеоеlementів, зміни атмосферного тиску до 5 гПа за добу, температури повітря – до 3 °C за добу, швидкості руху повітря – до 5 м/с, відносна вологість повітря – 55–70 %, хмарність мала, опади відсутні;

– II тип погоди – помірні міждобові зміни метеоеlementів, зміни атмосферного тиску 5–10 гПа за добу, температури повітря – 5–10 °C за добу, відносна вологість повітря – 60–85 %, помірний вітер, можлива слабка циклонічна активність;

– III тип погоди – циклонічна активність, швидкі зміни ходу метеоеlementів, коливання атмосферного тиску – більше ніж 10 гПа за добу, зміни температури повітря – 10–15 °C за добу, відносна вологість – 85–100 %, виражена хмарність, значні опади, швидкість вітру більша за 12–15 м/с.

Виділяють наступні механізми дії метеорологічних чинників на організм людини: на центральну нервову систему,

умовно-рефлекторну діяльність, автономну нервову та ендокринну системи. Однією з провідних ланок формування геліометротропних реакцій організму людини і тварини є зміна тону су симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи (АНС), збільшення утворення медіаторів адренергічної та холінергічної дії. Так, у хворих на ішемічну хворобу серця під впливом несприятливих метеоумов знижується сумарна активність симпатичного і парасимпатичного відділів АНС на роботу серця, виникає дисбаланс у роботі її відділів, що свідчить про неоднорідність патофізіологічних реакцій при змінах метеоумов [7]. Надмірні та хаотичні зміни рівня флуктуацій атмосферного тиску призводять до коливань психічної активності, негативно впливають на роботу серця, розумову працездатність, настрій, самопочуття, збільшують варіабельність серцевого ритму, активують центральні механізми автономної регуляції серцевої діяльності [5].

Нині у медицині широко застосовуються препарати, що змінюють активність АНС, зокрема адреноблокатори і холіноблокатори.  $\beta$ -Адреноблокатори в сучасній терапії є групою вибору при лікуванні хворих із серцево-судинною патологією, зокрема ішемічною хворобою серця [3, 14, 15, 16], а М-холіноблокатори переважно застосовуються у хірургічній практиці, анестезіології [9]. У літературі не знайдено даних щодо дослідження їх впливу на автономний баланс серцевого ритму у статевому аспекті та при змінах погодних умов як у клінічній практиці, так і в експерименті.

Мета нашої роботи – вивчити вплив  $\beta$ -адреноблокатора анаприліну та М-холіноблокатора атропіну сульфату на автономний баланс серцевого ритму у щурів різної статі за I, II і III типів погоди.

## МЕТОДИКА

В експерименті використано 200 білих нелінійних щурів (99 самців і 101 самиця)

віком 4,5–5 міс. Тваринам для блокади  $\beta$ -адренорецепторів внутрішньоочеревинно вводили анаприлін (1,5 мг/кг) [13], для блокади М-холінорецепторів – внутрішньом'язово – 0,1%-й розчин атропіну сульфату (1 мг/кг) [6]. Неселективний  $\beta$ -адреноблокатор анаприлін для експерименту вибрали тому, що тривалість його дії та період змін метеоумов тривають однаково – до 3 год. Використана доза препарату проявляє адренолітичну дію через 30 хв після ін'єкції. Атропін виявляє свою холінолітичну дію не раніше ніж через 20 хв після введення розчину, максимум – 30–40 хв [9]. У контролі та через 30 хв після введення адрено- та холіноблокатора щурам у II стандартному відведенні записували електрокардіограми (не менше ніж 120 кардіоінтервалів) з їх наступним математичним аналізом. За допомогою стереоскопічного мікроскопа МБС-9 з окулярною сіткою аналізували 100 послідовно розташованих інтервалів R-R. Така кількість їх вважається достатньою, щоб визначити наступні показники: моду ( $M_0$ ) – значення інтервалу R–R, яке зустрічається найчастіше протягом досліджуваного періоду, характеризує адренергічні впливи на серцевий ритм, визначає гуморальний шлях регуляції серцевим ритмом; амплітуду моди ( $AM_0$ ) – число інтервалів R–R, які відповідають значенню  $M_0$ , відображає активність центрального контуру регуляції, який здійснює свої впливи через симпатичні нерви; варіаційний розмах ( $\Delta X$ ) – різницю між максимальним і мінімальним значеннями тривалості інтервалів R–R, відображає активність парасимпатичного відділу АНС. Використовуючи значення  $\Delta X$ ,  $M_0$  і  $AM_0$ , обчислювали додаткові показники: індекс напруження (ІН) регуляторних систем за формулою  $IN = AM_0 / (2 \cdot \Delta X \cdot M_0)$ , який є відображенням центральних регуляторних впливів на серце; показник адекватності процесів регуляції (ПАПР) за формулою  $ПАПР = AM_0 / M_0$ , який відображає відповідність між функціонуванням синоат-

ріального вузла і симпатичними впливами на нього; вегетативний показник ритму (ВПР) за формулою  $ВПР = 1/(Mo \cdot \Delta X)$ , який служить для оцінки ролі вагусного тону у формуванні ритму: чим він менший, тим більше вегетативний тонус зміщений у бік парасимпатикотонії і навпаки; індекс вегетативної рівноваги (ІВР) за формулою  $ІВР = A Mo / \Delta X$ , який кількісно характеризує співвідношення холінергічних і адренергічних впливів на серце [2].

Ці показники всебічно висвітлюють відношення між симпатичним і парасимпатичним відділами АНС на рівні периферичної ланки і часто знаходять застосування в клінічних і експериментальних дослідженнях для кількісної оцінки адренергічно-холінергічного балансу в умовах норми і патології.

Показники  $Mo$  і  $A Mo$  характеризують активність, симпатичного відділу АНС, а  $\Delta X$  – надійність і адаптаційні можливості функціонування системи “синаотріальний вузол – блукаючий нерв”. Його зміни можуть свідчити, з одного боку, про коливання тону центрального апарату еферентної холінергічної іннервації серця, закладеного в довгастому мозку, а, з іншого – про можливість реалізації цих коливань на рівні пейсмеркерних клітин синаотріального вузла. Збільшення тону ядер блукаючих нервів призводить до перемикання генерації імпульсів із справжніх пейсмеркерів синаотріального вузла на латентні. Вони менш чутливі до дії ацетилхоліну і продукують імпульси з меншою частотою. При зменшенні парасимпатичного тону відбувається зворотний процес – перемикання генерації імпульсів на справжні пейсмеркери з вищою здатністю до автоматизму. Ці безперервні перемикання, які носять пристосувальний характер, зумовлюють неоднакову тривалість інтервалів R–R від удару до удару. Навіть при однаковій частоті ритму варіаційний розмах між найменшою і найбільшою тривалістю R–R може істотно відрізнятись. Прийнято вва-

жати, що адаптаційні можливості системи “синаотріальний вузол – блукаючий нерв” (тобто автономного контура регуляції серцевого ритму за Р.М. Баєвським) тим потужніші, чим більший варіаційний розмах. І навпаки, звуження діапазону коливань інтервалів R–R розглядають як обмеження пристосувальних резервів серця.

Дослідження виконували за I, II і III типів погоди. Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою комп’ютерної програми Microsoft Excel з використанням методів варіаційної статистики. Визначали середньоарифметичне значення ( $M$ ), стандартну похибку ( $m$ ) за критерієм t Стьюдента. При  $P < 0,05$  зміни показників вважали вірогідними.

Усі втручання на тваринах проводили з дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986), ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [8].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зміни показників серцевого ритму при дії  $\beta$ -адреноблокатора у тварин різної статі подано у табл. 1.

У контролі в самців за I типу погоди порівняно з II і III відмічено найбільший вплив адренергічної ланки АНС. Зокрема,  $Mo$  менша за I типу порівняно з II типом погоди на 7,45 % ( $P < 0,001$ ), з III – на 9,96 % ( $P < 0,001$ ). Також за I типу порівняно з III спостерігається більше напруження регуляторних механізмів (ІН вищий на 23,82 %,  $P < 0,05$ ). За I типу погоди порівняно з III більші такі показники, як ПАПР (характеризує роль симпатичних впливів у функціонуванні синаотріального вузла) на 15,94 % ( $P < 0,01$ ) і ВПР на 19,07 % ( $P < 0,02$ ).  $A Mo$ ,  $\Delta X$ , ІВР достовірно не мінялися при змінах погоди. Отримані результати можна охарактеризувати як початкову стадію стресової відповіді (стадію тривоги) при I типі погоди [2].

Збільшення активності симпатичного відділу АНС можливо є реакцією адаптації до погодних умов, яка сприяє оптимальній емоційності, меншій тривожності щурів,

забезпечує їх вищу рухову активність.

В інтактних самиць ні один показник не залежить від змін погоди. Такі результати можна розцінювати як хорошу адаптацію

**Таблиця 1. Зміни автономного балансу серцевого ритму під впливом анаприліну в щурів при різних типах погоди**

Показник	I тип		II тип		III тип	
	Самці	Самиці	Самці	Самиці	Самці	Самиці
Мода, $10^{-3}$ с						
контроль	107,17±1,13	112,91±1,19	115,16±1,01	113,80±1,06	117,84±1,38	110,38±1,39
дослід	131,80±3,13	156,14±5,67	150,00±3,06	153,00±2,37	129,75±2,42	145,75±2,85
	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{самці}} < 0,001$ $p_{\text{самці}} < 0,002$	$p_{\text{I-II}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{I-III}} < 0,001$ $p_{\text{II-III}} < 0,001$	$p_{\text{самці}} < 0,001$ $p_{\text{самці}} < 0,001$
Амплітуда моди, %						
контроль	34,08±1,02	30,78±1,56	33,06±1,76	31,46±1,52	31,59±1,59	29,06±1,20
дослід	30,00±1,70	25,71±4,34	24,71±2,47	19,60±1,51	24,37±2,41	25,12±3,23
	$p_{\text{контроль}} < 0,05$		$p_{\text{контроль}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	
Варіаційний розмах, $10^{-3}$ с						
контроль	7,25±0,38	8,09±0,56	7,61±0,43	7,80±0,50	8,06±0,47	8,18±0,38
дослід	8,40±0,37	14,57±2,01	10,57±0,65	12,20±1,31	13,12±1,09	10,00±1,40
	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$ $p_{\text{самці}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,02$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-III}} < 0,001$	
Індекс напруження, $10^3$ ум.од.						
контроль	25,65±2,26	20,07±1,84	21,56±2,28	21,35±1,94	19,54±2,00	18,20±1,65
дослід	14,17±1,48	7,90±3,38	8,23±1,34	6,26±1,14	8,15±1,70	10,74±2,62
	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-III}} < 0,02$	$p_{\text{контроль}} < 0,02$
Показник адекватності процесів регуляції, $10^2$ ум.од.						
контроль	3,20±0,11	2,74±0,14	2,88±0,16	2,77±0,14	2,69±0,14	2,66±0,12
дослід	2,30±0,17	1,67±0,31	1,65±0,16	1,28±0,10	1,89±0,19	1,73±0,23
	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$ $p_{\text{самці}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,02$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$ $p_{\text{I-III}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$
Вегетативний показник ритму, $10^2$ ум.од.						
контроль	14,47±0,94	12,37±0,69	12,40±0,65	12,74±0,72	11,71±0,68	11,98±0,63
дослід	9,28±0,54	5,28±1,13	6,47±0,45	6,02±0,70	6,26±0,64	7,75±0,94
	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{самці}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,002$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-III}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$
Індекс вегетативної рівноваги, $10^2$ ум.од.						
контроль	54,50±4,71	44,98±4,13	49,46±4,89	48,29±4,31	45,86±4,63	39,69±3,41
дослід	36,75±3,29	23,94±9,53	24,68±3,95	19,15±3,52	21,02±4,42	31,08±7,33
	$p_{\text{контроль}} = 0,002$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$ $p_{\text{I-II}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$ $p_{\text{I-III}} < 0,02$	

Примітки. Тут і в наступній таблиці: контроль – достовірні результати порівняно з контролем; I–II, I–III – достовірні результати порівняно з I типом погоди; II–III – достовірні результати порівняно з II типом погоди; самці – достовірні результати між самцями і самицями.

тварин даного віку до змін навколишнього середовища, яка направлена на оптимальне забезпечення їх дітородної функції.

Відмічено різницю показників залежно від статі. Так, за I типу погоди у самиць менший вплив симпатичного відділу АНС (значення  $M_o$  більше на 5,36 %,  $P < 0,001$ ), ПАПР менший на 14,37 %,  $P < 0,01$ ). За III типу погоди, навпаки, у самиць більші адренергічні впливи на серцевий ритм, що реалізуються за допомогою гуморальної регуляції ( $M_o$  менша на 6,33 %,  $P < 0,001$ ). За II типу погоди не відмічено значної різниці у регуляції серцевим ритмом тварин різної статі.

При аналізі  $M_o$ , який у нашому експерименті найбільше реагує на зміни погоди, виявлено протилежно направлені результати в тварин різної статі: у самців вплив адренергічної ланки регуляції найвищий за I, найнижчий за III типу погоди, а в самиць навпаки – найменший за II і I, найбільший за III типу. Ці результати можуть свідчити про те, що в тварин при різних типах погоди тонус симпатичного відділу АНС різний: у самців він найвищий за I типу погоди, самиць – III (рис. 1).

Уведення анаприліну в самців призводить до блокади адренергічного впливу у регуляції серцевим ритмом за всіх типів погоди. Така доза препарату викликає найбільшу реакцію з боку гуморального шляху регуляції серцевим ритмом за II типу

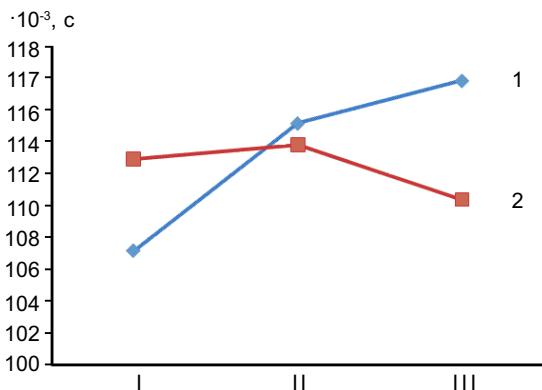


Рис. 1. Зміни моди у самців (1) і самиць (2) за I, II і III типів погоди

погоди. Відмічено зростання показника за I типу на 22,98 % ( $P < 0,001$ ), II – 30,25 % ( $P < 0,001$ ), III – 10,11 % ( $P < 0,001$ ). Спостерігається залежність  $M_o$  від метеорологічної ситуації. Вона найвища за II типу (порівняно з I типом на 13,81 %;  $P < 0,001$ , з III – на 15,61 %;  $P < 0,001$ ).

Блокування активності центрального контуру регуляції симпатичними нервами (АМо) при цій дозі препарату відмічено за всіх типів погоди у самців, але найвища реакція була знов за II типу. Так, за I типу АМо зменшилася на 11,97 % ( $P < 0,05$ ), II – 25,26 % ( $P < 0,01$ ), III – 22,86 % ( $P < 0,05$ ).

Як за I, так і за III типів погоди зменшується тонус симпатичної нервової системи, але зміни  $M_o$  та АМо носять діаметрально протилежний характер (рис. 2). Отримані результати можуть свідчити про різні механізми дії  $\beta$ -адреноблокатора за I, II і III типів погоди: при I типі більше гальмується гуморальний шлях регуляції, III – центральний, II – обидва шляхи.

Дія анаприліну також посилювала холінергічні хронотропні впливи на серце.  $\Delta X$  підвищувався за всіх типів погоди: за I типу на 15,86 % ( $P < 0,05$ ), II – 38,90 % ( $P < 0,001$ ), III – 62,78 % ( $P < 0,001$ ). Спостерігається більше значення цього показника за II і III типів погоди порівняно з I (на 25,83 %,  $P < 0,02$  і 56,19 %,  $P < 0,001$ ), що є процесом адаптації до гіпоксичних умов атмосфери, яке необхідне для зменшення потреб міокарда в кисні.

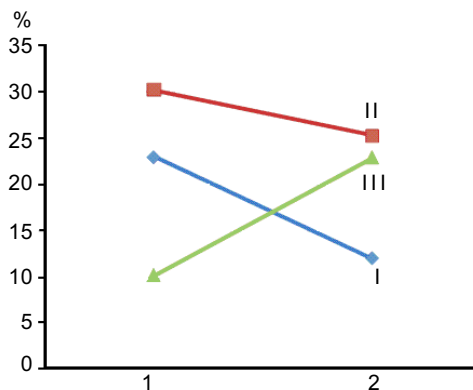


Рис. 2. Динаміка показників моди (1) та амплітуди моди (2) у самців за I, II і III типів погоди

Оскільки підвищення  $\Delta X$  за II, а особливо за III типу погоди виявилось більшим, ніж  $M_0$  та  $A_{M_0}$ , можна зробити висновок, що у реакції на введення анаприліну має значення не стільки ослаблення адренергічного тону, скільки посилення холінергічної імпульсації. Ці результати узгоджуються з законом Анохіна: чим більша дія, тим більша протидія, тобто  $\beta$ -адреноблокувальний ефект (дія) проявляється у зростанні парасимпатичних впливів (протидія). Тобто ефект від дії анаприліну найбільший за III типу погоди, що може опосередковано вказувати на більшу чутливість  $\beta$ -адренорецепторів за цих умов.

Зміни ІН у тварин за всіх типів погоди демонструють звільнення серця з-під адренергічного контролю, ослаблення центрального симпатичного тону, зростання ролі автономного контуру „блукаючий нерв – синоатріальний вузол”. Найбільше зниження напруженості регуляторних механізмів відмічено за II (61,83 %,  $P < 0,001$ ) і III (58,59 %,  $P < 0,001$ ) типів погоди, найменше – за I (44,76 %,  $P < 0,001$ ). Максимальна значення ІН зареєстровано у самців за I порівняно з II і III типами метеорологічної ситуації.

Зменшення ПАПР, ВПР, ІВР за всіх типів погоди також свідчить про значення симпатичних і зростання парасимпатичних впливів (найбільше за III типу).

Слід відмітити, що максимальне значення ВПР та ІВР у самців було за I типу погоди порівняно з II і III.

Введення анаприліну призводить до блокади адренергічного впливу у регуляції серцевим ритмом за всіх типів погоди і в самиць. Значення  $M_0$  відмічено за всіх типів погоди: за I типу на 38,29 % ( $P < 0,001$ ), II – 34,45 % ( $P < 0,001$ ), III – 32,04 % ( $P < 0,001$ ). Достовірне зменшення  $A_{M_0}$  було тільки за II типу погоди (на 37,70 %;  $P < 0,001$ ). Отримані результати свідчать про гальмування гуморального шляху регуляції за всіх типів погоди, а за II типу також пригнічується ще й центральний контур

регуляції симпатичними нервами. Якщо при II типі погоди зміни однакові у тварин обох статей, то при III типі у самців більше гальмується центральний контур, а самиць – гуморальний шлях регуляції, при I типі реакція відмічена тільки в самців.

Дія анаприліну викликала зростання холінергічних хронотропних впливів на серце у самиць за I (на 80,10 %,  $P < 0,002$ ) і II (56,41 %,  $P < 0,002$ ) типів погоди.

Найбільше зниження напруженості регуляторних механізмів відмічено у самиць – II (70,68 %,  $P < 0,001$ ) і I (60,64 %,  $P < 0,002$ ) типів погоди, найменше – за III (40,99 %,  $P < 0,02$ ).

Зменшення показників ПАПР, ВПР, ІВР вказує на зниження симпатичних і зростання парасимпатичних впливів (найбільше за I типу погоди, найменше – III).

Прослідковується різниця показників між самцями і самицями. Так, у останніх за I і III типу погоди більше значення  $M_0$ , за I типу більша  $\Delta X$ , менший ВПР. Спостерігається різна направленість змін  $\Delta X$ : у самців цей показник найменший при I типі погоди, збільшується за III типу; у самиць найбільший за I, знижується за III (рис. 3). Отже, тонус парасимпатичного відділу АНС залишається стабільним при дії адреноблокатора і має статеві відмінності при різних типах погоди.

