

И. Чумаченко, асп., С. Шандренко, канд. биол. наук
Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины, Киев

МОДИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАБИЛЬНОГО ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Целью работы было разработать и проверить модификацию биохимического метода определения лабильного железа в плазме крови. За основу был взят стандартный метод определения железа в плазме крови с использованием цветореагента феррозина. Суть модификации заключается в применении нейтрального буфера, который предотвращает высвобождение железа из железо-транспортных протеинов. Метод был проверен на моделях *in vitro* и *in vivo*. В модельных опытах с растворами FeSO_4 и FeCl_3 приготовленными на 4% растворе альбумина при нейтральном pH регистрировалось формирование комплекса феррозин-железо с максимумом поглощения $\lambda = 562$ нм. В опыте на модели рабдомиолиза на фоне повышения гемоксигеназной активности регистрировалось образование пула лабильного трехвалентного железа в плазме крови опытных животных, который отсутствовал в контроле. Полученные результаты указывают на эффективность модифицированного метода и возможность его применения в экспериментальных и клинических опытах.

Ключевые слова: рабдомиолиз, феррозин, железо, трансферрин.

I. Chumachenko, PhD-student, S. Shandrenko, PhD.
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv

THE MODIFIED METHOD FOR BLOOD SERUM LABILE IRON QUANTIFICATION

The goal of the research was to develop and test the modification of biochemical method for blood plasma labile iron quantification. As the basis a standard method for plasma iron determination with color reagent ferrozine was taken. Modification essence consists in applying a neutral buffer which prevents the release of iron from the iron-transport protein. The method was tested on *in vitro* and *in vivo* models. In experiments with FeSO_4 and FeCl_3 solutions iron-ferrozine complex formation with maximum OD $\lambda=562\text{nm}$ was registered. Iron solutions were prepared on 4% albumin at neutral pH. In rhabdomyolysis model experiment, while heme oxygenase activity increase, the pool of labile ferric iron in blood plasma of experimental animals was measured. Such iron was absent in the control group. The results indicate the modified method effectiveness and the possibility of its usage in experimental and clinical trials.

Key words: rhabdomyolysis, ferrozine, iron, transferrin.

УДК 612.3+612.014.1

Ю. Вінник, асп., П. Цапенко, канд. біол. наук,
Т. Лященко, канд. біол. наук, С. Весельський, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ЖОВЧОСЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІДРОКОРТИЗОВАНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

В гострих спробах на щурах досліджено вплив гідрокортизону (40 мг/кг маси тіла тварини) на особливості відтворення печінкою зовнішньої секреторної функції. Встановлено, що цей гормон сприяє посиленню процесів кон'югації жовчних кислот з гліцином та таурином в гепатоцитах печінки щурів та забезпечує незначний холеретичний ефект. Відзначимо, що навантаження досліджуваною дозою покращує колоїдні та солюбілізаційні властивості секрету. За умов гідрокортизон-індукованого стресу спостерігається значне зниження рівня, що може бути частково наслідком інгібувочої дії гормону на ферментні системи синтезу *de novo*.

Ключові слова: гідрокортизон, печінка, жовчні кислоти.

Вступ. Печінка є найбільшою травною залозою, якій притаманні багаточисельні функції, котрі на належному рівні забезпечують сталість внутрішнього середовища та узгодженість функціонування органів і систем організму. Внаслідок індивідуальної і кооперативної діяльності клітин печінки відбуваються метаболічні процеси біосинтезу і розчеплення сполук, інтеграція чого забезпечується комплексом регуляторних механізмів [2].

Динамічність складу та властивостей жовчі визначається видовими, статевими та віковими особливостями організму, функціональним станом печінки, інших органів та систем, в тому числі і регуляторних, і, звичайно, характером, силою, тривалістю та поєднанням впливів на організм агентів зовнішнього середовища [4, 5]. Щоденно організм зазнає впливу стресорних чинників, які визначаються як подразники, що загрожують гомеостазу та як такі, що є потенційно небезпечними для організму. Дія зазначених факторів неминує впливає на функціонування окремих органів та систем організму, оскільки такий неспецифічний вплив спричиняє метаболічну перебудову, до якої залучені усі відомі ланки обміну речовин [1]. Тому, досить важко сказати які органи чи системи не задіяні у формуванні стресової відповіді та розвитку адаптивної реакції на стресовий вплив. Печінка, як одна з найголовніших травних залоз організму одночасно є ключовим органом в проміжному обміні речовин та її роль в адаптивній реакції є винятковою,