Отже, дія неселективного  $\beta$ -адренобло-

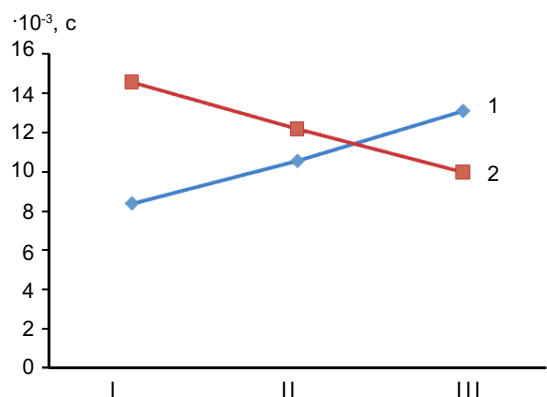


Рис. 3. Динаміка показника варіаційного розмаху у самців (1) та самиць (2) за I, II і III типів погоди

катора анаприліну призводить до зменшення адренергічних і зростання холінергічних впливів на серцевий ритм за всіх типів погоди у тварин обох статей. У самців і самиць спостерігаються різні механізми забезпечення цього.

Оскільки було отримано результати, що баланс АНС зміщується у бік парасим-

патичного відділу, метою наступних дослідів було з'ясувати деякі механізми цього явища. Блокаду М-холінорецепторів тому проводили розчином атропіну сульфату в щурів різної статі (табл. 2).

Уведення М-холіноблокатора у самців призводить до значних змін автономного балансу за всіх типів погоди, що прояв-

**Таблиця 2. Вплив атропіну на автономний баланс серцевого ритму щурів за різних типів погоди**

Показник	I тип		II тип		III тип	
	Самці	Самиці	Самці	Самиці	Самці	Самиці
Мода, $\cdot 10^{-3}$ с						
контроль	107,17 $\pm$ 1,13	112,91 $\pm$ 1,19	115,16 $\pm$ 1,01	113,80 $\pm$ 1,06	117,84 $\pm$ 1,38	110,38 $\pm$ 1,39
		$p_{\text{самиці}} < 0,001$	$p_{\text{I-II}} < 0,001$		$p_{\text{I-III}} < 0,001$	$p_{\text{самиці}} < 0,001$
дослід	97,80 $\pm$ 1,47	109,67 $\pm$ 2,24	110,12 $\pm$ 1,33	107,89 $\pm$ 1,18	105,86 $\pm$ 1,30	110,33 $\pm$ 2,42
	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{самиці}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{I-III}} < 0,002$
			$p_{\text{I-II}} < 0,001$		$p_{\text{II-III}} < 0,05$	
Амплітуда моди, %						
контроль	34,08 $\pm$ 1,02	30,78 $\pm$ 1,56	33,06 $\pm$ 1,76	31,46 $\pm$ 1,52	31,59 $\pm$ 1,59	29,06 $\pm$ 1,20
дослід	43,70 $\pm$ 4,25	39,11 $\pm$ 3,41	39,75 $\pm$ 2,90	34,67 $\pm$ 2,42	39,29 $\pm$ 2,71	33,89 $\pm$ 2,40
	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$		$p_{\text{контроль}} < 0,02$	
Варіаційний розмах, $10^{-3}$ с						
контроль	7,25 $\pm$ 0,38	8,09 $\pm$ 0,56	7,61 $\pm$ 0,43	7,80 $\pm$ 0,50	8,06 $\pm$ 0,47	8,18 $\pm$ 0,38
дослід	6,40 $\pm$ 0,93	6,44 $\pm$ 0,44	5,50 $\pm$ 0,33	6,00 $\pm$ 0,24	6,14 $\pm$ 0,77	6,56 $\pm$ 0,60
		$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$
Індекс напруження, $10^3$ ум.од.						
контроль	25,65 $\pm$ 2,26	20,07 $\pm$ 1,84	21,56 $\pm$ 2,28	21,35 $\pm$ 1,94	19,54 $\pm$ 2,00	18,20 $\pm$ 1,65
					$p_{\text{I-III}} < 0,05$	
дослід	43,65 $\pm$ 7,92	29,38 $\pm$ 3,55	33,94 $\pm$ 3,66	27,39 $\pm$ 2,61	34,04 $\pm$ 6,00	26,93 $\pm$ 4,86
	$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,02$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$		$p_{\text{контроль}} < 0,001$	
Показник адекватності процесів регуляції, $10^2$ ум.од.						
контроль	3,20 $\pm$ 0,11	2,74 $\pm$ 0,14	2,88 $\pm$ 0,16	2,77 $\pm$ 0,14	2,69 $\pm$ 0,14	2,66 $\pm$ 0,12
		$p_{\text{самиці}} < 0,01$			$p_{\text{I-III}} < 0,01$	
дослід	4,49 $\pm$ 0,46	3,58 $\pm$ 0,32	3,62 $\pm$ 0,27	3,20 $\pm$ 0,19	3,71 $\pm$ 0,25	3,10 $\pm$ 0,25
	$p_{\text{контроль}} < 0,01$	$p_{\text{контроль}} < 0,02$	$p_{\text{контроль}} < 0,05$		$p_{\text{контроль}} < 0,001$	
Вегетативний показник ритму, $10^2$ ум.од.						
контроль	14,47 $\pm$ 0,94	12,37 $\pm$ 0,69	12,40 $\pm$ 0,65	12,74 $\pm$ 0,72	11,71 $\pm$ 0,68	11,98 $\pm$ 0,63
					$p_{\text{I-III}} < 0,02$	
дослід	18,50 $\pm$ 2,06	14,76 $\pm$ 1,07	16,95 $\pm$ 1,07	15,63 $\pm$ 0,45	16,75 $\pm$ 1,89	15,38 $\pm$ 0,86
			$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,001$	$p_{\text{контроль}} < 0,002$
Індекс вегетативної рівноваги, $10^2$ ум.од.						
контроль	54,50 $\pm$ 4,71	44,98 $\pm$ 4,13	49,46 $\pm$ 4,89	48,29 $\pm$ 4,31	45,86 $\pm$ 4,63	39,69 $\pm$ 3,41
дослід	84,69 $\pm$ 14,87	63,91 $\pm$ 7,57	74,62 $\pm$ 7,89	59,47 $\pm$ 6,19	72,27 $\pm$ 13,08	58,33 $\pm$ 9,75
		$p_{\text{контроль}} < 0,05$	$p_{\text{контроль}} < 0,01$		$p_{\text{контроль}} < 0,001$	



ляється вірогідним зростанням адренергічних впливів як гуморальним шляхом (за I типу Мо зменшується на 8,74 %,  $P < 0,001$ , II – на 4,38 %,  $P < 0,01$ ; за III – на 10,17 %,  $P < 0,001$ ), так і центральним контуром регуляції симпатичними нервами (за I типу АМо зростає на 28,23 %,  $P < 0,05$ , II – на 20,24 %,  $P < 0,05$ ; за III – на 24,37 %,  $P < 0,02$ ). Також за II і III типів погоди знижується холінергічні впливи:  $\Delta X$  за II типу зменшується на 27,73 % ( $P < 0,001$ ), III – на 23,82 % ( $P < 0,01$ ). Ці результати узгоджуються з законом Анохіна: чим більша дія, тим більша протидія, тобто, периферичний М-холіноблокувальний ефект (дія) проявляється у зростанні симпатичних впливів (протидія). За I типу погоди активність адренергічного відділу АНС у самців найбільша як у контролі, так і після введення атропіну. Очевидно, що висока вихідна активність центрального контуру регуляції через симпатичні нерви є адаптацією до I типу погоди. Ці результати узгоджуються із законом “вихідного рівня”: чим вищий вихідний рівень, тим у більш дієвому і напруженому стані знаходиться система чи орган, тим менша відповідь можлива при дії подразників.

Відмічено значне зростання напруженості регуляторних механізмів: за I типу погоди на 70,17 % ( $P < 0,05$ ), II – на 57,42 % ( $P < 0,01$ ), за III – на 74,21 % ( $P < 0,001$ ).

Істотне підвищення ПАПР (за I типу погоди на 40,31 %,  $P < 0,01$ , за II – на 25,69 %,  $P < 0,05$ , за III – на 37,92 %,  $P < 0,001$ ), ВПР (за II типу погоди на 36,69 %,  $P < 0,001$ , за III – на 43,04 %,  $P < 0,001$ ), ІВР (за II типу погоди на 50,87 %,  $P < 0,01$ , за III – на 57,59 %,  $P < 0,001$ ) вказує на посилення симпатичних впливів. Але якщо за всіх типів погоди це відбувається внаслідок зростання симпатичних, а за II і III типів ще й зменшення парасимпатичних впливів.

У самиць дія атропіну викликала підвищення адренергічних впливів за I і II типів

погоди (за I типу на 27,06 %,  $P < 0,05$ ) зросла АМо, за II типу на 5,19 %,  $P < 0,001$  зменшилася Мо), а також зниження парасимпатичної регуляції ( $\Delta X$  зменшився за I типу на 20,40 %,  $P < 0,05$ , II – на 23,08 %,  $P < 0,002$ , за III – на 19,81 %,  $P < 0,05$ ). Тобто використана доза атропіну викликає у самиць блокаду М-холінорецепторів за всіх типів погоди.

Тільки за I типу погоди спостерігається значне достовірне зростання напруженості регуляторних механізмів на 46,39 % ( $P < 0,02$ ).

Істотне підвищення ПАПР (за I типу погоди на 30,66 %,  $P < 0,02$ ), ВПР (за II типу погоди на 22,68 %,  $P < 0,001$ , за III – на 28,38 %,  $P < 0,002$ ), ІВР (за I типу погоди на 42,08 %,  $P < 0,05$ ) вказує на посилення симпатичних впливів. Але якщо за I типу погоди це відбувається як за рахунок зростання симпатичних і зменшення парасимпатичних впливів, то за II і III типів – тільки зменшення холінергічних.

Спостерігається статеві різниця на введення атропіну за різних типів погоди: у самців за I типу переважають адренергічні впливи. Очевидно, що у самиць менший симпатичний контроль з боку АНС є одним із пристосувальних механізмів, що забезпечує більшу адаптацію до гіпоксичних умов атмосфери за рахунок киснезберігального ефекту.

Отже, М-холіноблокатор атропін призводить до підвищення адренергічних і зменшення холінергічних впливів на серцевий ритм за всіх типів погоди у тварин обох статей. У самців і самиць спостерігаються різні механізми забезпечення цього.

Таким чином, дія організму тварин на введення  $\beta$ -адреноблокатора атропіну у дозі 1,5 мг/кг та блокатора М-холінорецепторів атропіну сульфату в дозі 1,0 мг/кг змінюється при різних типах погоди і залежить від статі, що при проведенні додаткових досліджень може бути використано у клініці при призначенні дози фармакологічних препаратів хворим.

## ВИСНОВКИ

1. В інтактних щурів-самців за I типу погоди спостерігається вища вихідна активність симпатичної нервової системи, що є одним з механізмів адаптації до погодних умов.

2.  $\beta$ -Адреноблокатор анаприлін викликає зменшення адренергічних впливів у регуляції серцевим ритмом за всіх типів погоди у тварин обох статей. Крім зменшення гуморальних впливів на серцевий ритм послаблюється активність центрального контуру регуляції, який здійснює свої впливи через симпатичні нерви: у самців за всіх типів метеорологічної ситуації, самиць – за II типу. За всіх типів погоди у самців, I і II типів у самиць збільшується холінергічна ланка регуляції.

3. Безпосередній ефект від введення неселективного M-холіноблокатора атропіну (зменшення парасимпатичних впливів) у самців проявляється за II і III типів погоди, самиць – усіх типів. Компенсаторно посилюються адренергічні впливи у самців за всіх типів погоди, самиць – I і II.

Таким чином, у результаті аналізу представлених матеріалів стає очевидним, що існує статеві відмінності у регуляторних механізмах автономного забезпечення тварин за різних типів погоди. Надалі буде проведено аналіз впливу  $\alpha$ -адреноблокаторів за різних типів погоди у статевому аспекті.

### О.В. Денефіль

#### ВЛИЯНИЕ АДРЕНО- И ХОЛИНОБЛОКАТОРОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ АВТОНОМНОГО БАЛАНСА СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ПОГОДЫ

В опытах на крысах (4,5–5 мес) было исследовано влияние адрено- и холиноблокаторов на вегетативный баланс сердечного ритма при I, II и III типах погоды. Блокаду  $\beta$ -адренорецепторов вызывали введением анаприлина (1,5 мг/кг), M-холинорецепторов – атропина сульфата (1,0 мг/кг). Электрокардиограммы для последующего математического анализа записывали в контроле и через 30 мин после введения препаратов. Выявлено, что у крыс-самцов при I типе погоды наибольшая исходная активность

симпатического звена вегетативной нервной системы. Высокая реактивность  $\beta$ -адренорецепторов наблюдается при всех типах погоды у животных обоего пола. Атропин блокирует периферические M-холинорецепторы у самцов при II и III типах погоды, самок – всех типах. Компенсаторно увеличивается влияние симпатического звена у самцов при всех типах погоды, самок – I и II. Таким образом, у животных выявлены половые различия при адаптации к погоде, которые связаны с реактивностью адрено- и холинорецепторов.

Ключевые слова:  $\beta$ -адренорецепторы, M-холинорецепторы, погода, крысы.

### O. V. Denefil

#### SIGNIFICANCE OF ADRENO- AND CHOLINORECEPTORS IN CARDIAC RHYTHM REGULATION DURING DIFFERENT WEATHER TYPES

In the experiments of 4,5–5 months old rats, we studied the influences of adrenal and cholinoblockators on the autonomic balance of cardiac rhythm during the I, II and III types of weather. Blockade of  $\beta$ -adrenoreceptors and M-cholinoreceptors was evoked by anapriline (1,5 mg/kg) and atropine sulfate (1,0 mg/kg), respectively. Electrocardiograms for further analysis were registered in control and 30 minutes after injections of the blockers. It was shown that male rats have the highest activity of sympathetic nervous system under weather type I. High reactivity of  $\beta$ -adrenoreceptors was determined under all weather types in males and females. In males, atropine blocks the autonomic M-cholinoreceptors under weather types II and III, while in females this effect is detected under all weather types. Furthermore, in males we detected a compensatory increase of sympathetic nervous system during all weather types, while in females such an increase was detected during weather types I and II. Collectively, we determined sex differences in adaptation to weather type changes which are connected to different reactivity of adreno- and cholinoreceptors.

Key words:  $\beta$ -adrenoblocators, M- cholinoblocators, type of weather, rats.

*I.Ya. Horbachevskyy Ternopil State Medical University*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян Н.А., Баевский Р.М., Берсенев А.П. Учение о здоровье и проблемы адаптации (теория и практика валеологических исследований). – Ставрополь: СГУ, 2000. – 204 с.
2. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. – М.: Наука, 1984. – 221 с.
3. Волков В.И., Дыкун Я.В., Титаренко Н.В. Сравнительное исследование влияния метопролола и карведилола на клиническое течение острого инфаркта

- миокарда и параметры нейрогуморальной активации // Укр. кардіол. журн. – 2004. – № 5. – С. 13–17.
4. Григор'єв П.Є., Циганков К.В., Вайсерман О.М. та ін. Залежність розподілу інсультів по півкулях головного мозку від геліогеофізичних факторів // Тавр. медико-біол. вестник. – 2009. – **12**, № 3 (47). – С. 24–29.
  5. Делюков А.А., Горго Ю.П. Флуктуации атмосферного давления инфранизких частот и метеочувствительности людей разного возраста // Пробл. старения и долголетия. – 2000. – 9, № 4. – С. 348–357.
  6. Денефіль О.В. Роль холінергічних механізмів у розвитку адреналінової міокардіодистрофії у тварин з різною резистентністю до гіпоксії : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Львів, 1993. – 16 с.
  7. Дорошко Т.Н., Булгак А.Г. Влияние гелиометеофакторов на показатели симпатической и парасимпатической активности по данным анализа вариабельности сердечного ритма у больных ишемической болезнью сердца с пароксизмальной мерцательной аритмией // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. – 2005. – № 1. – С. 6–9.
  8. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – **8**, № 1. – С. 142–145.
  9. Кузьмин А.И., Каленикова Е.И., Зарецкая М.В. Влияние атропина на физостигмин- и стресс-стимулированную секрецию катехоламинов надпочечниками: микродиализное исследование у бодрствующих крыс // Рос. физиол. журн. – 1999. – **85**, № 7. – С. 867–877.
  10. Овчарова В. Ф. Определение содержания кислорода в атмосферном воздухе на основе метеорологических параметров (давления, температуры, влажности) с целью прогнозирования гипоксического эффекта атмосферы // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. – 1981. – № 2. – С. 29–34.
  11. Руководство по составлению медицинских прогнозов погоды к комплексной профилактике метеотропных реакций / Под ред. И.И. Григорьева. – М.: Рос. гос. мед. ун-та, 1993. – 19 с.
  12. Тетерина Т. П. Свет, глаз, мозг. Принципы цветолечения. – Кн. 1. – Калуга: Изд-во Н. Бочкарёвой, 2000. – 208 с.
  13. Чекман И.С. Биохимическая фармакодинамика. – К.: Здоровья, 1991. – С. 106.
  14. Armanious S., Wong D.T., EtcHELLS E. Successful implementation of perioperative beta-blockade utilizing a multidisciplinary approach // Can. J. Anesth. – 2003. – **50**. – P. 131–136.
  15. Devereaux P.J., Scott Beattie W., Choi P.T.L. How strong is the evidence for the use of perioperative b-blockers in non-cardiac surgery? Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials // BMJ. – 2005. – **331**. – P. 313–321.
  16. Lindholm L., Carlsberg B., Samuelsson O. Shouted b-blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis // Lancet. – 2005. – **366**. – P. 1545–1553.
  17. StoupeL E. Cardiac arrhythmia and geomagnetic activity // Ind. Passing Electrophysiol. J. – 2006. – **6**, № 1. – P. 49–53.

Ю.А. Коряк

## Функциональные свойства нервно-мышечного аппарата человека и их изменения в результате механической разгрузки разной длительности

*Оценивали влияние «кратковременной» (1 и 3 сут) и «продолжительной» (7 сут) механической разгрузки, создаваемой «сухой» водной иммерсией, на функциональные свойства нервно-мышечного аппарата (на примере трехглавой мышцы голени – ТМГ). После 1 сут разгрузки изометрическая сила одиночного сокращения ( $P_{oc}$ ) уменьшилась на 8,7 %, после 3 и 7 сут увеличилась на 11,5 и 9,8 % соответственно. Максимальная произвольная сила (МПС) достоверно уменьшилась на 13,6, 19,7 и 33,8 %, электрически вызванная (частота 150 имп./с) сила сокращения ( $P_e$ ) несущественно уменьшилась на 1,8, 5,3 и 8,2 %, силовой дефицит ( $P_d$ ) увеличился на 23,4, 20,2 и 78,7 % после 1, 3 и 7 сут соответственно ( $P < 0,05-0,001$ ). После разгрузки время одиночного сокращения уменьшилось на 8,5, 3,3 % после 1 и 3 сут соответственно, но не изменилось после 7 сут. Время полурасслабления и общее время сокращения уменьшились на 13,8, 4,0 и 5,3 %, а общее время сокращения на 10,2, 11,3 и 2,8 % после 1, 3 и 7 сут разгрузки соответственно. Скорость нарастания произвольного сокращения, выраженная в относительной шкале, после разгрузки существенно увеличилась ( $P < 0,05-0,001$ ), но при электрически вызванном сокращении не изменилась. Работоспособность нервно-мышечного аппарата, оцениваемая при выполнении дозированного (2 мин) электрически вызванного ритмического теста существенно не отличалась от исходного физиологического состояния, но электрические ответы (М-ответы) значительно уменьшались. После «продолжительной» разгрузки М-ответы существенно уменьшаются по сравнению с сократительными ответами «кратковременной» разгрузки.*

*Ключевые слова: иммерсия, скелетная мышца, сократительные свойства, работоспособность, электрические ответы (М-ответ).*

### ВВЕДЕНИЕ

Нейромышечная система у человека и/или животных в фило- и онтогенезе развивается в условиях гравитационных сил Земли и организована применительно к действию этих сил. К сожалению, имеется недостаточно информации относительно влияния микрогравитации, что ограничивает понимание механизмов, ответственных за изменения функций данной системы. Имеющиеся данные, полученные в условиях микрогравитации, отчетливо показывают снижение сократительных свойств мышечного аппарата. Изучение механизма(ов),

лежащих в основе этих изменений, могло бы существенно продвинуть понимание роли гравитации в нейромышечной системе. Данная статья направлена на исследование нейромышечной функции у человека в модельных условиях микрогравитации.

Предполагалось, что длительное пребывание в условиях микрогравитации может существенно нарушить нейромышечную функцию. Позже данные выполненных исследований как после коротких, так и продолжительных космических полетов подтвердили эту точку зрения [9, 17, 23, 27, 39]. Однако ни одно из этих исследований не обеспечило определения

© Ю.А. Коряк

удельного вклада периферических (мышечных) или центральнонервных (координационных) факторов, определяющих и лимитирующих функциональные свойства нервно-мышечного аппарата (НМА) у человека в условиях микрогравитации.

Иммерсия интенсивно используется как модель для изучения влияния устранения гравитационной нагрузки на мышечный аппарат человека в условиях Земли. Влияние микрогравитации на сократительные свойства мышц у человека вызывает большой интерес, поскольку рассматривается как фактор, контролирующей их функцию. В предыдущем исследовании [25] мы показали, что продолжительная механическая разгрузка мышц-разгибателей стопы (жесткий постельный режим на протяжении 120 сут) или пребывание в условиях реальной невесомости (продолжительный космический полет более 120 сут) продуцируют увеличение силы и времени одиночного сокращения, уменьшение максимальной произвольной и электрически вызванной (частота 150 имп./с) тетанической силы сокращения. Мы постулируем, что изменения в механике одиночного сокращения, возможно, произошли из-за изменения кинетики потребления-высвобождения  $Ca^{2+}$  саркоплазматическим ретикуломом, а большее уменьшение максимальной произвольной силы (МПС) относительно электрически вызванной тетани-

ческой силы сокращения мышцы отражает снижение центральной нервной регуляции произвольного управления мышечным аппаратом как результат произвольной инактивации.

Целью настоящей работы было оценить функциональные свойства НМА на примере трехглавой мышцы голени (ТМГ) у людей, находящихся в условиях механической разгрузки в течение 1, 3 и 7 сут.

## МЕТОДИКА

Экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с Хельсинской Декларацией 1975 г. и обследованные после полной информации о задачах настоящего исследования дали письменное согласие на участие в нем. Программа исследований была одобрена комиссией по биоэтической этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

В обследовании приняли участие 20 здоровых мужчин-добровольцев, физическая характеристика которых представлена в табл. 1. Все они были разделены на три группы. Обследуемые первой группы ( $n = 8$ ) находились в условиях «сухой» водной иммерсии в течение 1 сут, второй группы ( $n = 6$ ) – 3 сут, и третьей группы ( $n = 8$ ) – 7 сут.

Добровольцы прошли специальный медицинский отбор, базировавшийся на анализе истории болезни, биохимических

Таблица 1. Физическая характеристика обследованных

Обследованные	Возраст, лет	Рост, см	Масса тела, кг		
			до	после	$\Delta$ , %
Первая группа («сухая» водная иммерсия, 1 сут; $n=8$ )	27,9±2,2 (21 - 39)	177,8±2,6 (168 - 189)	69,3±1,7 (64,5 – 77,0)	67,9±2,1 (61,1 – 77,0)	2,0
Вторая группа («сухая» водная иммерсия, 3 сут; $n=6$ )	28,0±3,7 (17 - 40)	172,7±2,5 (168 - 180)	66,3±1,5 (62,0 – 71,0)	64,3±1,3 (60,2 – 68,5)	3,0
Третья группа («сухая» водная иммерсия, 7 сут; $n=6$ )	22,7±3,5 (18 - 40)	176,3±2,5 (168 - 180)	68,5±2,4 (64,0 – 80,0)	66,6±2,3 (61,5 – 76,8)	3,1

показателях крови, электрокардиограммы в покое и при выполнении велоэргометрического нагрузочного теста. Все обследованные клинически были оценены как здоровые и находились в хорошем физическом состоянии и не употребляли медикаментозных средств, были некурящими и отличались высокой устойчивостью к ортостатической нагрузке и антиортостатическому (наклон головы  $-6^\circ$ ) положению тела. После обследования они были помещены в специальный бокс клинического отдела Института медико-биологических проблем.

### «Сухая» водная иммерсия

Для моделирования механической разгрузки мышечного аппарата в условиях Земли использовали модель «сухой» водной иммерсии [7]. Обследуемого помещали в специальную ванну в горизонтальном положении на свободноплавающую высокоэластическую тканевую пленку, отделяющую поверхность тела от воды. Продолжительность пребывания в таких условиях составляла 1, 3 и 7 сут. Температуру воды в ванне поддерживали на уровне  $33,4^\circ\text{C}$ . Обследованный постоянно оставался в горизонтальном положении, включая прием пищи и выделительные функции. Во время экспозиции обследованные находились под медицинским наблюдением на протяжении 24 ч.

Функциональные свойства периферического НМА оценивали дважды – до и после механической разгрузки, и протокол исследований был идентичным.

### Экспериментальная процедура

Для регистрации механических ответов ТМГ использовали метод тендометрии [2]. Экспериментальная процедура и установка для регистрации электрических ответов и механического ответа ТМГ у человека в условиях *in situ* в деталях описана ранее [2, 25]. Коротко, испытуемый удобно располагался в специальном кресле в стандартной позиции – угол в тазобедрен-

ном, голеностопном и коленном суставах составлял примерно  $90^\circ$ . Динамометр с наклеенными на нем тензодатчиками плотно прижимали к ахиллову сухожилию мышц. Механическая деформация динамометра при сокращении мышцы преобразовывалась в электрические сигналы, и после усиления аппаратом (тип «АНЧ-7м», СССР) регистрировали на светолучевом осциллографе (тип «К-115», СССР). Динамометр до и после исследования калибровали, нагружая его массой 5 кг.

*N. tibialis* электрически стимулировали прямоугольными супрамаксимальными (+ 40 %) импульсами длительностью каждого 1 мс. Активный монополярный электрод (диаметр 1 см) устанавливали в подколенной ямке на *n. tibialis*, пассивный (размером 6 x 4 см) – на нижней трети передней поверхности бедра. Электрические импульсы подавали от нейромышечного стимулятора (тип «ЭСУ-1», СССР) через изолирующую приставку.

По тендограмме изометрического одиночного сокращения мышцы, в ответ на одиночный электрический импульс, нанесенный на *n. tibialis*, измеряли силу одиночного сокращения ( $P_{oc}$ ), а также определяли время достижения пика одиночного сокращения (ВОС), время от пика сокращения до половины его расслабления (время полурасслабления –  $1/2$  ПР) и время от артефакта раздражения до полного расслабления мышцы (общее время сокращения – ОВС).

Динамику развития «внутренней» силы сокращения мышечных волокон ТМГ определяли методом парного раздражения [14], когда второй супрамаксимальный стимул подавали с интервалом 3, 4, 5, 10, 20 и 50 мс после первого [2] и определяли максимальную силу амплитуды суммированного ответа мышцы. Максимальную силу (амплитуду) сокращения мышцы выражали в процентах от  $P_{oc}$ .

Максимальную изометрическую силу

тетанического сокращения ( $P_0$ ) регистрировали в ответ на стимуляцию *n. tibialis* с частотой 150 имп./с [2]. По разнице между МПС и  $P_0$ , отнесенной к  $P_0$  и выраженной в процентах определяли силовой дефицит ( $P_d$ ). Тетанический индекс (ТИ) определяли отношением амплитуд  $P_{oc} / P_0$ .

После отдыха (30 с) участников эксперимента инструктировали, как реагировать на звуковой сигнал – «сократить максимально сильно». У каждого из них регистрировали обычно от двух до трех произвольных максимальных сокращений. Во время сокращения они могли контролировать развиваемое усилие по стрелке динамометки. Наибольшую из трех попыток (интервал отдыха 1 мин) принимали за МПС.

Обследованных также тщательно инструктировали, как реагировать на звуковой сигнал – «сократить максимально быстро и сильно». В кривой сила–время определяли время развития изометрического напряжения от начала сокращения мышцы до достижения относительного уровня силы, т.е. время развития напряжения до 25, 50, 75 и 90 % от максимума [2]. Аналогично определяли время развития электрически вызванного сокращения мышцы в ответ на электрическое раздражение *n. tibialis* с частотой 150 имп./с [2].

Работоспособность НМА исследовали при выполнении дозированной серии из 60 ритмических изометрических (1 с) электрически вызванных (частота 50 имп./с) сокращений разделенных паузой отдыха той же длительности в течение 2 мин [4]. Частота стимуляции 50 имп./с – это физиологическая частота, с одной стороны, близкая к частоте активации мышечных волокон во время начального развития сильного произвольного сокращения [11, 30], а с другой – частота, позволяющая развивать максимальную силу сокращения мышцы [2]. Утомляемость (работоспособность) периферического НМА оценивали по показателю индекса утомления (ИУ) – отношению (в процентах) средней силы 5

последних сокращений к средней силе 5 первых сокращений [4].

Электрическую активность мышцы регистрировали биполярными Ag-AgCl поверхностными электродами (диаметр 8 мм, межэлектродное расстояние 23 мм). Электроды располагали ниже, приблизительно на 3 см, начала головок *m. gastrocnemius* вдоль средней линии *m. soleus*. Место под электродами тщательно обрабатывали так, что межэлектродное сопротивление составляло менее 5,000  $\Omega$ . Потенциалы действия (ПД) усиливали прибором (тип «УБП-1-02», СССР) с полосой пропускания 1,0–250 Гц с последующей записью на регистрирующем осциллографе (тип «К-115», СССР) и для визуального контроля на экране запоминающего осциллографа (тип «С8-9А», СССР). Большой пластинчатый электрод (7,5 x 6,5 см) заземления устанавливали в проксимальной части большеберцовой кости.

Поверхностный потенциал действия (ППД) анализировали как по амплитуде отдельных электрических ответов – М-ответов [«от пика до пика»] [1, 38], так и по амплитуде, длительности и площади негативной фазы ППД [6] в конце 1-, 3-, 5-, 31-, 61-, 91- и 121-й секунды от начала тетанизации нерва. Для определения относительной степени изменения сократительного (С) и электрического (Э) ответов мышцы в результате утомления вычисляли Э/С [33], где Э – отношение амплитуды электрического пост-рабочего М-ответа к пре-рабочему М-ответу, а С – отношение пост-рабочего к соответствующему пре-рабочему механическому ответу ТМГ. Э/С – отношение определяли в конце 1-, 3-, 5-, 7- и 121-й секунды от начала тетанизации нерва [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

После разгрузки в течение 1, 3 и 7 сут средняя масса тела была снижена на 2,0, 3,0 и 3,1 % соответственно без существенных различий между группами (см. табл. 1).

**Разгрузка и сократительные свойства**

*Силовые свойства.* Средние результаты изменений силы сокращения ТМГ графически представлены на рис. 1,а. Следует отметить существенное уменьшение силовых свойств мышцы. Так, изометрическая  $P_{oc}$  после 1-суточной разгрузки уменьшилась в среднем на 8,7 % и слегка увеличилась после 3- и 7-суточной разгрузки (на 9,9 и 10,4 %, соответственно).

У всех обследованных уменьшалась МПС, и чем продолжительнее была разгрузка, тем больше она изменялась. Так, после 1-, 3- и 7-суточной разгрузки МПС снижается на 11,5, 19,7 и 33,8 % ( $P < 0,05-0,01$ ) соответственно, тогда как  $P_0$  несущественно изменялась по отношению к контролю (1,8, 5,3 и на 8,2 % соответственно; см. рис. 1). Значение  $P_d$ , показателя, количественно характеризующего центральную (нервную) команду произвольного управления мышечным аппаратом, после 1-, 3- и 7-суточной разгрузки увеличилось в среднем на 23,4, 20,2 и 78,7 % ( $P < 0,05-0,001$ ) соответственно (см. рис. 1, 2).

Изменение силы сокращения ТМГ в зависимости от межимпульсного интервала при парной стимуляции моторного нерва графически представлено на рис. 3. Как следует из анализа результатов, наибольшая изометрическая сила сокращения ТМГ

в ответ на парное раздражение, когда второй стимул наносили через 3, 4, 5, 10, 20 и 50 мс после первого, отмечается при интервалах между импульсами 4–20 мс и независимо от продолжительности разгрузки не обнаруживает существенных изменений. Уменьшение или увеличение межимпульсного интервала сверхуказанных значений сопровождается существенным уменьшением силы ( $P < 0,01-0,001$ ), не изменяя общей тенденции развития напряжения мышцы. Одновременно изменялся характер расположения кривых при одном и том же межимпульсном интервале: относительный прирост силы сокращения ТМГ после разгрузки при одном и том же межимпульсном интервале был значительно больше по сравнению с контрольным значением ( $P < 0,05-0,01$ ), особенно отчетливо это увеличение выражено после 3-суточной разгрузки.

*Скоростные свойства.* Как следует из анализа полученных результатов (рис. 4), разгрузка мышечного аппарата сопровождается увеличением скорости сокращения и расслабления мышцы. Так, после 1- и 3-суточной разгрузки ВОС уменьшилось на 8,5 ( $P < 0,05$ ) и 3,3 %. После 7-суточной разгрузки существенных изменений в кривой развития ВОС не обнаружено.

Время 1/2 ПР и ОВС после 1, 3 и 7 сут

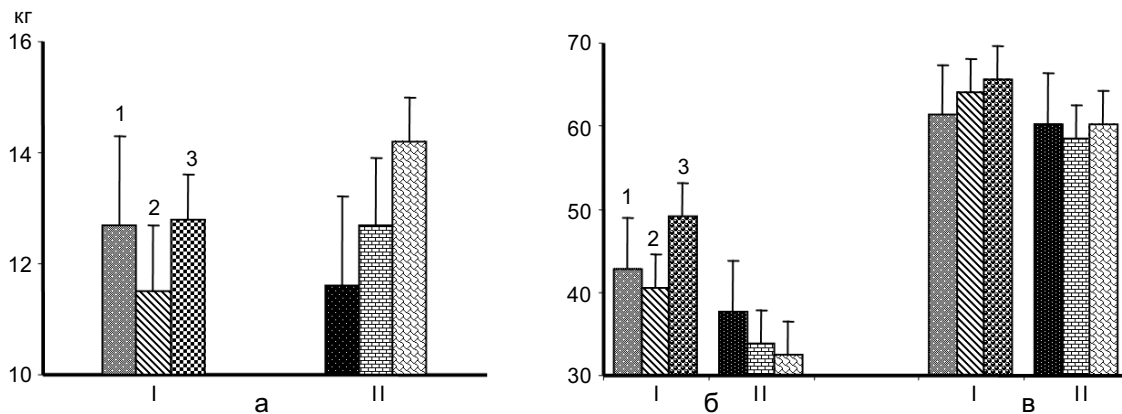


Рис. 1. Влияние разгрузки на силу одиночного сокращения (а), максимальную произвольную силу (б) и электрически вызванного тетанического сокращения (в) трехглавой мышцы голени I – до, II – после иммерсии: 1 – 1 сут, 2 – 3 сут, 3 – 7 сут



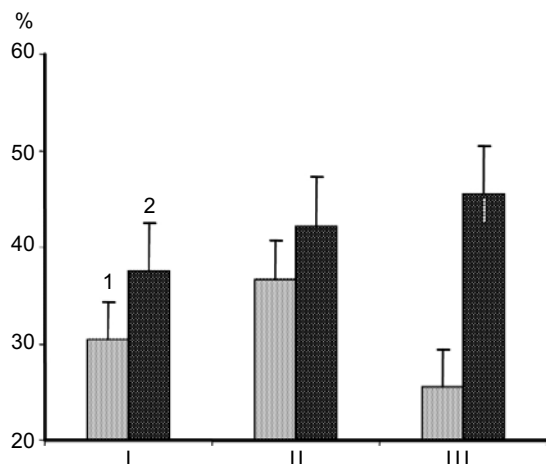


Рис. 2. Изменение значения силового дефицита под влиянием разгрузки разной продолжительности: I – 1 сут, II – 3 сут, III – 7 сут; 1 – до, 2 – после иммерсии

разгрузки также уменьшались: 1/2 ПР снизилось на 13,8 ( $P < 0,05$ ), 4,0 и 5,3 %, а ОВС – на 10,2, 11,3 ( $P < 0,05$ ) и 2,8 % соответственно.

ТИ (см. рис. 5) после 1 и 7 сут иммерсии в среднем увеличился на 7,1 и 10,5 % ( $P < 0,05$ ), а после 3 сут – уменьшился на 2,6% ( $P < 0,05$ ).

**Скоростно-силовые свойства.** Снижение МПС после разгрузки сопровождалось существенным замедлением времени (обратная величина скорости) развития произвольного изометрического сокращения мышцы. Анализ развития произвольного сокращения мышцы показал более

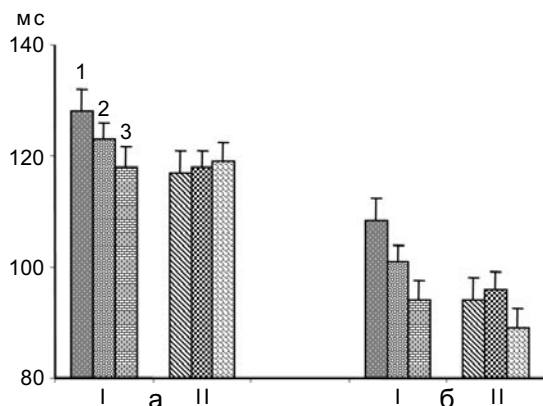


Рис. 4. Влияние разгрузки разной продолжительности на скоростные свойства трехглавой мышцы голени: а – время одиночного сокращения, б – полурасслабление, в – общее время сокращения: I – до, II – после иммерсии; 1 – 1 сут, 2 – 3 сут, 3 – 7 сут

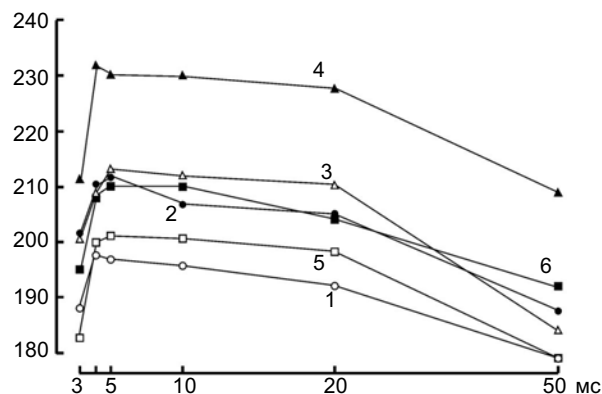


Рис. 3. Изменение максимальной силы изометрических сокращений трехглавой мышцы голени при парном раздражении с разными межимпульсными интервалами под воздействием разгрузки разной продолжительности: 1 – до, 2 – после 1 сут, 3 – до, 4 – после 3 сут, 5 – до, 6 – после 7 сут

выраженное замедление скорости развития по мере увеличения общего времени разгрузки.

На форме кривых сила–время электрически вызванных тетанических сокращений ТМГ как до, так и после разгрузки, не обнаружено существенных различий.

### Разгрузка и утомляемость (работоспособность)

**Утомление и сила сокращения.** Влияние разгрузки на локальную работоспособность периферического НМА при выполнении дозированной (длительностью 2 мин)

электрически вызванной (частота 50 имп./с) ритмической мышечной работы иллюстрирует рис. 6.

Значение  $P_0$  градуально уменьшается, составляя 55-56 % – 56-59 % от исходной. При этом динамика развития утомления после разгрузки существенно не отличается от контрольной: ИУ составил 20–39 и 36–43 % соответственно ( $P > 0,05$ ). Анализ кривых изменения сократительной активности мышцы (на примере 7-суточной разгрузки) выявил бифазный характер ответа, и каждая последующая фаза снижения силы сокращения мышцы характеризуется своей динамикой. Так, более быстрое снижение отмечается на 30–31-й секунде (17–18 %) с относительным замедлением на 60–61-й секунде (8–9 %), затем отмечается вновь некоторое возрастание скорости снижения силы сокращения на 90–91-й секунде (11–12 %) с замедлением ее на последнем участке кривой (3–7 %).