так як впродовж всього життя індивіда печінка, виконуючи свої багаточисельні функції, забезпечує організм необхідними енергетичними та пластичними матеріалами для нормального існування та життєдіяльності. Вивчення особливостей функціонування органів травної системи в умовах стресу наразі є досить актуальним, проте існуючі літературні дані є суперечливими [6, 7, 8, 10]. У механізмах декомпенсації адаптаційних можливостей організму за умов стресу істотну роль відіграють порушення у системі нейрогуморальної регуляції. Важливе значення у гуморальному компоненті цієї системи мають кортикостероїдні гормони, які контролюють як метаболічне забезпечення органів, так і стан тканинних регуляторних систем, що формують захисні реакції організму. Неоднозначні відповіді гепатобілярної системи спостерігаються за умов експериментального гідрокортизонавого навантаження, про що свідчать поодинокі літературні дані [9, 11, 13]. Потребують більш детального дослідження особливості функціонування гепатобілярної системи, що можуть бути викликані дією стресових агентів. Визначення швидкості холерезу та біохімічного складу жовчі в якості об'єкта досліджень являє інтерес не лише для вивчення особливостей обміну речовин в печінці, але й для розуміння механізмів метаболічної регуляції на клітинному рівні. Оскільки для функціонування стрес-реалізуючих систем характерна лабільність, що забезпечує належний захист органів та

систем організму від стресових впливів та їх наслідків. Метою роботи стало дослідження особливостей жовчосекреторної функції печінки щурів в умовах штучно модельованого експериментального стресу, шляхом введення гідрокортизону, який є однією з універсальних пускових гуморальних ланок стресової відповіді.

Матеріали та методи.

Визначення рівня холерезу. Досліди проводилися на 20 нелінійних білих щурах-самцях зрілої вікової групи в умовах гострого експерименту. Під час дослідів тварини знаходились під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г маси тіла). Перед дослідом тварини голодували протягом доби, доступ до води був вільним.

Після наркотизації тваринам проводили лапаротомію і для отримання проб жовчі у відпрепаровану загальну жовчну протоку вводили пластикову канюлю. Експериментальній групі тварин підшкірно вводили гідрокортизон (Gedeon Richter, Угорщина) у розрахунок 40 мг/кг маси тіла тварини [14, 16], аналогічним чином контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин. Інтенсивність секреції жовчі визначали через кожні 10 хвилин впродовж 2,5 годин після введення речовини. Об'єм швидкість секреції жовчі розраховували в мкл/г маси тіла тварини/хв. Експерименти проводили згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, Франція, 1985).

Визначення змін вмісту жовчних кислот. Жовчні кислоти у кожній 30 хвилинній пробі жовчі визначали з допомогою тонкошарової хроматографії [3]: 0,1 мл жовчі додавали до 1,8 мл охолодженої екстрагуючої суміші етанол-ацетон (1:3). Проби охолоджували впродовж 30 хвилин, після чого центрифугували 10-12 хвилин при 3000-4000 об/хв. Екстракт висушували при температурі 37-40°C до сухого залишку. Сухий залишок розчиняли у 100 мкл суміші етанол-вода (6:4). 10 мкл проби наносили на попередньо промиті і розмічені хроматографічні пластинки. Хроматографічне розподілення вільних і кон'югованих жовчних кислот здійснювали у суміші аміловий ефір оцтової кислоти – толуол – бутанол – оцто-

ва кислота – вода (3:1:1:3:1) на платівках "Silufol". Ідентифікацію фракцій жовчних кислот проводили за допомогою стандартів і флуоресценції в ультрафіолетовому опроміненні. Жовчні кислоти розподілялися таким чином: таурохолева (ТХК), суміш таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої (ТХДХК+ТДХК), глікохолева (ГХК), суміш глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої (ГХДХК+ГДХК), холева (ХК), суміш хенодезоксихолевої і дезоксихолевої (ХДХК+ДХК). Для кількісного визначення вмісту жовчних кислот хроматограми попередньо оприскували барвниками: 15 мл льодяної оцтової кислоти, 1 г фосфорномоліденової кислоти, 1 мл сірчаної кислоти і 5 мл 50%-го розчину трихлороцтової кислоти. Хроматограми проявляли при температурі 60-70°C впродовж 5 хвилин і визначали вміст жовчних кислот на денситометрі ДО-1м (I-620 нм).

Дебіт складових частин жовчі визначали множенням кількості речовини в одиниці об'єму на весь об'єм отриманої проби секрету і розраховували в мкл/г маси тіла тварини.