*Утомление и электрические процессы.*

Анализ динамики силы сокращения мышцы после разгрузки разной продолжительности при выполнении локальной статической работы одинаковой интенсивности не выявил существенных изменений при развитии периферического утомления, что не позволяет оценить вклад электрических и меха-

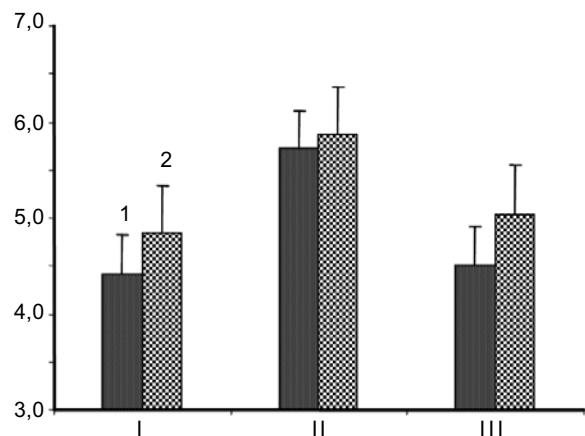


Рис. 5. Изменение тетанического индекса до (1) и после (2) разгрузки разной продолжительности: I – 1 сут, II – 3 сут, III – 7 сут

нических изменений в процессе развития утомления мышцы, допуская, что утомление не было большим после разгрузки (см. рис. 6). Однако этот феномен не ассоциируется с соответствующими изменениями показателей электрических ответов мышцы и позволяет предполагать, что электрическое нарушение в мышце было большим после разгрузки, что и обусловило снижение продукции силы сокращения мышцы.

Наши результаты показали, что после разгрузки мышцы электрические процессы, зарегистрированные во время ритмических сокращений, изменяются по сравнению с контролем. После 7 сут разгрузки амплитуда негативной фазы ППД уменьшилась на 14,6 % ( $P < 0,01$ ) и увеличивалась длительность на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), а площадь ППД уменьшилась на 2,8 % (табл. 2).

Относительное уменьшение сократительного и электрических ответов (М-ответа) можно определить по изменению М-ответа «рабочей» мышцы к сократительному ответу тестового сокращения

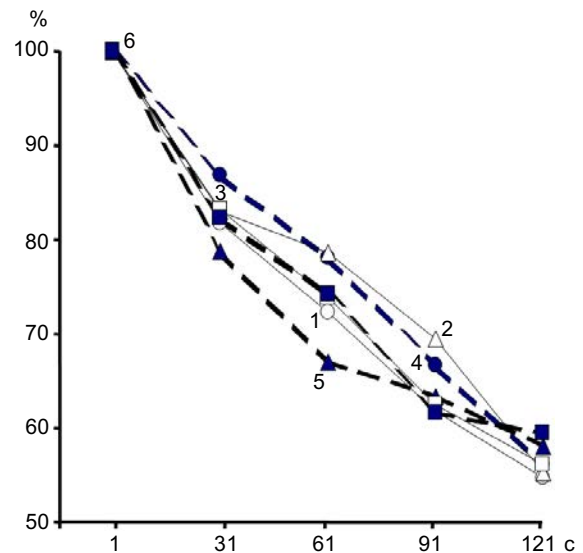


Рис. 6. Изменение силы сокращения трехглавой мышцы голени во время 60 односекундных ритмических электрически вызванных сокращений (частота 50 имп./с) с односекундным интервалом отдыха между сокращениями до и после разгрузки разной продолжительности: 1 – 1 сут, 2 – 3 сут, 3 – 7 сут до разгрузки, 4, 5, 6 – после разгрузки соответственно

Таблица 2. Электрические свойства мышцы (*m. soleus*) у человека ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Схема опыта	Поверхностный потенциал действия		
	Амплитуда, мВ	Длительность, мс	Площадь, мВ · мс
Контроль	$4,1 \pm 0,6$	$10,4 \pm 1,0$	$21,6 \pm 3,6$
После иммерсии	$3,5 \pm 0,5^*$	$12,8 \pm 0,7^*$	$21,0 \pm 3,4^*$
$\Delta$ , %	14,6	23,1	2,8

\* $P < 0,01$ 

ТМГ (Э/С–отношение), что позволяет в известной мере выявить удельную роль утомления «электрогенного» или «сократительного» звеньев в развитии периферического утомления НМА (см. рис. 7). Судя по Э/С–отношению электрические ответы после работы уменьшились относительно больше, чем сила тестового сокращения мышцы. Однако пострабочая динамика Э/С–отношения после «короткой», «средней» и «продолжительной» разгрузки при довольно близких изменениях силы тестового сокращения и амплитуд М-ответов ТМГ (*m. soleus*) существенно отличается. После «средней» и «продолжительной» (в нашем случае 3 и 7 сут) разгрузки отмечается относительно большее уменьшение электрических М-ответов,

чем сократительного ответа по сравнению с более «коротким» воздействием (1 сут). Таким образом, удельная роль «сократительных» и «электрогенных» звеньев в развитии утомления периферического НМА после разгрузки разной продолжительности неодинакова. При «средней» и «продолжительной» разгрузке уменьшение Э/С–отношения может указывать на относительно большее утомление «электрогенных» звеньев в развитии периферического утомления, чем после «короткой» разгрузки. Причем уже в течение первых 5 с тестового сокращения отмечается относительно большее снижение сократительных ответов, чем электрических М-ответов (см. рис.7).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Это первое исследование с количественной оценкой в условиях *in situ* изменений функциональных свойств НМА человека после механической разгрузки. Полученные результаты подтверждают и расширяют сведения об относительном влиянии разгрузки (неупотребления) на механические характеристики ТМГ [25, 26]. Показано, что медленно сокращающаяся ТМГ [3, 8, 35], быстро подвергается влиянию механической разгрузки – после 1-суточной разгрузки  $P_{oc}$  снизилась приблизительно на 9 %. Вероятным объяснением этого может быть уменьшение скорости возврата ионов кальция из миофибриллярного пространства [13]. Распад произошел бы быстрее, если скорость возврата  $Ca^{2+}$  в саркоплазматический ретикулумом

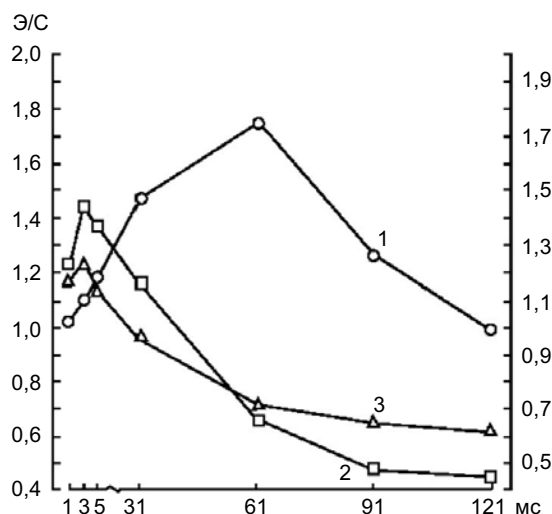


Рис. 7. Изменения отношений электрических ответов мышцы к сократительному ответу (Э/С–отношение) во время 60 ритмических (длительность 1 с) электрически вызванных (50 имп./с) сокращений трехглавой мышцы голени после 1 (1), 3 (2) и 7 сут (3) разгрузки

(СР) в результате разгрузки увеличилась. Такая скорость высвобождения  $Ca^{2+}$  из миофибриллярных белков способствует уменьшению ВОС и продуцированию меньшей  $P_{oc}$ . Тенденцию увеличения  $P_{oc}$  во время 3- и 7-суточной разгрузки трудно этим объяснить, но крайне интересно, поскольку показатели одиночного сокращения определяются не только изменениями в СР, но и отражают ферментативную активность мышцы [22].

Уменьшение ВОС и 1/2 ПР ТМГ после разгрузки, особенно «кратковременной», согласуется с ранее полученными данными, что отдых (неупотребление) способствует увеличению скорости сокращения мышц [42, 46]. Уменьшение ВОС ТМГ могло быть отчасти из-за более низкого значения развиваемой  $P_{oc}$  мышцы. Можно предположить, что увеличение скорости сокращения мышцы связано, по крайней мере, с одним из двух механизмов – изменением скорости высвобождения-потребления  $Ca^{2+}$  из СР и/или, изменением некоторых кинетических показателей цикла образования акто-миозиновых мостиков. Согласно полученным результатам, интенсивность развития активного состояния после разгрузки была значительно увеличена (см. рис. 3), что указывает на увеличенную способность сократительного аппарата к мобилизации резервов [43]. Показано, что сократительный процесс больше связан с концентрацией  $Ca^{2+}$  [41].

Более того, уменьшение ВОС ТМГ может указывать на изменение в популяции мышечных волокон ТМГ. Обнаружено, что 5-суточное пребывание в условиях реальной невесомости (космический полет) уменьшает процентное содержание волокон типа I на 14 % [17] и увеличивает – типа II (на 11 %). Относительно большая атрофия медленных моторных единиц, которые составляют большинство ТМГ [24], приведет к уменьшению  $P_{oc}$  и увеличит относительный вклад быстрых, высокопороговых,

моторных единиц и в результате уменьшится ВОС. Альтернативно, наблюдаемое изменение ВОС может следовать из измененного СР, поскольку функциональная его емкость показывает высокую отрицательную корреляцию с ВОС [13]. Другой возможной причиной уменьшения ВОС может быть увеличение жесткости системы после разгрузки [19]. Последнее, подтверждается увеличением ТИ (см. рис. 7).

Изменения максимальной тетанической изометрической силы ( $P_o$ ) были значительно меньше по сравнению с описанными  $P_{oc}$ . Средние изменения после 1-, 3- и 7-суточной разгрузки составили -1,8, -5,3 и -8,2 % соответственно (см. рис. 1).  $P_o$  – показатель способности мышцы генерировать силу и прямо отражает число активных взаимодействий актиновых и миозиновых нитей [15]. Наши результаты показали, что «короткая» и «продолжительная» разгрузка несущественно уменьшает  $P_o$  ТМГ [3, 8, 26]. Это может указывать, что после разгрузки общее число и плотность активных поперечных мостиков не было уменьшенным.

Большие изменения МПС по сравнению с  $P_o$  после разгрузки (см. рис. 1) согласуются с литературными данными [25, 26] и позволяют предполагать либо на нежелание, либо на возможность обследованных выполнить задание «развить МПС». Намного большее и прогрессивное снижение МПС по сравнению с незначительным изменением  $P_o$  после разгрузки указывает на неспособность центральной нервной системы активизировать ТМГ, и увеличение  $P_d$  (см. рис. 2) поддерживает нашу точку зрения о снижении моторного контроля нервной системой в управлении произвольным движением. Может ли это быть из-за недостатка мотивации со стороны обследованного, или ненамеренного снижения активности нервной системы, трудно различить, хотя наши обследуемые были высокомотивированы и

не имели никакого дискомфорта при выполнении задания «развить МПС», что могло бы отразиться на развиваемой МПС.

Кривые сила–время ТМГ при электрически вызванном и произвольном сокращении определяли, как описано ранее [2, 25], и анализ полученных результатов показал, что после разгрузки скорость развития силы при произвольном сокращении замедляется без существенных изменений в кривой развития электрически вызванного тетанического сокращения. Последнее согласуется с наблюдениями некоторых авторов [46] об относительно постоянной механике тетанического сокращения и современной теории (поперечных мостиков) мышечного сокращения [40]. Исходя из посылки, что форма кривой сила–время, восходящая фаза изометрического тетанического сокращения, определяется числом и, главным образом, скоростью образования и разрыва поперечных мостиков [40]. Итак, форма кривой сила–время, вероятно, управляется отношением образования и разрыва поперечных мостиков [34, 40], поэтому можно предположить, что их цикличность мало изменяется (или совсем не изменяется) под воздействием разгрузки.

Большее изменение скорости развития произвольного изометрического сокращения ТМГ по сравнению с электрически вызванным сокращением в результате разгрузки (см. рис. 6), позволяет предполагать, что способность центральной нервной системы активизировать мышечный аппарат снижена, возможно, разгрузка затрагивает характер центрального управления, в частности уменьшением максимальной частоты импульсации без изменения в скорости рекрутирования и некоторые авторы [16] связывают это с тем, что при разгрузке ограничивается модуляция частоты моторной единицы. Снижение максимальной частоты импульсации могло быть в связи с изменениями в проприорецептивных афферентах мото-

нейронов [31] и/или уменьшенной способности активизировать моторные единицы [36], что подтверждается снижением потенцирования рефлекса после разгрузки, которая контролируется центральным драйвом [44]. Кроме того, снижение максимальной мощности после пребывания в условиях невесомости (функциональная разгрузка), некоторые авторы [9], связывают с влияниями невесомости на паттерн рекрутирования фракции высокопороговых моторных единиц, обеспечивающих максимальную «взрывную» мощность.

Действительно, как показано, порядок рекрутирования низко- и высокочастотных моторных единиц может быть изменен блокадой активности проприорецептивных афферентов [20], а во время произвольного сокращения при применении поверхностной электрической стимуляции [18]. Эти данные прямо подтверждают, что проприорецептивные входы играют важную роль в рекрутировании моторной единицы, как во время произвольного (сильного) сокращения, так и во время произвольных («взрывных») сокращений. Можно предположить, что паттерн афферентного входа на мотонейронный пул может быть измененным во время разгрузки и это изменение может частично быть ответственным за прогрессивное уменьшение частоты импульсации моторной единицы.

Результаты механического ослабления (утомления) мышцы во время ритмических сокращений показывают, во-первых, что скорость (градиент) снижения силы сокращения ТМГ во время выполнения теста на утомление до и после разгрузки не различается, во-вторых, корреляционная связь электрических и механических ответов мышцы указывает, что определенная роль утомления «электрогенных» и «сократительных» элементов нейромышечной системы была изменена во время развития периферического утомления: отмечается снижение амплитуды, увеличение длительности и уменьшение площади М-ответов,

свидетельствующее об изменении генерации ПД мышечных волокон.

Наблюдаемое в нашем исследовании отсутствие различий в снижении силы сокращения мышцы до и после разгрузки согласуется с ранее полученными данными [45] и поддерживают точку зрения Мертона [32], что периферические механизмы играют важную роль в снижении силы мышечного сокращения при утомлении, возможно, в результате ослабления возбудимости мышечных волокон.

Как уже указывалось, снижение силы сокращения мышцы во время ритмического теста на утомление было сходным до и после разгрузки. Значит можно предположить, с одной стороны, что развитие периферического утомления нельзя объяснить непосредственно изменениями в сократительном звене НМА, а с другой, что одним из компонентов (если не единственной причиной) развития периферического утомления могут быть нарушения в «электрогенном» его звене.

Возможными причинами периферического утомления могут быть изменения в состоянии «электрогенного» звена НМА, включающего снижение скорости распространения ПД вдоль моторных нервных терминалей [28], в нервно-мышечном синапсе [28] и электрогенной мембране мышечного волокна [10, 12, 28]. Блокирование ПД волокна во время возбуждения указывает на ослабление возбудимости и блокированию неизменно предшествуют изменения основных параметров ППД волокна.

Интегральным показателем состояния «электрогенного» звена НМА может быть величина (амплитуда) М-ответа. Суждение о наличии уменьшения (утомления) в «электрогенном» звене НМА в значительной мере связано с выбранным тестовым показателем. Мертон [32], не обнаружив снижения амплитуд тестовых одиночных электрических М-ответов после мак-

симальной произвольной изометрической работы, сделал вывод об отсутствии нарушений в нервно-мышечной синаптической передаче. Тогда как Нэсс и Шторм-Матсен [33] обнаружили снижение амплитуд М-ответов в тетаническом ряду.

Снижение амплитуды тестовых М-ответов может быть следствием усиления десинхронизации вызванных ПД мышечных волокон утомленной мышцы, что само по себе не говорит о блоке в нервно-мышечной синаптической передаче и/или нарушениях в процессе генерации ПД мышечными волокнами. Уменьшение М-ответов в ритмическом ряду указывает на истинное снижение электрической активности мышцы.

Э/С-отношение позволяет в известной мере определить удельную роль «электрогенного» и «сократительного» звеньев в развитии периферического утомления. Анализ Э/С-отношения показал, что во время выполнения одинаковой по интенсивности локальной дозированной статической работы после иммерсии разной продолжительности могут возникать неодинаковые изменения в состоянии «электрогенного» и «сократительного» звеньев периферического НМА (см. рис. 7).

Эти результаты не противоречат вышеуказанному обсуждению, поскольку интерпретация Э/С-отношения предполагает линейную связь между механическими ответами мышцы, но связь между электромиограммой и утомлением на самом деле может нарушаться [29]. Утомленные мышечные волокна могут генерировать ПД с меньшей частотой, чем частота раздражения («пропуски»). Причем в некоторых пределах уменьшение частоты ответов может не влиять на силу тетанического сокращения мышечных волокон [21]. В результате возможно относительно большее снижение значения суммарных М-ответов утомленной мышцы (без уменьшения частоты их появления), чем силы ее сокращения.

Во время электрически вызванного сокращения, уменьшение силы сокращения мышцы не может компенсироваться модуляцией частоты разряда импульсации моторных единиц, оказывая существенное влияние на силу тетанического сокращения мышечного волокна [47]. Однако сниженный ПД отдельных мышечных волокон в результате утомления мышцы, тем не менее, может запускать нормальное сокращение волокон [21], поскольку нормальный ПД мышечного волокна в несколько раз превышает пороговое значение, необходимое для активации сократительного аппарата [37]. Поэтому уменьшенные в результате утомления ПД могут тем не менее запускать нормальное сокращение волокон.

Таким образом, результаты настоящей работы допускают, что функциональные свойства НМА во время разгрузки снижаются и эти изменения определяются не только периферическими электрическими и механическими процессами, но также изменяется нервная команда. Они демонстрируют, что разгрузка затрагивает функции мотонейронов и что нервный компонент является лимитирующим фактором в снижении МПС. Кроме того, сравнение периферических электрических и механических изменений в результате локальной дозированной ритмической электрически вызванной работы до и после разгрузки мышечного аппарата, поддерживает предположение, что электрические изменения недостаточно тесно управляют механическим ослаблением и что на периферических участках электрическое ослабление является большими после разгрузки. Эти результаты связаны с изменением мембранных ионных процессов и, по-видимому, играют доминирующую роль в механическом ослаблении, зарегистрированном в разгруженных мышцах

*Автор выражает искреннюю благодарность всем врачам клинического отдела ГНЦ РФ – ИМБП РАН (зав. отде-*

*лом Ю.И. Воронков) и лично Е.И. Доброквашиной за участие в отборе добровольцев. Особую благодарность и признательность автор выражает всем обследованным, без которых невозможно было бы получить фактический материал.*

**Yuri Koryak**

#### **PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS TO WEIGHTLESSNESS: THE CONTRACTILE PROPERTIES AND FATIGUABILITY OF THE HUMAN TRICEPS SURAE MUSCLE AFTER EXPOSURE TO SIMULATED MICROGRAVITY ENVIRONMENTS**

This study examined the effects of short- (1-, and 3-day) and long-term (7-day) 'dry' immersion (DI) on neuromuscular function of human the triceps surae muscle. The isometric twitch tension ( $P_i$ ) decreased by 8.7% after 1-days, but increased by 11.5 and 9.8 % after 3- and 7-days DI, respectively. Maximal voluntary contraction (MVC) decreased by 13.6, 19.7, and 33.8 % after 1-, 3-, and 7-days DI, respectively ( $p < 0.05-0.01$ ), electrically evoked (frequency of 150 impulses $\cdot$ s $^{-1}$ ) tetanic tension ( $P_o$ ) reduced by 1.8, 5.3, and 8.2 %, respectively, (nonsignificant). The difference between  $P_o$  and MVC expressed as a percentage of  $P_o$  and referred to as force deficiency ( $F_d$ ) was also calculated.  $F_d$  increased by 23.4, 20.2, and 78.7 % after 1-, 3-, and 7-days, respectively ( $p < 0.05-0.001$ ). After DI, the time-to-peak tension (TPT), half-relaxation time (1/2 RT), and total contraction time (TCT) was reduced. The TPT decreased by a mean value of 8.5, and 3.3 % after 1- and 3-days, respectively, and after 7-day did not reveal significant changes in the curve of the TPT. 1/2 RT and TCT was shorter in the post-immersion condition than in the control value. The rate of increase of voluntary contraction calculated according to relative scale was significantly reduced after DI ( $p < 0.05-0.001$ ), but for the electrically evoked contraction (frequency of 150 impulses $\cdot$ s $^{-1}$ ) there were no substantial changes from the initial physiological state. A standard 2-min fatigue of electrically-induced intermittent test (frequency of 50 impulses $\cdot$ s $^{-1}$ ) did not differ substantially from the initial physiological state, but the electrical M-waves reduced significantly. The relative extent of the decline in either of these two parameters can be determined from the change in the relation of the electrical M-wave to the contractile response (the E/C ratio). After long-term DI (7 day) of muscle a significantly greater decline of electrical waves is observed as compared to contractile response by a short-term DI (1-, and 3-day), respectively.

*State Scientific Center - Institute of Biomedical Problems; Department of Neurophysiology and countermeasures, Moscow, Russia*

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Бадалян Л.О., Скворцов И.А. Клиническая электро-

- миография. – М.: Медицина, 1986. – 386 с
2. Коряк Ю.А. Методы исследования нейромышечной системы у спортсменов. – М.: ИМБП, 1992. – 63 с.
  3. Коряк Ю.А. Сравнение сократительных свойств мышц нижних конечностей у человека // Физиол. журн. – 1994. – **40**. – С.30–38.
  4. Коряк Ю.А., Поляков В.В., Поцепаев А.И., Мартянов В.А. Исследование динамической работоспособности периферического нервно-мышечного аппарата спортсменов. – В кн.: Физиологические основы управления движениями. – М.: ВНИИФК, 1975. – С. 73–74.
  5. Коц Я.М., Кузнецов С.П. Методика оценки “анаэробной” работоспособности периферического нервно-мышечного аппарата у спортсменов // Теория и практика физ. культуры. – 1971. – № 10. – С. 24–29.
  6. Скворцов И.А. Электронейромиография. Методика. Динамика показаний в онтогенезе. – В кн.: Клинико-электронейромышечное изучение нервно-мышечных заболеваний и синдромов. – 1981. – С. 37–71.
  7. Шульженко Е.В., Виль-Вильямс И.Ф. Возможность проведения длительной водной иммерсии методом «сухого» погружения // Косм. биология и авиакосм. медицина. – 1976. – **10**. – С. 82–84.
  8. Always S.E., Sale D.G., MacDougall J.D. Twitch contractile adaptations are not dependent on the intensity of isometric exercise in the human triceps surae // Eur. J. Appl. Physiol. – 1990. – **60**. – P. 346–352.
  9. Bachl N., Tschan H., Baron R., Kozlovskaya I.B., Koryak Yu., Mossaheb M., Albrecht R. Muscular deconditioning during long-term spaceflight exercise recommendations to optimize crew performance // 12<sup>th</sup> Man in Space Symposium: The future of humans in space symposium. Washington, DC, 1997. – P. 303.
  10. Bezanlilla F., Caputo C., Gonzalez-Serratos H., Venosa R.S. Sodium dependence of the inward spread of activation in isolated twitch muscle fibers of the frog // J. Physiol. – 1972. – **223**. – P. 507–523.
  11. Bigland-Ritchie B.R., Johansson R., Lippold O.C.J., Smith S., Woods J.J. Changes in motoneurone firing rates during sustained maximal voluntary contractions // Ibid. – 1983. – **340**. – P. 335–346.
  12. Bigland-Ritchie B.R., Jones D.A., Woods J.J. Excitation frequency and muscle fatigue: electrical responses during human voluntary and stimulated contraction // Exp. Neurol. – 1979. – **64**. – P. 414–427.
  13. Briggs F.N., Poland J.L., Solard R.J. Relative capabilities of sarcoplasmic reticulum in fast and slow mammalian skeletal muscle // J. Physiol. – 1977. – **266**. – P. 587–594.
  14. Buller A.J., Lewis D.M. The rate of tension development in isometric tetanic contractions of mammalian fast and slow skeletal muscle // Ibid. – 1965. – **176**. – P. 337–354.
  15. Close R. Dynamic properties of mammalian skeletal muscle // Physiol. Rev. – 1972. – **52**. – P. 129–197.
  16. Duchateau J, Hainaut K. Effects of immobilization on contractile properties recruitment and firing rates of human motor units // J. Physiol. – 1990. – **422**. – P. 55–65.
  17. Edgerton V.R., Zhou M.Y., Ohira Y., Klitgaard H., Jjang Bell B., Harris B., Saltin B., Gollnick P.D., Roy R.R., Day K., Greenisen M. Human fiber size and enzymatic properties after 5 and 11 days of spaceflight // J. Appl. Physiol. – 1995. – **78**. – P. 1733–1739.
  18. Garnett R., Stephens J.A. Changes in the recruitment threshold of motor units produced by cutaneous stimulation in man // J. Physiol. – 1981. – **311**. – P. 463–473.
  19. Goldspink G. Tabary C, Tabary J.C., Tardien C., Tardien G. Effect of denervation on the adaptation of sarcomere number and muscle extensibility to functional length of the muscle // Ibid. – 1974. – **236**. – P. 733–742.
  20. Grimby L., Hannerz J. Disturbance in voluntary recruitment order of low and high frequency motor units on blockades of proprioceptive afferent activity // Acta Physiol. Scand. – 1976. – **96**. – P. 207–216.
  21. Hansen J.W. Effects of repetitive stimulation on membrane potentials and twitch in human and rat intercostal muscle fibers // Ibid. – 1974. – **92**. – P. 238–248.
  22. Houston M.E., Bentzen H., Larsen H. Interrelationships between skeletal muscle adaptations and performance as studied by detraining and retraining // Ibid. – 1979. – **105**. – P. 163–170.
  23. Jaweed M.M., Narayan P., Slopis J., Butler I. Isometric muscle force and fatigue changes in astronauts after 9 days of space flight. – In: American congress of rehabilitation medicine. – Washington DC, 1991. – P.
  24. Johnson M.A., Polgar J., Weightman D, Appleton D. Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study // J. Neurol. Sci. – 1973. – **18**. – P. 111–129.
  25. Koryak Yu. Contractile properties of the human triceps surae muscle during simulated weightlessness // Eur. J. Appl. Physiol. – 1995. – **70**. – P. 344–350.
  26. Koryak Yu. Mechanical and electrical changes in «dry» immersion human muscle // Eur. J. Appl. Physiol. – 1996. – **74**. – P. 136–140.
  27. Koryak Yu., Siconolfi S.F., Kozlovskaya I.B., Gilbert J.H., Layne C.S. Maximal voluntary (MVC), tetanic (P) and single twitch (P) contractions before & after space flight // FASEB J. – 1997. – P. A1408.
  28. Krnjevic K., Miledi R. Failure of neuromuscular propagation in rats // J. Physiol. – 1958. – **140**. – P. 440–461.
  29. Lindstrom L., Kadefors R., Petersen I. An electromyographic index for localized muscle fatigue // J. Appl. Physiol. – 1977. – **43**. – P. 750–754.
  30. Marsden C.D., Meadows J.S., Merton P.A. Isolated single motor unit in human muscle and their rate of discharge during maximal voluntary effect // J. Physiol. – 1971. – **217**. – P. 12–13.
  31. Mayer R.F., Burke R.E., Toop J., Hodgson J.A., Kanda K., Walmsley B. The effect of long-term immobi-



- lization on the motor unit population of the cat medial gastrocnemius muscle // *Neurosci.* – 1981. – **6**. – P. 725–739.
32. Merton P.A. Voluntary strength and fatigue // *J. Physiol.* – 1954. – **123**. – P. 553–564.
  33. Naess K., Storm-Mathissen A. Fatigue of sustained titanic contractions // *Acta Physiol. Scand.* – 1955. – **34**. – P. 351–356.
  34. Ranatunga K.W. Temperature-dependence of shortening velocity and rate of isometric tension development in rat skeletal muscle // *J. Physiol.* – 1982. – **329**. – P. 465–483.
  35. Rice C.L., Cunningham D.A., Taylor A.W., Pateron D.H. Comparison of the histochemical and contractile properties of human triceps surae // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 1988. – **58**. – P. 165–170.
  36. Sale D.G., McComas A.J., MacDougall J.D., Upton A.R.M. Neuromuscular adaptation in human thenar muscles following strength training and immobilization // *J. Appl. Physiol.* – 1982. – **53**. – P. 419–424.
  37. Sandow A. Excitation-contraction coupling in skeletal muscle // *Pharmacol. Rev.* – 1965. – **17**. – P. 265–320.
  38. Sica R.E.P., McComas A.J. An electrophysiological investigation of limb-girdle and facioscapulohumeral dystrophy // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* – 1971. – **34**. – P. 469–474.
  39. Siconolfi S.F., Kozlovskaya I.B., Koryak Yu., Layne C., Gilbert J.H. Effects of in-flight treadmill & bicycle (TBE) and resistive (RE) exercise on post space flight strength // *FASEB J.* – 1996. – P. A1686.
  40. Simmons R.M., Jewell B.R. Mechanics and models of muscular contraction // *Res. Adv. Physiol.* – 1974. – **9**. – P. 87–147.
  41. Stevens L., Mounier Y., Holy X., Falempin M. Contractile properties of rat soleus muscle after 15 days of hindlimb suspension // *J. Appl. Physiol.* – 1990. – **68**. – P. 334–340.
  42. Tanaka M., McDonagh M.J.N., Davies G.T.M. A comparison of the mechanical properties of the first dorsal interosseous in the dominant and non-dominant hand // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 1984. – **53**. – P. 17–20.
  43. Tate C.A., Bick R.J., Muers T.D., Pitts B.J.R., van Winkle W.B., Entman M.L. Alteration of sarcoplasmic reticulum after denervation of chicken pectoralis muscle // *Biochem. J.* – 1983. – **210**. – P. 339–344.
  44. Upton A.R.M., McComas A.J., Sica R.E.P. Potentiation of “late” responses evoked in muscles during effort // *J. Neurol., Neurosurg. Psychiat.* – 1971. – **34**. – P. 113–120.
  45. White M.J., Davies C.T.M., Brooks P. The effects of shortterm voluntary immobilization on the contractile properties of the human triceps surae // *Quart. J. Physiol.* – 1984. – **69**. – P. 685–691.
  46. Witzmann F.A., Kim D.H., Fitts R.H. Hindlimb immobilization: length-tension and contractile properties of skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* – 1982. – **53**. – P. 335–345.
  47. Woods F.F., Furbush F., Bigland-Ritchie B. Evidence for a fatigue-induced reflex inhibition of motoneuron firing rates // *J. Neurophysiol.* – 1987. – **58**. – P. 125–137.

*Учреждение РАН «Гос. Науч.-центр РФ-Ин-т мед.-биол. проблем РАН», Москва, Россия*  
*E-mail: yurikoryak@mail.ru*

*Материал поступил в редакцию 26.03.2010*

В.С. Журомський, О.Я. Скларов

## Вплив вітаміну С на NO-синтазну систему за умов експериментальної виразки шлунка

*Досліджували вплив вітаміну С на зміни активності ензимів NO-синтазної системи, вміст нітрит-аніона, процеси ліпопероксидації, активність супероксиддисмутази і каталази у слизовій оболонці шлунка (СОШ), а також концентрацію L-аргініну та вітаміну С у плазмі крові щурів за умов виразки шлунка, викликаній введенням адреналіну. Вітамін С проявляв виражену антиоксидантну дію, зменшував деструктивні uszkodження, знижував активність індукцибельної NO-синтази (iNOS), супероксиддисмутази, процеси ліпопероксидації, вміст NO, при цьому в плазмі крові підвищувалася концентрація L-аргініну. Поєднана дія вітаміну С з L-аргініном значно зменшувала uszkodження СОШ, активність конститутивної NO-синтази та вміст NO у СОШ порівняно зі впливом лише вітаміну С. За умов дії вітаміну С на тлі інгібування iNOS і циклооксигенази-2 незначно зменшувалась активність NOS і процесів ліпопероксидації, що свідчить про домінування впливу цього ефекту вітаміну С.*

*Ключові слова: аскорбінова кислота, нітрит-аніон, NO-синтази, циклооксигеназа-2, L-аргінін, процеси ліпопероксидації, експериментальна виразка шлунка.*

### ВСТУП

Вітамін С нині розглядається як один з потужних антиоксидантних чинників, який включає аскорбінову (відновлена форма) та дегідроаскорбінову кислоти (окиснена форма). Його антиоксидантна та протизапальна дія базується на здатності відновлювати супероксидний і гідроксильний радикали, пероксид водню, синглетний кисень, гіпохлоридну кислоту та пероксинітрит, що зменшує розвиток оксидативного стресу. Інший механізм дії пов'язаний з підтриманням антиоксидантної функції вітаміну Е через відновлення токофероксильного радикала до вітаміну Е у ліпідно-водному середовищі клітини, N-нітрозовмісних сполук і збереження глутатіону при оксидативному стресі [10, 11].

Виразкова хвороба шлунка зустрічається найчастіше серед патологій органів травлення у людей, незважаючи на прогрес у діагностиці та лікуванні. У зв'язку з цим вивчення патобіохімічних процесів

розвитку та пошук нових засобів профілактики та лікування є актуальним питанням. Ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) за умов дії різних ульцерогенних чинників, супроводжується збільшенням кисневих радикалів, активацією ліпопероксидації NO-синтаз (NOS) [EC 1.14.13.39] та циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) [EC 1.14.99.1]. Підвищення активності у першу чергу індукцибельної NOS (iNOS), є одним з факторів активації процесів ліпопероксидації, внаслідок утворення пероксинітриду (ONOO<sup>-</sup>) та посилення оксидативного стресу, що викликає uszkodження компонентів клітини (мембран, цитоплазматичних білків, ДНК) [12, 20]. У розвитку виразки шлунка значну роль також відіграє посилення інфільтрації його слизової оболонки нейтрофілами, які продукують активні форми кисню, оксид азоту (NO) та прозапальні цитокіни [17].

Метою нашої роботи було вивчення впливу вітаміну С на стан системи L-аргінін–NOS–NO та процеси ліпопероксидації

за умов інгібування активності iNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну при експериментальній виразці шлунка.

## МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 60 білих безпородних щурах масою 180–200 г, згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії у відповідних умовах освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Перед проведенням досліджень вони мали вільний доступ до води впродовж 20 год.

Структурно-геморагічні ушкодження СОШ моделювали ін'єкцією адреналіну (2 мг/кг, внутрішньоочеревинно) [2]. Вітамін С (200 мг/кг) вводили внутрішньом'язово, активність ЦОГ-2 блокували цеlexоксидом (10 мг/кг, перорально), а iNOS – аміногуанідином (20 мг/кг, внутрішньоочеревинно); L-аргінін вводили у дозі 300 мг/кг інтраперитонеально. Речовини вводили одноразово за 30 хв до ін'єкції адреналіну.

Дослідних тварин було поділено на 6 експериментальних груп по 10 щурів у кожній. Тваринам першої групи (контроль) вводили 0,1 мл 0,9%-го розчину натрію хлориду інтраперитонеально, щурам другої групи – адреналін, третьої групи – вітамін С за умов експериментальної виразки, четвертої – вітамін С на тлі інгібування активності iNOS аміногуанідином, п'ятої – вітамін С і L-аргінін за умов експериментальної виразки, шостої – вітамін С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 цеlexоксидом за умов експериментальної виразки.

Тварин декапітували та забирали матеріал для досліджень під уретановим наркозом. Досліджувані показники вивчали у гомогенаті СОШ. Активність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом про-

дуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [6], активність супероксиддисмутази (СОД) визначали з використанням нітротетразолію синього (НТС) за методом Чевари [7], каталази – Королюк та співавт. [3], вміст нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ) розраховували за методом Гріна, використовуючи реактив Гріса [13].

Сумарну активність NOS визначали за методом Сумбаєва та співавт. [5]. Інкубаційне середовище об'ємом 1 мл, 0,1 М тріс-НСІ буфера, рН 7,4 (37° С) було такого складу (ммоль/л):  $\text{CaCl}_2$  – 10, L-аргініну – 4,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 5,  $\text{MgCl}_2$  – 1 та 0,1 мл гомогенату. Реакцію запускали внесенням 0,1 мл 1 ммоль/л розчину НАДФН. Контрольні проби готували аналогічно, але замість останнього додавали 0,1 мл бідистильованої води. Сумарну активність NOS оцінювали за кількістю використаного НАДФН під час реакції. Для визначення активності iNOS до складу інкубаційної суміші замість  $\text{CaCl}_2$  для зв'язування ендogenous  $\text{Ca}^{2+}$  додавали ЕДТА. Активність конститутивної NOS (сNOS) розраховували як різницю активності сумарної NOS та iNOS. Визначення проводили при  $\lambda=340$  нм на спектрофотометрі кожні 30 с протягом 3 хв. Середнє значення різниці показників світлопоглинання за 1 хв використовували для обрахунків.

У плазмі крові визначали концентрацію аскорбінової кислоти (окисненої та загальної форм) за методом Шпакова [8] та L-аргініну – Алейнікової та співавт. [1].

Структурно-геморагічні ушкодження СОШ аналізували з використанням методик планіметрії та за бальною системою. Показники площі ушкоджень (у квадратних міліметрах) та характер ушкоджень (у балах) СОШ розраховували в середньому на тварину. Статистичну обробку результатів проводили з використанням прикладної програми ANOVA Statistica. Статистично вірогідними вважали розбіжності при  $P<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення адреналіну викликало структурно-геморагічні ушкодження шлунка у вигляді масивних і точкоподібних крововиливів, ерозій і виразок. При цьому площа ушкоджень становила – 46,4 мм<sup>2</sup>, характер – 22 бали. У СОШ активувалися процеси ліпопероксидації, вміст ТБК-активних продуктів підвищився з (212,4±11,6) до (330,6±13,3) мкмоль/г (на 56 %, P<0,05). Розвиток оксидативного стресу в СОШ викликав збільшення активності СОД з (18,9±7,38) до (33,7±5,5) мкмоль НСТ/хв·мг білка (на 78 %, P<0,05), активність каталази мала тенденцію до зменшення з (0,321±0,03) до (0,287±0,08) мкмоль Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/хв·мл (на 11 %, P>0,05).

У тварин контрольної групи загальна активність NOS у СОШ залежить від активності cNOS, тоді як активність iNOS або не визначається, або є незначною. За умов дії адреналіну спостерігалось 11-разове зростання активності iNOS з (0,558±0,235) до (1,558±0,235) нмоль НАДФ/хв·г (P<0,01; рис. 1, 2), при цьому активність cNOS підвищувалася на 58 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст нітрит-аніона збільшився на 75 % (P<0,01; рис. 3).

Активация iNOS у СОШ призводила до зменшення концентрації L-аргініну в плазмі крові на 33 % (P<0,05; рис. 4).

Концентрація окисненої форми вітаміну С у плазмі крові мала тенденцію до

підвищення з 8,43±2,21 до 10,67 мкмоль/л ± 1,08 мкмоль/л, загальний його вміст у плазмі крові збільшився з 14,75±2,74 до 21,24 мкмоль/л ± 4,09 мкмоль/л (P>0,05; табл. 1).

Отже, за умов адреналініндукованого стресового ушкодження СОШ різко збільшувалась активність iNOS і, відповідно, загальна NOS та вміст нітрит-аніона, зменшувалася концентрація L-аргініну та спостерігалась тенденція до підвищення вмісту вітаміну С у плазмі крові. При цьому посилювалися процеси ліпопероксидації, активність СОД та дещо послаблювалася активність каталази.