Отримані дані перевірялись на нормальність розподілу за тестом Шапіро-Уїлка. Нормально розподілені дані обраховувались із застосуванням критерію t Стюдента. За застосуванням критерія Левена приймається гіпотеза про однорідність дисперсій з $\alpha > 0,05$. Статистично значущими вважались відмінності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Проведення експериментального дослідження характеризується створенням спеціальних умов для здійснення потрібних маніпуляцій. Зазначені зміни відображаються на протіканні фізіологічних процесів, зокрема на процесах утворення та виділення жовчі. Так, впродовж експерименту відбувається втрата жовчі організмом, також спостерігається зміна нервових впливів на гепатобіліарну систему, зумовлена стресовими умовами, викликаними застосуванням певних речовин. У тварин контрольної групи спостерігалось деяке невірогідне зниження рівня жовчної секреції, що пов'язане із втратою одного з головних компонентів секрету – жовчних кислот, котрі також є саморегуляторами холесекреції. У наших дослідженнях вивчався вплив хімічно модульованого за допомогою гідрокортизону стресу на холесекрецію щурів (Рис. 1).

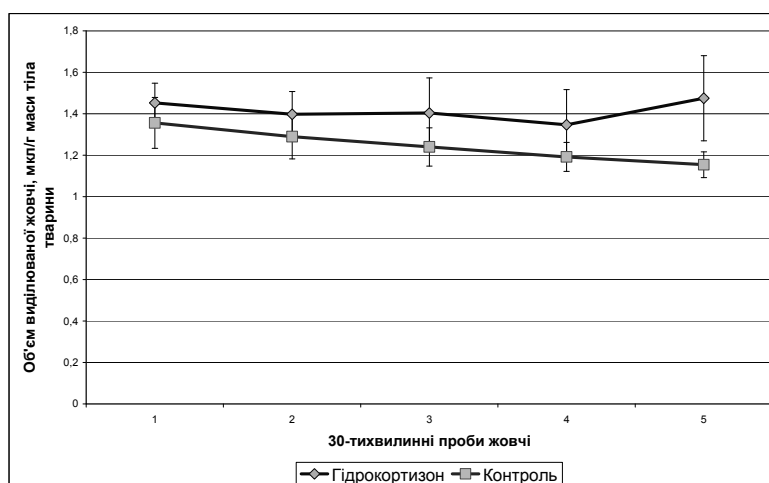


Рис. 1. Рівень холесекреції у щурів за умов гідрокортизонового стресу ($M \pm m$; $n=20$)

Після застосування досліджуваного гормону рівень жовчної секреції істотно не змінювався, проте було відмічене стрибкоподібне підвищення об'ємної швидкості холесекреції наприкінці дослідів, що проявилось у зміні кута нахилу кривої рівня холерезу в напрямку стимуля-

ції. Порівняння рівнів жовчного відтоку у тварин обох груп не виявляє статистично достовірних відмінностей, однак показники холесекреції в кожній пробі є вищими у тварин експериментальної групи.

Властивості жовчі як секрету залежать від якісного складу та співвідношення одних з основних її компонентів – жовчних кислот. Концентрації жовчних кислот у секреті тварин контрольної групи знижуються, оскільки вони втрачаються впродовж дослідів, що є наслідком розриву їх ентерогепатичного колообігу. Так, у тварин контрольної групи спостерігалось зниження вмісту кон'югованих з таурином та гліцином жовчних кислот. Вміст вільної холової кислоти також знижувався впро-

довж дослідів у той час як концентрація суміші ХДХК+ДХК змінювалась як у бік збільшення, так і зниження. Відносний вміст жовчних кислот після застосування гідрокортизону мав значні зміни (Табл. 1). Після введення біологічно активної речовини був відмічений загальний стимулюючий вплив на вміст ТХК, ТХДХК+ТДХК, ГХК та ГХДХК+ГДХК та гальмуюча дія на утворення вільної холової кислоти на фоні практично незмінної концентрації ХДХК+ДХК.

Таблиця 1. Концентрації жовчних кислот у жовчі щурів зрілої групи під впливом гідрокортизонавого навантаження ($M \pm m$; $n=20$)

Номер проби	Група тварин	ТХК	ТХДХК+ТДХК	ГХК	ГХДХК+ГДХК	ХК	ХДХК+ДХК
1 0-30хв.	Контроль	169,7 $\pm$ 3,76	89,4 $\pm$ 4,1	134,5 $\pm$ 4,56	10,1 $\pm$ 1,48	29,47 $\pm$ 1,92	7,83 $\pm$ 0,71
	Гідрокортисон	235,73 $\pm$ 10,27 **	127,4 $\pm$ 0,79 ***	184,77 $\pm$ 6,9 **	46,4 $\pm$ 9,31 *	7,77 $\pm$ 1,27 ***	7,17 $\pm$ 0,45
2 30-60хв.	Контроль	165,53 $\pm$ 4,1	85,47 $\pm$ 4,62	132,3 $\pm$ 6,14	10,1 $\pm$ 1,21	28,53 $\pm$ 1,36	7,0 $\pm$ 0,75
	Гідрокортисон	231,23 $\pm$ 4,45 ***	123,8 $\pm$,87 *	159,87 $\pm$ 12,5	41,27 $\pm$ 8,32 *	8,17 $\pm$ 1,39 ***	7,17 $\pm$ 0,32
3 60-90хв.	Контроль	160,0 $\pm$ 3,73	81,53 $\pm$ 4,42	126,5 $\pm$ 4,35	9,53 $\pm$ 1,23	25,83 $\pm$ 1,25	7,47 $\pm$ 0,96
	Гідрокортисон	229,37 $\pm$ 5,7 ***	113,53 $\pm$ 4,47 **	156,27 $\pm$ 7,5 *	38,13 $\pm$ 5,96 **	8,7 $\pm$ 1,43 ***	7,27 $\pm$ 0,42
4 90-120хв.	Контроль	155,13 $\pm$ 3,94	76,37 $\pm$ 4,2	121,57 $\pm$ 3,37	9,37 $\pm$ 1,4	23,7 $\pm$ 1,88	7,17 $\pm$ 0,87
	Гідрокортисон	227,93 $\pm$ 7,39 ***	120,2 $\pm$ 1,97 ***	148,73 $\pm$ 10,84	35,0 $\pm$ 5,13 **	8,67 $\pm$ 1,11 **	7,33 $\pm$ 0,52
5 120-150хв.	Контроль	141,1 $\pm$ 3,18	68,8 $\pm$ 4,81	118,2 $\pm$ 3,26	8,87 $\pm$ 1,25	23,6 $\pm$ 2,57	7,37 $\pm$ 1,26
	Гідрокортисон	225,5 $\pm$ 9,64 **	123,53 $\pm$ 3,67 ***	144,5 $\pm$ 9,15	29,3 $\pm$ 1,67 ***	9,0 $\pm$ 1,46 **	7,3 $\pm$ 0,66

Примітки: * – $p < 0,05$ щодо контролю; ** – $p < 0,01$ щодо контролю; *** – $p < 0,001$ щодо контролю.

Зміни біохімічного складу жовчі гідрокортизон-навантажених щурів відобразились у відсотковому вмісті гліко- та таурохолатів та концентрації холової кислоти. Зокрема, відбувалось значне збільшення концентрацій не лише таурохолевой та глікохолевой кислот, а й відносного вмісту суміші згаданих кон'югатів у жовчі тварин експериментальної групи при помітній пригнічуючій дії глюкостертикоїду на утворення холової кислоти. Виразений стимулюючий вплив гормону на виведення таурохолевой кислоти із жовчу щурів спостерігався впродовж всього експерименту ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Як у контрольній, так і у дослідній групах концентрація ТХК у секреті тримався практично на одному рівні впродовж дослідів, але за умов гідрокортизонавого навантаження цей рівень був значно вищим 141,1 $\pm$ 3,18 мг% ($p < 0,01$) проти 225,5 $\pm$ 9,64 мг% ($p < 0,001$) (в п'ятій пробі). Рівень глікохолевой кислоти в жовчі щурів експериментальної групи збільшився після введення гідрокортизону, проте статистично значимі відмінності у показниках порівняно із тваринами контрольної групи спостерігались лише в 1-й та 3-й пробах ($p < 0,01$ та $p < 0,05$ відповідно). Результати проведених аналізів свідчать про значний стимулюючий вплив гідрокортизону на виділення суміші ТХДХК+ТДХК з жовчу у дослідних щурів порівняно з тваринами контрольної групи. Однак, слід зазначити, що вміст зазначених кислот у контролі знижувався з

часом, тоді як гідрокортисон сприяв підтриманню практично сталого високого значення вмісту зазначених кислот у жовчі тварин експериментальної групи. Вміст суміші глікохолатів у жовчному секреті тварин зрілої групи статистично збільшувався після введення гідрокортизону порівняно з контрольною групою, але впродовж дослідів їх вміст мав тенденцію до зниження. Стоєвню вмісту вільної холової кислоти в жовчі щурів, то гідрокортисон справляв яскраво виражений пригнічуючий вплив. Так, у тварин дослідної групи відбувалось достовірне зниження вмісту в жовчі холової кислоти внаслідок введення гідрокортизону. До того ж гальмівний ефект був постійним впродовж дослідів. Вміст суміші ХДХК+ДХК не мав чітко визначеної тенденції після застосування гормону та коливався як у бік збільшення, так і у протилежному напрямку на різних етапах експерименту. Зменшення вмісту вільної холової кислоти у жовчі експериментальних тварин може бути не лише наслідком гальмуючого впливу гідрокортизонавого навантаження на синтез кислот de novo, а й значною мірою залученням великої їх частки до процесу утворення кон'югованих холатів.