Введення вітаміну С при виразкових ушкодженнях СОШ викликало зниження: площі деструктивних змін до 16 мм<sup>2</sup> (P<0,05) та характеру ушкоджень на 68 %, при цьому зменшувався вміст ТБК-активних продуктів на 27 % (P<0,05), активність СОД на 35 %; (P<0,05) та каталази на 17 % (табл. 2). Активність NOS змінювалася таким чином: cNOS мала тенденцію до зростання, а iNOS – зменшувалася на 46 % (P<0,05). При цьому вміст нітрит-аніона в СОШ знизився на 23 % (P<0,05), а концентрація L-аргініну в крові збільшилася на 107 % (P<0,01). Концентрація окисненої форми вітаміну С мала тенденцію до підвищення (на 38 %) порівняно зі впливом адреналіну. Отже, введення екзогенного вітаміну С при експериментальній виразці шлунка прояв-

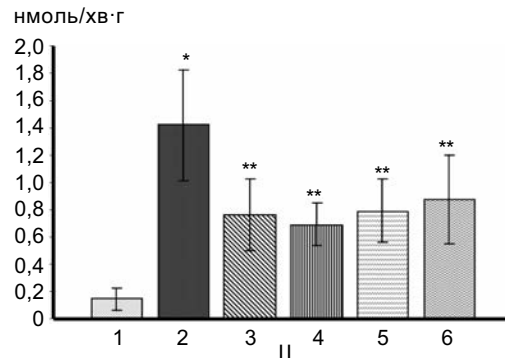
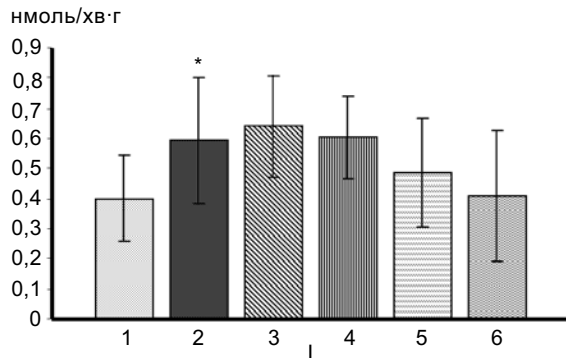


Рис. 1. Зміна активності конститутивної (I) та індукційної (II) NO-синтази при дії вітаміну С у слизовій оболонці шлунка щурів з експериментальною його виразкою: 1 – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \*P<0,05 порівняно з контролем, \*\*P<0,05 порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

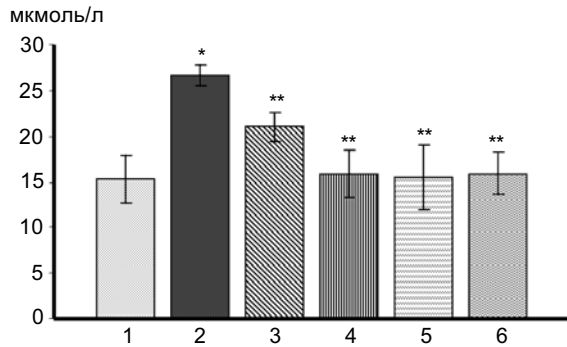


Рис. 2. Зміна вмісту оксиду азоту у слизовій оболонці шлунка при дії вітаміну С на тлі інгібування активності індукційної NO-синтази, циклооксигенази-2, введення L-аргініну у щурів з експериментальною виразкою шлунка: 1 – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем, \*\* $P < 0,05$  порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

ляє виражену антиоксидантну та протизапальну дію, що супроводжується зменшенням деструктивних змін слизової оболонки, процесів ліпопероксидації та, переважно, зниженням активності iNOS. Введення вітаміну С призводило до збільшення концентрації L-аргініну та окисненої форми вітаміну С.

За умов введення вітаміну С на тлі інгібування активності iNOS аміногуанідином зменшувалася площа деструктивних змін до 6 мм<sup>2</sup> ( $P < 0,05$ ) і характер ушкоджень – на 16 %; вміст ТБК-активних продуктів, активність СОД і каталази у СОШ суттєво не змінювалися порівняно зі впливом вітаміну С на тлі дії адреналіну. Також незначно зменшувалась активність iNOS та cNOS. Вміст нітрит-аніона в СОШ знизився на 21 %. Концентрація L-аргініну

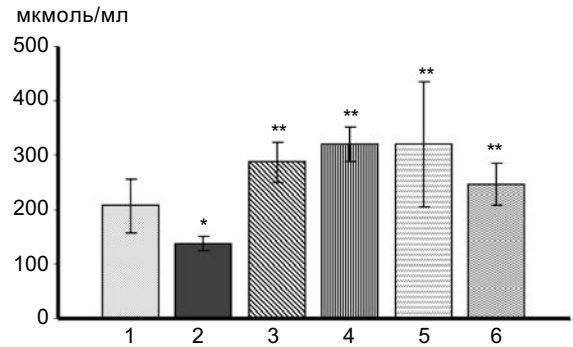


Рис. 3. Концентрація L-аргініну у плазмі крові при дії вітаміну С на тлі інгібування активності індукційної NO-синтази, циклооксигенази-2, введення L-аргініну у щурів з експериментальною виразкою шлунка: – перша (контроль), 2 – друга, 3 – третя, 4 – четверта, 5 – п'ята, 6 – шоста групи. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем, \*\* $P < 0,05$  порівняно з показниками при експериментальній виразці шлунка

збільшилася на 11 %, вміст окисненої форми та загального вітаміну С у плазмі крові істотно не змінювалися порівняно зі впливом вітаміну С на тлі адреналін-індукованих стресових ушкоджень СОШ.

Комплексне введення вітаміну С та L-аргініну викликало зниження площі деструктивних змін до 6,71 мм<sup>2</sup> ( $P < 0,05$ ) та характеру ушкоджень – на 16 %, не призводило до виражених змін вмісту продуктів ТБК та активності СОД і каталази, активність cNOS знижувалася на 24 %, а iNOS суттєво не змінювалася; вміст нітрит-аніона зменшувався на 24 % порівняно зі впливом вітаміну С на тлі стресу. Концентрація в плазмі крові L-аргініну, окисненої і загальної форм вітаміну С істотно не змінювалися порівняно з його дією на тлі впливу адреналіну. Отже, модулювальний

Таблиця 1. Вміст вітаміну С у плазмі крові щурів з виразковими ушкодженнями шлунка (M±m)

Група тварин	Вітамін С, мкмоль/л	
	окиснена форма	загальна форма
Перша (контроль)	8,43±2,21	14,75±2,74
Друга	10,67±1,08	21,24±4,09
Третя	14,77±3,43	24,4±3,55
Четверта	13,06±1,3	22,94±2,4
П'ята	15,3±2,29	25,7±3,3
Шоста	13,4±3,26	24,2±5,85

**Таблиця 2. Зміна вмісту ТБК-активних продуктів та активності ензимів антиоксидантного захисту у щурів з виразковими ушкодженнями шлунка (M±m)**

Група тварин	Малоновий діальдегід, мкмоль/г	Супероксиддисмутаза, мкмоль НСТ/хв·мг білка	Каталаза, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв·л
Перша (контроль)	212,4±11,6	18,9±7,4	0,321±0,03
Друга	330,6±13,4*	33,7±5,5*	0,287±0,08
Третя	242,3±27,9**	21,9±4,5	0,238±0,05
Четверта	221,8±25,9**	21,2±3,4**	0,275±0,08
П'ята	228,3±26,8**	17,2±1,8**	0,253±0,06
Шоста	216,4±34,8**	22,9±5,7	0,268±0,07

Примітка. \*P<0,05 порівняно з контролем, \*\*P<0,05 порівняно з тваринами з виразкою шлунка.

вплив L-аргініну при одночасній дії з вітаміном С призводив до зменшення вмісту нітрит-аніона внаслідок зниження активності cNOS.

Вплив вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 зменшував площу деструктивних змін до 7,88 мм<sup>2</sup> (P<0,05) та характеру ушкоджень – на 17 %; при цьому суттєво не змінювалися вміст ТБК-активних продуктів та активність СОД; концентрація нітрит-аніона була на 22 % меншою, активність cNOS мала тенденцію до зниження, а iNOS змінювалася незначно порівняно з самостійною дією вітаміну С. Концентрація L-аргініну була меншою на 14 %, а вітаміну С у плазмі крові значно не змінювалася порівняно з його впливом на тлі дії адреналіну. Отже, дія вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 сприяла посиленню процесів цитопротекції, що супроводжувалося зниженням вмісту нітрит-аніона та тенденцією до зниження активності cNOS порівняно з самостійним його впливом.

Аналізуючи вплив вітаміну С на оксидативні процеси, зміну активності NOS, вміст вітаміну С і L-аргініну в плазмі крові, слід відзначити таке. Дія різних ульцерогенних чинників (аспірину, індометацину, стресу, етанолу, серотоніну) на СОШ супроводжується розвитком оксидативного стресу, зміною активності ензимів антиоксидантної системи, зменшенням вмісту вітамінів – антиоксидантів Е та С, активацією

прозапальних ензимів – iNOS і ЦОГ-2, підвищенням вмісту нітрит-аніона, пероксинітрити, простагландину Е-2, підвищенням інфільтрації СОШ нейтрофілами, збільшенням виділення прозапальних цитокінів – інтерлейкіну 1β, інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлин α у СОШ [14, 20]. За умов оксидативного стресу різко підвищується генерація активних форм кисню та радикалів жирних кислот, які порушують мембрани судин, секреторних клітин та епітеліоцитів, що спричиняють формування виразкових ушкоджень СОШ [4].

Різка активація NOS призводить до зменшення вмісту L-аргініну в крові. Відомо, що за умов запалення, стресу та виразкоутворення значення цього показника в плазмі крові знижується, а експресія iNOS та транспортного мембранного білка САТ-2 підвищується, що забезпечує надходження L-аргініну з позаклітинного середовища [10, 20]. При виразкових ушкодженнях загальний вміст аскорбінової кислоти та її відновленої форми, вітаміну Е та слизу у слизовій оболонці зменшувалися, тоді як вміст окисненої форми аскорбінової кислоти майже не змінювався. Однак у плазмі крові відзначалося зростання загальної та відновленої форм аскорбінової кислоти [14].

Як відомо, антиоксидантна дія вітаміну С має декілька механізмів: безпосереднє зв'язування активних радикалів (супероксидного, гідроксильного радикалів, пероксиду водню, синглетного кисню, перокси-

нітриту та гіпохлоридної кислоти), відновлення ним активних форм кисню та N-нітрозокомпонентів [11]. Непряма антиоксидантна дія аскорбінової кислоти попереджує адгезію нейтрофілів до ендотелію судин, інфільтрацію нейтрофілами СОШ і збільшення концентрації цитокінів; окрім цього відзначено, що з іншого боку вітамін С може активувати експресію mRNA антиоксидантних ензимів – СОД, глутатіонпероксидази та каталази; знижувати в СОШ експресію mRNA прозапальних цитокінів – інтерлейкіну  $-1\beta$  та фактора некрозу пухлин  $\alpha$  [14]. Одним з цитопротекторних механізмів дії вітаміну С при виразкових ушкодженнях шлунка є активація ним експресії mRNA гем-оксигенази I та трансформації його у протеїн, який виявляє протективний ефект [9].

Однією з ланок впливу вітаміну С може бути як його безпосередня дія на компоненти NOS (тетрагідроптерин, кальмодулін, ФМН, НАДФН, ФАД, гем), так і на регуляцію транскрипції. Попередніми дослідженнями показано зниження експресії iNOS у СОШ при дії вітаміну С за умов виразки [11, 16].

Введення вітаміну С на тлі ульцерогенних ушкоджень шлунка у наших дослідженнях мало виражений антиоксидантний та гастропротекторний ефекти, які супроводжувались зменшенням площі деструктивних ушкоджень СОШ, зниженням вмісту ТБК-активних продуктів, активності СОД і каталази. Новим аспектом у антиоксидантній дії цього вітаміну є його вплив на експресію ензимів системи NOS. Нами відзначено різке зменшення активності iNOS і, відповідно, вмісту нітрит-аніона в СОШ при дії вітаміну С. Зниження активності iNOS призводило до підвищення концентрації L-аргініну в плазмі крові.

Особливістю антиоксидантної дії вітаміну С у шлунку є те, що концентрація його у СОШ та шлунковому соку значно вища, ніж у плазмі крові, що зумовлено секрецію

цього вітаміну слизовою оболонкою. Високу концентрацію вітаміну С у шлунковому соку розглядають як один з факторів захисту епітеліальних клітин від ушкоджувальної дії радикалів [18]. Деструктивні ушкодження СОШ порушують механізми секреції аскорбінової кислоти слизовою шлунка, що зменшує вміст вітаміну С у шлунковому соку та слизовій оболонці та викликає підвищення його концентрації у плазмі крові. Відповідно однократне введення екзогенного вітаміну С (у дозі 200 мг/кг) незначно підвищувало його концентрацію у крові через добу, і при цьому відзначали гастропротекторний ефект. Інгибування активності iNOS, ЦОГ-2 та введення L-аргініну одночасно з вітаміном С суттєво не змінювало його концентрації у крові.

Дані літератури свідчать, що екзогенне введення вітаміну С (у дозах 10, 50 та 100 мг/кг) при експериментальній виразці підвищувало концентрацію загальної та відновленої його форм у СОШ та сироватці крові. Паралельно посилювалася цитопротекція, знижувались інтенсивність процесів ліпопероксидації, активність мієлопероксидази та продукція NOx у СОШ і плазмі крові [14].

У наших дослідах за умов поєднаної дії вітаміну С з L-аргініном знижувались активність переважно sNOS і вміст NO у СОШ. У крові збільшувалася концентрація L-аргініну, а показники плазми крові не змінювалися порівняно зі самостійним впливом вітаміну С.

До дискусійних питань відносять механізм зниження активності iNOS при введенні екзогенного L-аргініну. У багатьох дослідженнях при запальних процесах у різних органах показано, що L-аргінін проявляє цитопротекторні властивості [19]. Вважають, що зниження активності iNOS при підвищенні позаклітинної концентрації L-аргініну пов'язано з активністю кінази, котра регулює трансляцію iNOS. До зниження

активності NOS у СОШ можуть призводити інші чинники – зменшення інфільтрації нейтрофілами СОШ та надходження екстрацелюлярного аргініну в макрофаги, інгібування активності іNOS за механізмом зворотного зв'язку [17]. Відомо, що введення L-аргініну (в дозі 300 мг/кг) проявляє цитопротекторний ефект при виразкових ушкодженнях шлунка, що було пов'язано з інгібуванням процесів ліпопероксидації, зменшенням генерації нітрит-аніона нейтрофілами, котрі інфільтрують СОШ та активності загальної NOS та іNOS [17].

Інгібування активності іNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну мало незначний модулювальний ефект. Це свідчить, що дія вітаміну С домінувала і була пов'язана з пригніченням активності цих прозапальних ферментів. Так, якщо самостійна дія вітаміну С зменшувала активність загальної NOS на тлі виразкових ушкоджень на 36 %, то за умов одночасного його введення з L-аргініном на тлі інгібування активності іNOS або ЦОГ-2 вона знижувалася на 6–8 %.

Відзначений взаємозв'язок активності NOS та вмісту у плазмі крові L-аргініну. Деструктивні зміни у СОШ різко підвищують активність іNOS і паралельно знижують концентрацію L-аргініну в плазмі крові. Відповідно за умов інгібування активності іNOS ця концентрація збільшувалася, що відбувалося за умов екзогенного введення вітаміну С. А це, можливо, пов'язано як із послабленням активності NOS, так і аргінази.

Цікаво, що введення вітаміну С підвищує концентрацію L-аргініну в плазмі крові, що може бути пов'язано не тільки із зменшенням активності NOS, а також, можливо, і активності інших ензимів, для яких L-аргінін є субстратом – аргінази, аргініндекарбоксилази, аргінін:гліцин-амідиотрансферази. Слід відзначити, що активність аргінази при виразкових ушкодженнях шлунка знижується [20].

Отримані нами результати свідчать, що

одним з антиоксидантних, протизапальних і некоферментних механізмів введеного вітаміну С за умови експериментальної виразки шлунка є його регуляція на активність прозапальних ензимів, у тому числі іNOS. Найбільш виражений цитопротекторний і протизапальний ефект відмічався при комплексному застосуванні вітаміну С і L-аргініну, що є підґрунтям для розгляду їх одночасного застосування для профілактики та лікування запальних процесів.

## ВИСНОВКИ

1. Деструктивні зміни у СОШ призводять до різкого посилення процесів ліпопероксидації, активності іNOS, збільшенням вмісту NO і, паралельно, до зниження концентрації L-аргініну в плазмі крові.

2. Введення вітаміну С при експериментальній виразці шлунка проявляє виражену антиоксидантну дію, що супроводжується зменшенням деструктивних змін слизової оболонки, зниженням активності іNOS та вмісту NO, послабленням процесів ліпопероксидації та активності СОД. Дія вітаміну С підвищує концентрацію L-аргініну та окисненої форми вітаміну С у плазмі крові.

3. Дія вітаміну С на тлі інгібування активності іNOS аміногуанідином суттєво не змінювала вміст продуктів ТБК, активність СОД і каталази у СОШ порівняно з показниками при введенні цього вітаміну на тлі дії адреналіну. У СОШ незначно зменшувалась активність іNOS, сNOS і вміст NO. Концентрація в плазмі крові L-аргініну суттєво не змінювалась, а окисненої форми та загального вітаміну С була незначно менше порівняно зі впливом вітаміну С на тлі дії адреналіну.

4. Одночасна дія вітаміну С з L-аргініном призводила до вираженої цитопротекторної дії, зменшення вмісту NO внаслідок зниження активності сNOS, незначного підвищення концентрації L-аргініну у плазмі крові.



5. Экзогенне введення вітаміну С при виразці шлунка підвищувало його концентрацію у плазмі крові, на тлі інгібування активності iNOS, ЦОГ-2 і введення L-аргініну суттєво не змінювало його вміст.

6. При дії вітаміну С на тлі інгібування активності ЦОГ-2 активувалися механізми цитопротекції, процеси ліпопероксидації суттєво не змінювалися, вміст нітрит-аніона мав тенденцію до зменшення. Дія вітаміну С на тлі інгібування активності iNOS і ЦОГ-2 не виявляла вираженого впливу на активність NOS.

**В.С. Журомский, А.Я. Скляр**

### **ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА С НА NO-СИНТАЗ-НУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА**

Исследовали влияние витамина С на изменение активности энзимов NO-синтазной системы, содержание оксида азота, процессы липопероксидации, активность супероксиддисмутазы и каталазы в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и концентрацию L-аргинина, витаминов С и Е в крови крыс при язве желудка, вызванной введением адреналина. Витамин С оказывал выраженное антиоксидантное действие, снижал деструктивные поражения, активность индуцибельной NO-синтазы (iNOS), процессы липопероксидации, содержание NO и активность супероксиддисмутазы. При этом в плазме крови увеличивалась концентрация L-аргинина и витамина С. Совместное их действие уменьшало повреждения СОЖ, активность sNOS и содержание NO в СОЖ, при этом в плазме крови повышалась концентрация L-аргинина. При действии витамина С на фоне ингибирования iNOS и циклооксигеназы-2 незначительно уменьшались активность NOS и процессов липопероксидации, что свидетельствует о доминирующем влиянии этого витамина.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, нитрогена оксид, NO-синтазы, циклооксигеназа-2, L-аргинин, процессы липопероксидации, экспериментальная язва желудка.

**V.S. Zhuromsky, O.Ya. Sklyarov**

### **EFFECT OF VITAMIN C ON THE CONDITION OF NO-SYNTASE SYSTEM IN EXPERIMENTAL ULCER OF THE STOMACH**

We investigated the effect of Vitamin C (Vit C) on the changes of activity of the enzymes of NO-synthase system, nitric oxide content, lipoperoxidation processes, activity of SOD and catalase in gastric mucosa (GM), and concentrations of

L-arginine, Vit C and Vit E in the blood of rats under conditions of experimental ulcer of the stomach caused by adrenaline injection. Vit C displayed a pronounced antioxidant action, reduced the degree of destructive affections, diminished the activity of iNOS and lipoperoxidation processes, decreased the NO content and SOD activity. Furthermore, the concentration of L-arginine and Vit C in the blood was increased. Combined action of Vit C with L-arginine reduced the degree of GM lesions, activity of eNOS and the content of NO in GM whereas the concentration of L-arginine in blood was increased. Under conditions of Vit C action and iNOS and COX-2 blockage, the activity of NO-synthases and lipoperoxidation processes were slightly decreased, indicating on dominant action of Vit C.

Key words: ascorbic acid, nitric oxide, NO-synthases, COX-2, L-arginine, lipoperoxidation, experimental ulcer.

*Danylo Halytskyi Lviv National Medical University*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии. – М.: Медицина, 2000. – 128 с.
2. Белостоцкий Н.И. Язвеобразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов // Патол. физиология и эксперим. медицина. – 1988. – № 1. – С. 24–27.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С.16–19.
4. Скляр О.Я., Бондарчук Т.І., Мандрик Ю.В., Червінська М.С. Периферійні механізми регуляції процесів цитопротекції у слизовій оболонці шлунка. – Львів: ВМС, 2007. – 159 с.
5. Сумбаев В.В., Ясинская И.М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс // Совр. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С.3–7.
6. Тимурбулатов М.А., Селезнев Е.И. Метод повышения свободнорадикального окисления липид-содержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С.209–211.
7. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Там же. – 1991. – № 10. – С.9–13.
8. Шпаков А.Е. К методике раздельного определения общей, редуцированной и дегидроаскорбиновой кислот // Там же. – 1967. – № 5. – С. 305–306.
9. Becker J.C., Grosser N., Boknik P., Schruder H., Domschke W., Pohle T. Gastroprotection by vitamin C – a heme oxygenase-1-dependent mechanism? // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 2003. – 312, № 2 – P.507–512.