Достатньо інформативними є показники гідроксилування та кон'югації, які ми також порівнювали у наших дослідженнях (Табл. 2).

Таблиця 2. Коефіцієнти кон'югації (КК) та гідроксилування (КГ) жовчних кислот щурів під впливом гідрокортизонавого навантаження ($M \pm m$; $n=20$)

Показник	Група тварин/Номер проби, час (хв.)	0-30	30-60	60-90	90-120	120-150
КК	Контроль	10,91 $\pm$ 0,79	12,82 $\pm$ 2,24	11,45 $\pm$ 0,96	11,9 $\pm$ 1,12	11,14 $\pm$ 1,19
	Гідрокортисон	40,72 $\pm$ 4,85 **	37,37 $\pm$ 5,14 *	34,61 $\pm$ 3,61 **	34,04 $\pm$ 3,94 **	32,97 $\pm$ 3,69 **
КГ	Контроль	3,11 $\pm$ 0,07	3,19 $\pm$ 0,08	3,18 $\pm$ 0,14	3,24 $\pm$ 0,11	3,33 $\pm$ 0,09
	Гідрокортисон	2,32 $\pm$ 0,14 **	2,34 $\pm$ 0,13 **	2,47 $\pm$ 0,21 *	2,38 $\pm$ 0,18 *	2,38 $\pm$ 0,12 **

Примітки: * – $p < 0,05$ щодо контролю; ** – $p < 0,01$ щодо контролю.

Застосування гідрокортизону сприяє збільшенню коефіцієнта кон'югації за рахунок стимулювання процесів кон'югації з гліцином та таурином, що позитивно впливає на сольобілізаційні властивості секрету. Збільшені значення коефіцієнтів кон'югації мають тенденцію до зниження впродовж експерименту.

Зазначимо, що після введення гормону спостерігалось статистично значуще зниження показників коефіцієнту гідроксилування, що є свідченням впливу гідро-

кортизону на систему перетворення жовчних кислот із переважанням утворення диоксихоланових кислот. Пригнічуюча дія гідрокортизону на процеси гідроксилування виявлялась впродовж всього дослідів, зберігаючи показники на стабільно низьких рівнях.

Окрім змін відносного вмісту (концентрація) хімічних складових жовчі у досліджуваних тварин вивчали абсолютний вміст (дебіт) зазначених речовин, оскільки він характеризує продуктивні можливості печінки в цілому (Табл. 3).

Таблиця 3. Зміни дебіту жовчних кислот у щурів зрілої групи під впливом гідрокортизонового навантаження (мкг/г маси тіла тварини; $M \pm m$; $n=10$)

Номер проби	Група тварин	ТХК	ТХДХК+ТДХК	ГХК	ГХДХК+ГДХК	ХК	ХДХК+ДХК
1	Контроль	2,16±0,19	1,14±0,11	1,72±0,19	0,13±0,008	0,38±0,06	0,1±0,02
	Гідрокортизон	3,42±0,21 *	1,85±0,12 *	2,68±0,17 *	0,68±0,16 *	0,11±0,02 *	0,1±0,013
2	Контроль	2,63±0,19	1,35±0,09	2,1±0,07	0,16±0,03	0,45±0,03	0,11±0,01
	Гідрокортизон	3,23±0,25	1,72±0,1	2,21±0,06	0,58±0,14 *	0,12±0,03 ***	0,1±0,012
3	Контроль	2,33±0,037	1,18±0,02	1,84±0,07	0,14±0,014	0,38±0,03	0,11±0,02
	Гідрокортизон	3,21±0,38	1,61±0,25	2,17±0,18	0,57±0,1 *	0,12±0,03 **	0,1±0,02
4	Контроль	2,26±0,14	1,1±0,07	1,75±0,05	0,14±0,03	0,34±0,02	0,1±0,02
	Гідрокортизон	3,04±0,28	1,62±0,23	1,97±0,15	0,47±0,08 *	0,12±0,03 **	0,1±0,02
5	Контроль	1,93±0,133	0,93±0,04	1,6±0,08	0,12±0,02	0,32±0,05	0,1±0,02
	Гідрокортизон	3,31±0,43 *	1,83±0,29 *	2,11±0,27	0,43±0,07 **	0,14±0,04 *	0,1±0,02

Примітки: * – $p < 0,05$ щодо контролю; ** – $p < 0,01$ щодо контролю; *** – $p < 0,001$ щодо контролю.

Результати, отримані у щурів експериментальної групи показують переважання у жовчі загального вмісту кон'югованих жовчних кислот: ТХК, ТХДХК+ТДХК та ГХК у тварин контрольної та експериментальної груп. Також підвищується рівень ГХДХК+ГДХК після введення гормону, а рівні ХК та ХДХК+ДХК незначно знижуються чи навіть лишаються практично незмінними після гормонального впливу.

Вміст таурохолевої кислоти у жовчі гідрокортизон-індукованих щурів має статистично значиме переважання порівняно із контрольною групою. Вміст суміші ТХДХК+ТДХК в жовчі щурів експериментальної групи має достовірно вищі показники, ніж у контрольній групі, особливо на початку та в кінці дослідження. Застосування гормону сприяє максимальному підвищенню вмісту у жовчі тварин кон'югованих з гліцином жовчних кислот на початку експерименту. Впродовж дослідження цей показник поступово знижувався, хоча і був значно вищим за контрольні значення. Статистично значимі відмінності спостерігались для рівнів суміші ГХДХК+ГДХК у жовчі дослідної групи. Однак зміни рівня вільних жовчних кислот в жовчі тварин зазнав зворотних тенденцій після введення гідрокортизону – спостерігалось статистично значиме зниження абсолютного вмісту холевої кислоти. Загалом, можна вважати, що гідрокортизон сприяє інтенсифікації процесів кон'югації з таурином та гліцином (+46,45%), тим самим покращуючи колоїдні властивості секрету. Це в певній мірі співпадає з виявленими ефектами гідрокортизону на активацію інтрацелюлярного біосинтезу та експорту протеїнів і, можливо, є одним із молекулярних механізмів холеретичної дії глюкокортикоїдів [12, 15]. Одночасно відбувається гальмування утворення вільних жовчних кислот та їх сумішей (-52,98%). Однак гальмівний вплив речовини є частковим, оскільки значна частина синтезованих вільних холатів приймає участь в утворенні кон'югованих жовчних кислот. Стимулюючий вплив на утворення кон'югатів можна вважати модулюючим, оскільки переважання гліцин – та тауринвмісних кислот спостерігалось і у контрольній групі.

Висновки. Підсумовуючи викладену інформацію, можна робити висновки про деякий холеретичний ефект гідрокортизону, стимулюючий вплив застосування глюкокортикоїду на утворення кон'югатів з гліцином та таурином у жовчі щурів, що є свідченням нормальної роботи поліферментних систем, які забезпечують утворення жовчі та певний гальмівний вплив гормону на утворення вільних холатів. Одночасно із посиленням

процесу кон'югації, гідрокортизонове навантаження стримує процеси гідроксилювання в гепатоцитах. Зниження рівня вільних жовчних кислот в секреті може бути частково пов'язане із гідрокортизон – індукованими змінами у роботі поліферментних систем, які забезпечують синтез кислот *de novo* та одночасним залученням значної частини вільних холатів до утворення кон'югованих жовчних кислот.