10. Carr A., Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? // *Faseb J.* – 1999. – **13**, № 9. – P.1007–1024.
11. Deutsch J.C. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide // *Anal. Biochem.* – 1998. – **255**, № 1. – P. 1–7.
12. Flynn N.E., Meiningner C.J., Haynes T.E., Wu G. The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy // *Biomed. Pharmacother.* – 2002. – **56**, № 9. – P.427–438.
13. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L., Wishnok J.S., Tannenbaum S.R. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, № 1. – P. 131–138.
14. Kamiya Y., Ohta Y., Imai Y., Arisawa T., Nakano H. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – **11**, № 9. – P. 1324–1332.
15. Li P., Yin Y.L., Li D., Kim S.W., Wu G. Amino acids and immune function // *Brit. J.Nutr.* – 2007. – **98**, № 2. – P. 237–252.
16. Nakagiri A., Sunamoto M., Murakami M. NADPH oxidase is involved in ischaemia/reperfusion-induced damage in rat gastric mucosa via ROS production – Role of NADPH oxidase in rat stomachs // *Inflammopharmacol.* – 2007. – **15**, № 6. – P. 278–281.
17. Ohta Y., Nishida K. L-arginine protects against stress-induced gastric mucosal lesions by preserving gastric mucus // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2002. – **29**, № 1–2. – P. 32–38.
18. Waring A.J., Drake I.M., Schorah C J, White K.L., Lynch D.A., Axon A.T., Dixon M.F. Ascorbic acid and total vitamin C concentrations in plasma, gastric juice, and gastrointestinal mucosa: effects of gastritis and oral supplementation // *Gut.* – 1996. – **38**. – P. 171–176.
19. Wu G., Bazer F.W., Davis T.A., Kim S.W., Li P., Marc Rhoads J., Carey Satterfield M., Smith S.B., Spencer T.E., Yin Y. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease // *Amino Acids.* – 2009, № 1. – P. 153–168.
20. Yadav S.K, Adhikary B., Maity B. The gastric ulcer-healing action of allylpyrocatechol is mediated by modulation of arginase metabolism and shift of cytokine balance // *Eur. J. Pharmacol.* – 2009. – 614, Les1-3. – P.106–113.

*Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького*  
*E-mail: sklyarov@meduniv.lviv.ua*

*Матеріал надійшов до*  
*редакції 02.08.2010*

О.В.Ковальова

## Особливості впливу електромагнітного поля низькочастотного електричного струму на пренатальний розвиток

*Досліджено вплив електромагнітного поля низькочастотного електричного струму на пренатальний розвиток ембріонів курей. Враховуючи велику кількість зовнішніх факторів, що впливають на результат, було проведено три інкубації. При триразовій обробці впродовж 1 хв (на 9, 12 та 15-ту добу інкубації) підвищується виводимість яєць, скорочується тривалість інкубації і виводу, зменшується смертність зародків у процесі інкубації.*

*Ключові слова: інкубаційні яйця, електромагнітне поле низькочастотного електричного струму, виводимість, тривалість інкубації, тривалість виводу, смертність зародків.*

### ВСТУП

Питання впливу електромагнітних полів (ЕМП) на живі організми впродовж тривалого часу викликає інтерес науковців, тому таким дослідженням присвячено багато праць останніх десятиліть вітчизняних і зарубіжних авторів [2, 3, 6, 10, 14, 15, 17, 23, 31–36]. Досить добре вивчено дію на біологічні об'єкти штучних електромагнітних полів різної інтенсивності [1, 7, 16, 22, 26, 28–30]. Зокрема показані клітинно-молекулярні механізми сприйняття електромагнітних хвиль і виокремлена загальна схема функціональної системи електромагнітної регуляції людського організму [9]. Особливу увагу, у зв'язку з технічним прогресом, викликають дослідження впливу приладів, що продукують ЕМП, створювані низькочастотним електричним струмом (НЕС). Але існуючі праці не дають достатнього уявлення про дію ЕМП НЕС на процеси пренатального розвитку, наприклад курячих ембріонів.

Мета нашої роботи – дослідження особливостей впливу ЕМП НЕС на пренатальний розвиток курячих ембріонів.

© О.В.Ковальова

### МЕТОДИКА

Досліджували курячі інкубаційні яйця. Курчат виводили в П'ятигорському інкубаторі ИПХ-5-01 ГОСТ 14097-80, згідно з діючими вимогами [4].

Джерелом ЕМП НЕС був прилад «LEIT» з характеристиками частоти струму від 8 до 124 Гц, сили струму – від 12 до 330 мА, який сертифікований в Україні Державною службою лікарських засобів і виробів медичного призначення та внесений у Державний реєстр медичної техніки та виробів медичного призначення України (Свідоцтво про державну реєстрацію № 5457/2006). Вплив приладу на курячі інкубаційні яйця здійснювали за допомогою спеціально розроблених датчиків, які були обмотані бинтом, змоченим у фізіологічному розчині. Їх прикладали з обох кінців яйця для досягнення максимального контакту з ЕМП.

Враховуючи велику кількість зовнішніх факторів, що впливають на результат, проведено три інкубації. В першому дослідженні в інкубатор було закладено 55 яєць. Після контролю розвитку за допомогою

овоскопа на 9-ту добу інкубації (передплодовий період) було встановлено, що він розпочався в 51 інкубаційному яйці, які склали контрольну (27 штук) і дослідну (24 штуки) групи. Експериментальна група була розбита на 3 підгрупи по 8 яєць. Обробка ЕМП НЕС кожного яйця тривала 1 хв. Вплив на дослідні яйця повторювали тричі на 9, 12 та 15-ту добу інкубаційного періоду. При цьому першу підгрупу обробляли приладом «LEIT» з частотою струму 8 Гц і силою струму 12 мА; другу підгрупу – з частотою струму 60 Гц, силою струму 60 мА; третю підгрупу – з частотою струму 124 Гц і силою струму 330 мА.

У другому експерименті було закладено 60 інкубаційних яєць. Після контролю розвитку за допомогою овоскопа на 9-ту добу інкубації (передплодовий період) встановлено, що він розпочався в 58 інкубаційних яйцях, які склали контрольну (22 штуки) і дослідну (36 штук) групи. Експериментальна група була поділена на 3 підгрупи по 12 штук. Обробку цих яєць проводили за допомогою приладу «LEIT» при постійній частоті 60 Гц (яка показала 100%-ну виводимість у першому експерименті) і різною силою струму (12, 60 і 330 мА).

У третьому експерименті взято 55 інкубаційних яєць, які склали контрольну (27 штук) і дослідну (28 штук) групи. Інкубаційні яйця в дослідній групі обробляли за допомогою приладу «LEIT» з частотою струму 60 Гц, силою струму – 60 мА. Під час експерименту були розітнуті та проаналізовані яйця на 7, 9, 10 та 15-ту добу після закладання.

Також проведено контроль таких морфологічних і фізіологічних показників, як маса яйця, індекс форми (співвідношення малого діаметра яйця до великого).

Контрольною групою були курячі інкубаційні яйця, які знаходилися в таких самих умовах, як і експериментальні.

Результати оцінювали за методичним посібником “Інкубація яєць сільськогоспо-

дарської птиці” [4], а також порівнювали з даними літератури [12, 18, 20, 24, 25, 27].

Масу яєць визначали на вагах ВТК-200 з точністю вимірювань до 0,1 г.

Статистичну обробку результатів та побудову діаграм здійснювали на персональному комп’ютері в операційному середовищі “Windows XP” у прикладній програмі “Microsoft Excel” пакета “Microsoft Office”.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Перед початком інкубації обчислили морфологічні показники яєць. Їхня маса у контрольних і експериментальних групах коливалася в межах 57,2–57,5 г, що свідчить про відносну однорідність вибірок, а також відповідає вимогам діючих стандартів [5, 11, 20, 22]. За формою яйця обох груп також суттєво не відрізнялися, і індекс форми у них коливався від 75,2 до 75,4 %, що відповідає літературним даним [11, 22]. У період інкубації був визначений такий показник, як заплідненість яєць. В проведених експериментах середня заплідненість відповідала діючим вимогам з якості інкубаційних яєць [4, 12, 18, 20, 24, 25, 27] і становила 96,67 %.

Проведений після інкубації контроль показав, що ЕМП НЕС позитивно впливає на виводимість інкубаційних яєць (рис. 1).

У першому експерименті виведено 16 контрольних і 22 експериментальних курчат, що становило 59,3 і 91,7 % відповідно від кількості закладених на інкубацію яєць. Найкращий результат (100 % виводимості) був отриманий при впливі приладом «LEIT» з частотою струму 60 Гц і силою струму 60 мА. У другому експерименті в результаті інкубації було виведено 14 контрольних і 36 експериментальних курчат, що становило 63,6 і 100 % відповідно від кількості закладених яєць. У третьому експерименті було виведено 10 контрольних і 16 експериментальних курчат, що становило 55,6 і 84,2 % відповідно від

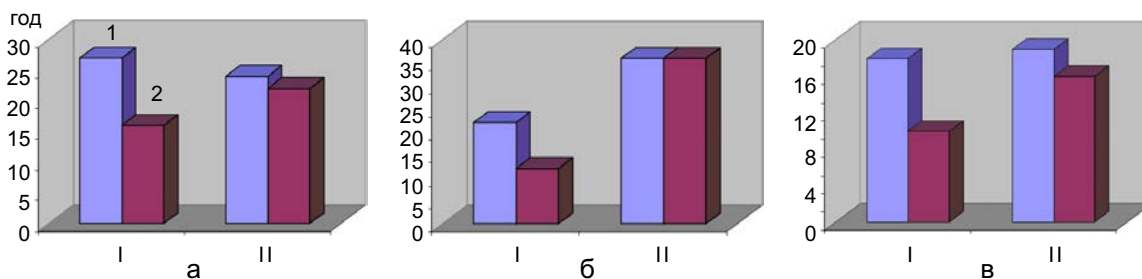


Рис. 1. Результати виводимості в контрольній (I) і експериментальній (II) групах: а – перший експеримент; б – другий експеримент; в – третій експеримент. 1 – кількість закладених запліднених яєць, 2 – кількість виведених курчат

кількості закладених яєць, що залишилися після їх відбору із живими зародками на розтин.

Відомо, що тривалість інкубації яєць сільськогосподарської птиці пов'язана з інтенсивністю обміну речовин у зародка. Якщо через які-небудь причини обмін речовин порушується, то в більшості випадків подовжується період інкубації, тому контроль за цим чутливим показником має велике практичне значення [18, 24]. В результаті впливу ЕМП НЕС відмічено різницю в часі початку виводу курчат, а також у тривалості цього процесу (в експериментальній групі починався в більш ранні строки та відбувався впродовж більш короткого часу порівняно з контролем). Отримані результати можуть свідчити про більш повноцінний розвиток інкубаційних яєць в експериментальних групах, що призводило до більш своєчасного початку виводу і до більш короткої його тривалості (рис. 2).

Звичайно розрізняють декілька критичних періодів у житті курячого зародка – це

3–5, 14–15 і 19–20-та доба. Багато дослідників пов'язують перший період з тривалим зберіганням яєць до інкубації, з їх перегріванням на початку процесу, другий – з їх низькою якістю (нестача вітамінів і інших поживних речовин при годуванні птиці), третій – з порушеннями в режимі інкубації. При цьому відмічається, що наприкінці інкубації смертність звичайно буває в 3 рази вищою, ніж напочатку. Загиблі в ці періоди ембріони відносять до відходів інкубації [8, 13, 18, 20]. У нашому дослідженні динаміка смертності зародків була такою. У першому експерименті в контрольній групі загинуло 7 ембріонів на 4–5-ту добу інкубації («кров'яні кільця»), 1 ембріон – на 14–15-ту добу інкубації («завмерлий») і 3 ембріони загинуло на 19–20-ту добу інкубації («задохлики»). У дослідній групі загинуло 2 ембріони на 4–5-ту добу інкубації («кров'яні кільця»), а «завмерлі» і «задохлики» виявлені не були. У другому експерименті в контрольній групі загинуло 2 ембріони на 14–15-ту добу

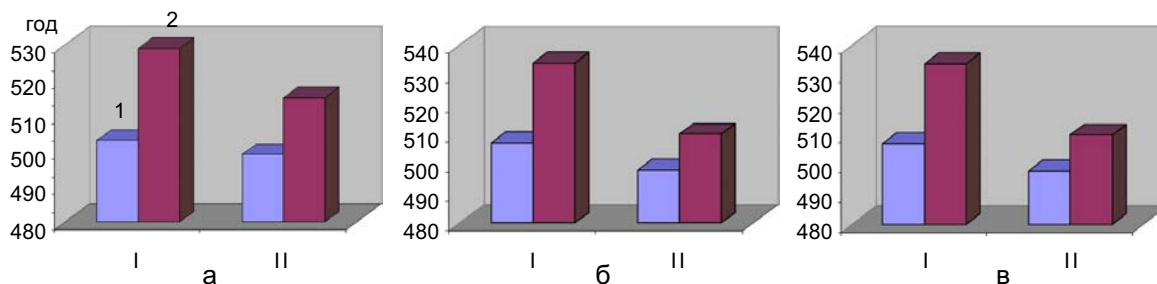


Рис. 2. Тривалість інкубації в контрольній (I) і експериментальній (II) групах: а – перший експеримент; б – другий експеримент; в – третій експеримент. 1 – початок інкубації, 2 – кінець інкубації

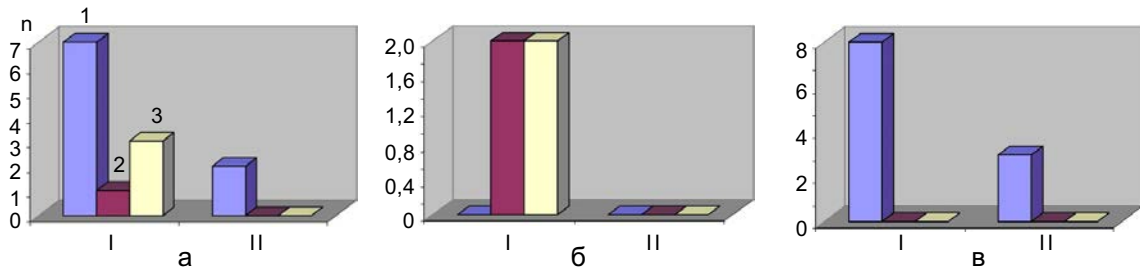


Рис. 3. Динаміка смертності в контрольній (I) і експериментальній (II) групах: а – перший експеримент; б – другий експеримент; в – третій експеримент. 1 – кров’яні кільця (4–5-та доба інкубації), 2 – «завмерлі» (14–15-та доба інкубації), 3 – «задохлики» (19–20-та доба інкубації)

інкубації («завмерлий») і 2 ембріони – на 19–20-ту («задохлики»). В експериментальній групі не загинув жоден ембріон.

У третьому експерименті в контрольній групі загинуло 8 ембріонів на 4–5-ту добу інкубації («кров’яні кільця»), «завмерлі» і «задохлики» були відсутні. У дослідній групі загинуло 3 ембріони на 4–5-ту добу інкубації («кров’яні кільця»), а «завмерлих» і «задохликів» виявлено не було. Таким чином, аналіз результатів інкубації показав, що ЕМП НЕС має позитивний вплив на розвиток ембріонів, про що свідчить менша кількість загинувших ембріонів в експериментальній групі (рис. 3).

На 7, 9, 10 і 15-ту добу після закладання були розітнуті і візуально проаналізовані оболонка, її розвиток, стан сітки кровоносних судин, очні яблука, шийний і хвостовий відділи, а також дзьоб і повітряна камера та розмір ембріонів. Показано, що вірогідних розходжень між розвитком контрольних і експериментальних ембріонів не було.

Для оцінки розвитку нервової та серцево-судинної систем проаналізовано розвиток очного яблука та васкуляризацію на 3, 6, 10 та 15-ту добу інкубації в контрольній і експериментальній групах. Отримані результати підтверджують позитивний вплив ЕМП НЕС на ці процеси, що може при подальших дослідженнях використане як модель для оцінки впливу ЕМП НЕС на нервову і серцево-судинну системи (рис. 4).

Таким чином, ЕМП НЕС, на нашу думку, комплексно впливає на фізіологічні системи курячих зародків в період інкубації як завдяки дії електромагнітного поля, створюваного приладом, так і низькочастотному струму, який має можливість проникати усередину курячого яйця, враховуючи фізіологічні особливості шкаралупи. Також, ми вважаємо, що першочерговий вплив здійснюється безпосередньо на розвиток алантоїса, який для зародка є органом дихання, набуває функції виділення нирок і ізолює їх, для зародка майже єдиним

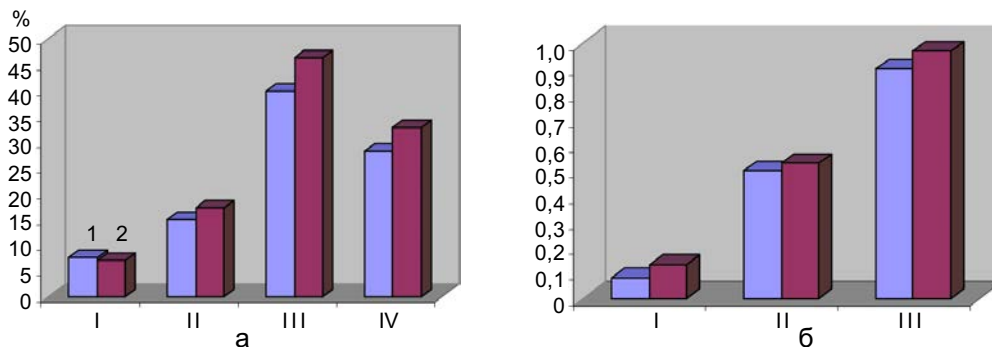


Рис. 4. Аналіз розвитку очного яблука й васкуляризації на 3-тю (I), 6-ту (II), 10-ту (III) і 15-ту (IV) добу інкубації в контрольній (1) і експериментальній (2) групах: а – аналіз площі васкуляризації; б – аналіз площі очного яблука

джерелом надходження кальцію, відіграє важливу роль у використанні зародком білка. Адже своєчасний ріст алантоїса має важливе значення для загального розвитку та росту зародка, адекватного використання білка і жовтка. Отже, ЕМП НЕС діє не на окремі органи та системи, а на функціонування усього зародка, не здійснюючи суттєвого впливу на розміри, про що свідчать результати розтину і аналізу яєць на 7, 9, 10 і 15-ту добу після закладання в третьому експерименті: істотних відмінностей між розвитком контрольних і експериментальних яєць виявлено не було, а незначні відмінності пояснюються розмірами закладених на інкубацію яєць.

## ВИСНОВКИ

1. Більш повноцінний розвиток інкубаційних яєць сприяє більш своєчасному початку виводу і більш короткій його тривалості.

2. ЕМП НЕС позитивно впливає на розвиток ембріонів.

3. ЕМП НЕС позитивно впливає на виводимість курячих інкубаційних яєць.

4. Обробка ЕМП НЕС не пошкоджує пренатальний розвиток курячих зародків.

**А.В. Ковальова**

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА НА ПРОЦЕССЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Исследовано влияние электромагнитного поля низкочастотного электрического тока на процессы пренатального развития эмбрионов кур. Учитывая большое количество внешних факторов, влияющих на результат, было проведено три инкубации. При трехкратной обработке в течение 1-й минуты (на 9, 12 и 15-е сутки инкубации) повышается выводимость яиц, сокращается время инкубации и длительность вывода, уменьшается смертность зародышей.

Ключевые слова: инкубационные яйца, электромагнитное поле низкочастотного электрического тока, выводимость, продолжительность инкубации, длительность вывода, смертность зародышей.