Список використаних джерел

1. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / Барабой В.А. – Киев: Фитосоциогенет, 2006. – 424 с.
2. Биць Н.В. Експресія ліпополісахаридних рецепторів на клітинах печінки щура у нормі та при запаленні / Биць Н.В., Хижняк С.В. // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т.76, №1. – С. 17-22.
3. Весельский С.П., Лященко П.С., Лукьяненко И.А. А.с.№1624322. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости. Опубл. в Бюлл., 1991, №4.
4. Ганиткевич Я.В. Роль желчи и желчных кислот в физиологии и патологии организма / Ганиткевич Я.В. – К.: Наукова думка, 1980. – 170 с.
5. Саратиков А.С. Желчеобразование и желчегонные средства. Изд. 2-е, перераб. и дополн. / Саратиков А.С., Скакун Н.П. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1991. – 260 с.
6. Kvetnansky R., Fukuhara K., Pacák K., Cizza G., Goldstein D.S., Kopin I.J. Endogenous glucocorticoids restrain catecholamine synthesis and release at rest and during immobilization stress in rats. *Endocrinology*. 1993 Sep;133(3):1411-9.
7. Klusek J. The effect of hydrocortisone on the concentration of triacylglycerols and cholesterol in the liver and of micromaintained on two diets differing in protein level / Klusek J., Seta E., Świdarska-Kolacz G., Jozwik A., Kolataj J.A. // *Animal Science and Reports*. – 2007. – Vol. 25, №2.
8. Kvetnansky R., Micutkova L., Rychkova N., Kubovcova L., Mravec B., Filipenko M., Sabban E.L., Krizanova O. Quantitative evaluation of catecholamine enzymes gene expression in adrenal medulla and sympathetic ganglia of stressed rats. *Ann NY Acad Sci*. 2004;1018:356-369.
9. Kvetnansky R., Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology*. 1970;87:738-743.
10. Kvetnansky R., Sabban E.L., Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev*. 2009;89:535-606.
11. Kullak-Ublick G.A. Hepatobiliary transport / Kullak-Ublick G.A., Beuers U., Paumgartner G. // *J. Hepatology*. – 2000. – Vol. 32. – P. 3-18.
12. Masiuk A.I. The hormonal regulation of bile secretion due to the activation of protein biosynthesis in the hepatocytes. *Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 1993 Jun;79(6):147-53.
13. Sabban E.L. Catecholamines in stress: molecular mechanisms of gene expression. *Endocrine Regulations*. 2007;41:61-73.
14. Sadowski R.N., Jackson G.R., Wiczorek L., Gold P.E. Effects of stress, corticosterone, and epinephrine administration on learning in place and response tasks. *Behav. Brain. Res.* 2009 Dec 14;205(1).
15. Seckin S., Alptekin N., Dogru-Abbasoglu S., Kocak-Toker N., Toker K., Uysal M. 1997: The effect of chronic stress on hepatic and gastric lipid peroxidation in long-term depletion of glutathione in rats. *Pharmacol. Res.* 36;(1): 55-57.
16. Wong C., Hamlin N., Legaspi E. *The Medicine Consult Handbook*, 4th edition. Seattle, WA, 2011.

Надійшла до редколегії 20.12.13.

Ю. Винник, асп., П. Цапенко, канд. биол. наук, Т. Лященко, канд. биол. наук, С. Весельский, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ЖЕЛЧЕСЕКРЕТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИДРОКОРТИЗОНОВОЙ НАГРУЗКИ

В острых условиях на крысах исследовано влияние гидрокортизона (40 мг/кг массы тела животного) особенности воспроизведения печенью внешне секреторной функции. Установлено, что этот гормон способствует усилению процессов конъюгации желчных кислот с глицерином и таурином в гепатоцитах печени крыс и обеспечивает незначительный холеретический эффект. Отметим, что нагрузка исследуемой дозой улучшает коллоидные и солюбилизирующие свойства секрета. В условиях гидрокортизон – индуцированного стресса наблюдается значительное снижение уровня, что может быть частично следствием ингибирующего действия гормона на ферментные системы синтеза *de novo*.

Ключевые слова: гидрокортизон, печень, желчные кислоты.

Yu. Vinnuk, Phd stud., P. Tsapenko, PhD., T. Lyaschenko, PhD., S. Veselskiy, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

BILIARY SECRETION OF BRATS LIVER IN HIDROCORTIZONE LOAD

It was investigated the influence of hydrocortisone (40 mg/kg b wt) on bile secretion of acute experiment on rats. It was estimated that this hormone promoted increasing of bile acids conjugation with taurin and glycine in rat hepatocytes and provided a minor choleretic effect. It should be indicated that loading of mentioned dose improve solubilising and colloidal properties of the bile. It was observed significant decrease of free-bile-acid level under conditions of hydrocortisone-induced stress. It may be partially caused by inhibition effect of hormone on enzymatic system.

Key words: hydrocortisone, bile acids.

УДК: 616-092.4

М. Бурлова-Васильєва, асп., Н. Кравченко, канд. біол. наук, О. Савчук, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,
В. Мельник, канд. мед. наук
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

РІВЕНЬ ФАКТОРУ ФОН ВІЛЛЕБРАНДА ЗА УМОВ АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ ТА КАРДІОЕМБОЛІЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ НА ФОНІ МИГОТЛИВОЇ АРИТМІЇ

Визначити рівень фактору фон Віллебранда у плазмі крові пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом та пацієнтів з кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії, а також дослідити можливий внесок тромбоцитів у коливання рівня даного фактору. У дослідженні взяли участь 80 пацієнтів з діагнозом атеротромботичний ішемічний інсульт та кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії. Рівень фактору фон Віллебранда визначали методом імуноферментного аналізу. Активність тромбоцитів досліджували на фотооптичному агрегометрі AP2110 "Солар" (Білорусь). Рівень фактору фон Віллебранда перевищував норму на 63 % за кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії, тоді як суттєве підвищення агрегації тромбоцитів навпаки було характерним для хворих з атеротромботичним ішемічним інсультом. Отримані результати можуть свідчити про те, що вагомий внесок у зростання рівня фактору фон Віллебранда у плазмі крові належить саме ендотеліальним клітинам, дисфункція яких є більш вираженою за кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії.