**A.V. Kovalyova**

## THE INFLUENCE OF A LOW-FREQUENCY CURRENT ELECTROMAGNETIC FIELD ON PRENATAL DEVELOPMENT

The influence of a low-frequency current electromagnetic field on prenatal processes of chick embryos development was investigated. Considering multiple external factors influencing the result, three incubations have been performed. By triple processing during 1 minute (for 9th, 12th and 15th incubation days), the deductibility of eggs raises, the time of incubation and output duration is reduced, decreases death rate of embryos during the incubation.

Key words: incubatory eggs, an electromagnetic field of a low-frequency electric current, deductibility, incubation duration, output duration, death rate of embryos.

*Zaporozhye National University*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Багацька О.В., Гура О.В. Дослідження анальгезії, викликаної впливом на точку акупунктури мікрохвиль низької інтенсивності, у мишей різних генотипів // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 2. – С. 80–85.
2. Березовський В.Я. Біофізична медицина. Витоки та сучасність // Там само. – 2001. – **47**, № 1 (частина 2). – С. 4–12.
3. Березовський В.Я. Специфічні та неспецифічні ефекти електромагнітних випромінювань у біологічних об'єктах // Там само. – 2003. – **49**, № 2. – С. 13–24.
4. Бреславець В.О., Сахацький М.І., Стегній Б.Т. Інкубація яєць сільськогосподарської птиці. – Харків, 2001. – 92 с.
5. Буртов Ю.З., Голдин Ю.С., Кривошипин І.П. Інкубация яиц: Справочник. – М.: Агропромиздат, 1990. – 239 с.
6. Власов Ю.В., Биляшевич Т.В. Влияние на организм человека электромагнитных полей // Безопасность жизнедеятельности: образование, экология, охрана труда, пожарная и промышленная безопасность, безопасность в ЧС: материалы XI междунар. науч. чтений МАНЭБ и Междунар. науч.-метод. конф. по безопасности жизнедеятельности, Новочеркасск, 24–26 мая 2007. – Новочеркасск: ЮРГТУ (НПИ), 2007. – С. 130–135.
7. Высоцкая Е.Ф., Степанова Н.В. Скэнар-реабилитация при вертеброгенном болевом синдроме // Педагогика, психология та мед.-біол. пробл. фіз. виховання і спорту. – 2007. – № 4. – С. 35–36.
8. Голубцова В.А. Критические периоды развития куриных эмбрионов в процессе инкубации // Сб. науч. тр. межрегион. научно-практической конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. А.К. Ермолаева. – Великие Луки. – 2005. – С. 98–101.
9. Гуляр С.О., Лиманський Ю.П. Механізми первинної рецепції електромагнітних хвиль оптичного діапа-

- зону // Фізіол. журн. – 2003. – **49**, № 2. – С. 35–44.
10. Давыдов Б.И., Зуев В.Г., Обухова С.Б. Электромагнитные поля: возможен ли канцерогенный риск? // *Авиакосм. и экол. медицина.* – 2003. – **37**, №2. – С. 16–19.
  11. Дядичкина Л. Качество яиц – залог успешной инкубации // *Птицеводство.* – 2008. – №3. – С. 21–23.
  12. Дядичкина Л.Ф., Познякова Н.С., Главатских О.В. Пособие по биологическому контролю при инкубации яиц с.-х. птицы. – Сергиев Посад, 2004 – 83 с.
  13. Дядичкина Л. Эмбриональная смертность птицы // *Птицеводство.* – 2007. – №4. – С. 8–9.
  14. Иванов В.Б., Субботина Т.И., Хадарцев А.А. Облучение экспериментальных животных низкоинтенсивным крайневысокочастотным электромагнитным полем как фактор канцерогенеза // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2005. – **139**, №2. – С. 211–214.
  15. Лиманський Ю.П., Колбун М.Д. Інформаційно-хвильова гіпотеза болю // *Фізіол. журн.* – 2004. – **50**, № 3. – С. 92–102.
  16. Лузін В.І., Похвалітій А.П., Кучеренко С.Л., Бережний Є.П. Вплив електромагнітних полів на хімічний склад регенерату кістки при пластиці дефектів керамічним гідроксилапатитом // *Фізіол. журн.* – 2003. – **49**, № 2. – С. 91–95.
  17. Мельчиков А.С., Мельчикова Н.М. Изменение гомеостаза при действии экстремальных факторов электромагнитной природы (экспериментальное исследование) // *Успехи соврем. естествознания.* – 2004. - №3. – С. 19.
  18. Орлов М.В. Биологический контроль в инкубации // Под общ. ред. И.П. Кривошишина. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Россельхозиздат, 1987. – 223 с.
  19. Острякова А.Е., Иванова Т.В., Подстрешный А.Т., Бреславец В.А. Физико-морфологические показатели качества яиц различных линий и гибридов яичных кур // *Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / УААН.* — Харків, 2003. – Вип. 53. – С. 93–100.
  20. Отрыганьев П.К., Исаев Ю.А., Дядичкина Л.Ф. Рекомендации по диагностике причин эмбриональной смертности сельскохозяйственной птицы // *ВНИТИП.* – Загорск, 1982. – 34 с.
  21. Печеніжська Т.Б., Острякова О.Є., Коваленко Г.Т., Статник І.Я. Якість яєць у ліній яєчних курей різного генетичного походження // *Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП УААН.* – Харків, 2004. – Вип. 55. – С. 83–87.
  22. Попадюха Ю.А., Сычев С.А. Применение нетрадиционных средств в профилактике остеохондроза у спортсменов силовых видов спорта // *Педагогіка, психологія та мед.-біол. пробл. фіз. виховання і спорту.* – 2007. – №4. – С. 170–174.
  23. Пресман А.С. Электромагнитное поле и живая природа. – М.: Наука, 1968. – 310 с.
  24. Прокудина Н.А., Артеменко А.Б., Огурцова Н.С. Методы биологического контроля в инкубации // Под общ. ред. Ю.А. Рябокопя. – Борки, 2006. – 107 с.
  25. Справочник по инкубации яиц/ Под ред. Ю.Н. Владимировой. – М.: Колос, 1983. – 176 с.
  26. Сушко Б.С., Лиманський Ю.П. Зміна больової реакції при поєднанні дії модуляторів оксиду азоту та низькоінтенсивного електромагнітного поля // *Фізіол. журн.* – 2005. – 51, № 5. – С. 50–55.
  27. Фисинин В.И., Дядичкина Л.Ф., Голдин Ю. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы: Метод. рекомендации / Под общ. ред. В.И. Фисинина. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2005. – 120 с.
  28. Чаяло П.П., Грубник Б.П. Характеристика показателей биологического окиснения при действии электромагнитного випромінювання міліметрового діапазону на організм людини // *Фізіол. журн.* – 2003. – **49**, № 2. – С. 31–34.
  29. Чеботарьова Л.Л., Чеботарьов Г.Є. Застосування низькоенергетичних електромагнітних впливів при діабетичних поліневропатіях // *Там само.* – 2003. – **49**, № 2. – С. 85-90.
  30. Чуян О.М., Темур'янц Н.А., Махоніна М.М., Заячкінова Т.В. Зміна концентрації цитокінів у крові щурів під впливом гіпокінетичного стресу та низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти // *Там само.* – 2005. – **51**, № 6. – С. 70–78.
  31. Электромагнитные поля в биосфере (в 2-х томах). Т.II. Биологическое действие электромагнитных полей. – М.: Наука, 1984. – 321 с.
  32. Adair R.K. Constraints on Biological Effects of Weak Extremely-lowfrequency Electromagnetic Fields // *Phys. Rev.* – 1991. – А **43**. – P. 1039–1048.
  33. Bovelli R., Bennici A. Stimulation of germination, callus growth and shoot regeneration of *Nicotiana tabacum* L. by Pulsing Electromagnetic Fields (PEMF) // *Adv. Hort. Sci.* – 2000. – **14**. – P. 3–6.
  34. Davies M.S. Effects of 60 Hz electromagnetic fields on early growth in three plant species and a replication of previous results // *Bioelectromagnetics.* 1996. – **17**. – Issue 2. – P. 154–161.
  35. De Loecker W., Delpont P.H., Cheng N. Effects of pulsed electromagnetic fields on rat skin metabolism // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – Jun 26. – **982**(1). – P. 9–14.
  36. Lucchesini M., Sabatini A.M., Vitigliano C., Dario P. The pulsed electromagnetic field stimulation effect on development of *Prunus cerasifera* in vitro derived plantlets // *Acta Horticulturae.* – 1992. – **310**. – P. 131–136.



## ХРОНІКА

### Кафедрі фізіології Донецького національного медичного університету ім. М.Горького – 80 років

У короткому звіті дуже важко описати події, які проходили протягом 80 років. Зупинимося на головних віхах шляху кафедри фізіології Донецького національного медичного університету. Кафедра фізіології була заснована в 1931 р. Першим її керівником став харків'янин, учень видатного фізіолога, академіка В.Я.Данилевського професор Микола Миколайович Кудрявцев. На кафедрі почалися дослідження реактивності судин ізольованих органів, що могло мати значення у трансплантології. Це тривало до трагічної загибелі М.М. Кудрявцева в 1933 р.

Наступні три роки в житті кафедри можна назвати «неясними». Нею керували або тимчасово, як це було із професором Г.В.Скіпіним, а потім із доцентом А.С. Борщевським, або за сумісництвом, як це робили завідувач кафедри патологічної фізіології професор М.П. Вашетко та завідувач кафедри біохімії професор А.І. Войнар.

У лютому 1936 р. кафедру очолив доцент Олександр Борисович Фельдман, який приїхав з Харкова, та керував нею протягом 35 років з перервою на військовий час. О.Б. Фельдман під час евакуації працював у Анджані харчовим інспектором області. У 1943 р. він повернувся із Середньої Азії в м. Сталіно та знову очолив кафедру фізіології в медичному інституті. В 1946 р. О.Б. Фельдман стає професором. Науковий напрямок, яким займалися співробітники кафедри під його керівництвом, був пов'язаний із деякими особливостями центрального гальмування, яке виникає при дії на живий організм тривалих подразнень, що повторюються. У післявоєнні роки почалися дослідження теплового впливу на функції центральної нервової системи, а з 1958 р. – впливу емоційних реакцій на вищу нервову

діяльність, серцево-судинну систему й травлення.

У 1960 р. кафедра вже була науковим колективом, що сформувався. Майже всі її співробітники були кандидатами наук, а деякі й доцентами. У кожного з них був свій напрямок досліджень. Так, доцент О.В. Обоніцка займалася впливом повторюваних подразнень на роботу серця та вищу нервову діяльність, доцент Н.В. Маєвська – проблемами травлення, доцент В.А. Леках – терморегуляцією, доцент В.П. Скалозуб – центральним гальмуванням, асистент Є.Є.Сердюк – диханням.

У 1965 р. на кафедрі почалися дослідження нового напрямку – розробки основ фізіологічної оптимізації та нормування праці робітників вугільної промисловості, які проводилися під керівництвом професора Федора Терентійовича Агаркова.

Вся наукова група займалася тим самим направленням досліджень, які велися за замовленням Комітету праці й заробітної плати при Раді Міністрів СРСР. У групу входили професор М.І. Тарапата, доценти Б.Г. Попов і В.Ф. Андрєєва, аспірант Ю.Є. Лях. Спільні дослідження, проведені значним числом наукових співробітників, створювали умови для концентрації зусиль в одному напрямку, тому результати відразу дали про себе знати. На підставі отриманих даних була розроблена класифікація гірських робіт зі ступенем важкості праці та нормативів відпочинку, доведена економічна невідповідність нічних змін праці шахтарів. З 1971 по 1972 рр. професор Ф.Т. Агарков виконував обов'язки завідувача кафедри.

У цей період ректорат інституту оголосив конкурс на посаду завідувача кафедри

фізіології, за результатами якого її очолив професор Валерій Миколайович Казаков, що приїхав у Донецьк з Кемеровського медичного інституту МОЗ РРФСР, де він протягом двох років очолював таку саму кафедру. Надалі В.М. Казаков був обраний академіком і членом президії НАМН України, одержав звання заслуженого діяча науки й техніки України. У 1975 р. він став проректором з наукової роботи медичного інституту, а з 1985 р. – його ректором. На цій посаді В.М. Казаков працював протягом 25 років, до 2010 р. У 2008 р. йому було присвоєно звання Героя України.

Відразу після приїзду у Донецьк Валерій Миколайович почав проводити дослідження у зовсім новому для кафедри напрямку – це була системна нейрофізіологія. Перша тема, яку стали розробляти на кафедрі під його керівництвом, була присвячена нейрофізіологічному аналізу кортико-лімбічних відносин. Цю тему підказав академік НАН України, професор П.М. Серков, з яким у кафедрі сформувалися багаторічні наукові взаємини.

На кафедрі створили нейрофізіологічну лабораторію, де стали працювати асистент П.Я. Кравцов, наш випускник лікар В.М. Расохін та дві аспірантки О.А. Прохіна й Т.Г. Віннікова. Ці співробітники ввійшли в групу, що проводила спільні експерименти, хоча в кожного був свій напрямок. О.А. Прохіна займалася впливом різних у еволюційному відношенні кортикальних формацій на нейрони медіальних ядер таламуса, П.Я. Кравцов те саме – на ядра гіпоталамуса, а В.М. Расохін – на структури гіпокампа. Вчені зібрали унікальний матеріал, що давав уявлення про топічну та функціональну організацію кортико-лімбічних взаємовідносин. Ці дані неодноразово доповідалися на форумах різного рівня та завжди викликали велику зацікавленість. Наприкінці 80-х років на кафедру прийшли випускники біологічного факультету Донецького національного університету

І.Е. Кузнєцов та О.В. Терещенко. Працюючи на кафедрі, вони дали можливість співробітникам побачити виняткову експериментальну майстерність першого з них і відчутти особливу атмосферу комп'ютерного забезпечення життя кафедри – іншого. Незабаром І.Е. Кузнєцов став доктором, а О.В. Терещенко – кандидатом біологічних наук, доцентом.

У 1989 р. при кафедрі була організована науково-дослідна лабораторія теоретичної й прикладної нейрофізіології НАН України. В 2007 р. її очолив професор М.І. Тарапата. Лабораторія на високому науковому рівні проводить фундаментальні та клінічні дослідження у різних галузях нейронаук: нейронтрансплантології, ендокринології та неврології. Їх здійснюють професори М.І. Тарапата й П.Я. Кравцов, доцент Н.В. Прокоф'єва, кандидати наук В.О. Коноплянко й Д.Ю. Кустов. Головні ж наукові напрямки лабораторії – вивчення зорових і когнітивних функцій мозку у нормі та при патологічних станах, які ведуться доцентом М.О. Снегір під керівництвом професора Б.Б. Івнева, центральних механізмів гомеостазу, якими керує професор Л.В. Натрус, механізмів опіоїдної рецепції, які вивчає група доктора біологічних наук Т.І. Панової. Треба згадати також дослідження викликанної електричної активності мозку в умовах змін кровообігу стовбура мозку в нормі та патології (доцент А.Г. Снегір), та нейрохімії кортико-гіпоталамічних взаємин (доцент О.В. Гайдарова).

Паралельно з цим на кафедрі змінюється організація навчального процесу. Насамперед уніфікується викладання предмета так, щоб кафедра мала власне обличчя. Хронічна нестача лабораторних тварин стимулювала пошук нових демонстраційних форм проведення практичних занять. На кафедрі було створено кілька гарних навчальних фільмів, а з появою відеокамери їхнє число збільшилося у багато разів. Кожна навчальна кімната була

оснащена широкоформатним телевізором, що надавало можливість на багатьох заняттях демонструвати фрагменти експериментів. Таке широке застосування телебачення було новим у викладанні, якщо врахувати, що все це відбувалося 30 років тому.

Кафедра фізіології організувала безліч авторитетних наукових форумів. У 1984 та 1998 р. у Донецьку проходили з'їзди Українського фізіологічного товариства. У 1981 р. відзначалося 50-річчя кафедри, яке пройшло у вигляді виїзної сесії Наукової ради «Фізіологія людини і тварин» АН УРСР. У 1991 р. була проведена ще одна така сесія, вона була присвячена 60-річчю кафедри.

Уже у наш час до керівництва кафедри неодноразово звертався академік АН Вірменії О.Г. Баклаваджян щодо відродження Діліжанських конференцій з центральних механізмів регуляції вегетативних функцій, які були загальносоюзними та перестали проводитися з фінансових міркувань. Кафедра відродила їх і провела три міжнародні конференції-симпозіуми з фізіології вегетативної нервової системи на базі санаторію «Ювілейний» у м. Слов'янськ. Це було у 2000, 2003 та 2007 рр. Після утворення Всеукраїнського товариства «Нейронаук» донецьке його відділення провело три конференції в 2001, 2005 й 2008 рр. Остання конференція була присвячена 100-річчю з дня народження академіка П.М. Серкова. У цих форумах брали участь видатні фізіологи України, Росії,

Білорусії та Вірменії.

Кафедра має авторитет серед наукових колективів України. В університеті з 1991 р. функціонує спеціалізована рада з захисту докторських дисертацій за фахом «нормальна фізіологія», видаються журнали: «Архів клінічної й експериментальної медицини», «Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти», «Університетська клініка», головним редактором яких є академік НАМН України В.М. Казаков. Він також є членом редакційної колегії «Фізіологічного журналу» НАН України й журналу «Нейрофізіологія». З 1978 р. В.М. Казаков – член Міжнародного комітету з вивчення мозку (IBRO) при ЮНЕСКО, він є почесним президентом, а професор Л.В. Натрус – віце-президентом Українського фізіологічного товариства. В.М. Казаков – віце-президент Українського національного товариства нейронаук.

Досягнення кафедри відзначені науковою громадськістю. У 1982 р. В.М. Казаков і П.М. Серков були визнані гідними премії ім. О.О. Богомольця АН УРСР за монографію «Нейрофізіологія таламуса» (1980). У 2001 р. В.М. Казаков і В.А. Бочаров одержали премію ім. В.П. Комісаренка НАН України за розробку патогенезу атипичного нейродерматиту. За дослідження механізмів розвитку хвороби Альцгеймера В.М. Казаков, Б.Б. Івнєв та А.Г. Снегір у 2004 р. були нагороджені премією НАМН України.

## CONTENTS

M.O. Kuzmenko, V.B. Pavlyuchenko, L.V. Tumanovs'ka, V.E. Dosenko, O.O. Moybenko. Interrelation between cardiac pump function disturbances and cardiac contractility after $\beta$ -adrenergic hyperstimulation in rats	3
E.V. Dolgaya, N.Kh. Pogorelaya, E.S. Bogorad-Kobelskaya, S.A. Andronati, I.S. Magura. Effects of amixine on electrophoretic mobility of murine t lymphocytes	14
A.M. Shysh, D.O. Pashevin, V.E. Dosenko, A.A. Moibenko. Correction of lipid peroxidation and antioxidant system by bioflavonoids during modeling of rabbit cholesterol atherosclerosis	19
N.D. Nosenko, , I.Yu. Ganzhiy, P.V. Sinitsyn L.I. Polyakova, L.V. Tarasenko, A.A. Limareva, L.V. Chaikovskaya A.G. Reznikov. Effect of chronic stress during puberty on reproductive system of female rats with experimental hyperandrogenicity	27
N.A. Ryzhkova, T.I. Gavrilenko, A.N. Parkhomenko, S.N. Kozhukhov. Metabolic activity of neutrocytes and possible ways of its correction in patients with an acute coronal syndrome	35
A.V.Ataman, Y.A.Ataman. Comparative characteristic of energy supply disturbances in arterial and venous walls of rabbits with alloxan diabetes and monoiodacetate intoxication	43
V. Kalnysh, A. Shvets, A. Yeschenko. The changes in mental working capacity of operators at 24-hour shift	49
L.S. Yazlovytska, M.R. Khara, L.H. Palamar. Age-dependent peculiarities of the functional state of cardiovascular system in children with cerebral palsy	58
O. V. Denefil. Significance of adreno- and cholinoreceptors in cardiac rhythm regulation during different weather types	66
Yuri Koryak. Physiological adaptations to weightlessness: the contractile properties and fatiguability of the human triceps surae muscle after exposure to simulated microgravity environments	76
V.S. Zhuromsky, O.Ya. Sklyarov. Effect of vitamin c on the condition of no-synthase system in experimental ulcer of the stomach	90
A.V. Kovalyova. The influence of a low-frequency current electromagnetic field on prenatal development	99