Ключові слова: атеротромботичний ішемічний інсульт, кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії, фактор фон Віллебранда, тромбоцити.

Вступ. За даними ВОЗ інсульт є другою за частотою причиною смертності в світі [17]. Щорічно інсульт переносять близько 6 млн. людей. За цей же період в Україні діагноз "інсульт" ставить більше ніж 100 тис. пацієнтам [2]. Враховуючи, що лікування інсульту є обмеженим, найкращий спосіб зменшити негативні наслідки від цього патологічного стану – вчасне первинне попередження, індивідуалізоване лікування та реабілітація [5]. На сьогоднішній день вкрай необхідним є як вивчення причин та механізмів розвитку інсульту та його підтипів, так і пошук нових біомаркерів, які можуть бути застосовані в діагностиці для виявлення осіб з високим ризиком розвитку інсульту, а також контролю та оптимізації лікування хворих.

Серед випадків ішемічного інсульту, атеротромботичний та кардіоемболічний інсульт є одними з найпоширеніших підтипів [3]. Атеротромботичний інсульт зазвичай виникає на фоні атеросклерозу церебральних артерій. Атеросклеротична бляшка звужує просвіт судини та сприяє тромбоутворенню. Кардіоемболічний інсульт виникає за повної чи часткової закупорки мозкової артерії емболом за кардіогенної емболії при клапанних пороках серця або за інших вражень серця, що супроводжуються утворенням в його порожнинах пристінкових тромбів. Часто кардіоемболічний інсульт розвивається внаслідок пароксизму миготливої аритмії [1].

В основі розвитку обох патологічних станів дуже важливу роль відіграє ендотеліальна дисфункція – стан, що передуює атеросклерозу та тромбозу [10]. Одним з ефективних маркерів ендотеліальної функції є плазматичний рівень фактору фон Віллебранда (vWF) [6]. Фактор фон Віллебранда (фактор Віллебранда, *von Willebrand factor* (vWF) – глікопротеїн плазми крові, що синтезується, депонується та секретується клітинами ендотелію судин, а також тромбоцитами [7]. Не дивлячись на те, що багато дослідників у всьому світі вивчало залежність між рівнем плазматичного vWF та ішемічним інсультом, досліджень щодо асоціації між рівнем vWF та розвитком різних підти-

пів даної патології недостатньо [4]. Нашою метою було визначити рівень vWF у плазмі крові пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом (АІІ) та пацієнтів з кардіоемболічним ішемічним інсультом (КІІ) на фоні миготливої аритмії, а також дослідити можливий внесок тромбоцитів у коливання рівня даного фактору за перебігу патології, що досліджувались.

Матеріали та методи. Проведено клініко-лабораторне обстеження 80 хворих з гострим ішемічним інсультом. В залежності від підтипу інсульту пацієнти були відкритим методом рандомізовані на дві групи: 1 група – пацієнти з атеротромботичним ішемічним інсультом (n = 44) та 2 група – пацієнти з кардіоемболічним ішемічним інсультом (n = 36).

Вік хворих на момент огляду варіював від 43 до 91 років, складаючи в середньому 73,62±8,9 років. Хворі перебували на стаціонарному лікуванні в I та II неврологічних відділеннях Київської міської клінічної лікарні №4. Діагноз ішемічного інсульту був підтверджений нейровізуалізаційно (КТ- або МРТ-головного мозку). Всі хворі або їх родичі були попереджені про проведення клінічного дослідження та давали письмову згоду на участь у ньому.

Кардіоемболічний підтип ішемічного інсульту був діагностований за наявності у хворого миготливої аритмії: постійної, пароксизмальної форми або перенесеного гострого інфаркту міокарда в анамнезі та їх поєднання. Діагноз миготлива аритмія вважали достовірним, якщо даний стан був підтверджений на електрокардіограмі або за наявності пароксизмальної форми миготливої аритмії, що було зафіксовано у амбулаторній карті та пароксизмом миготливої аритмії перед розвитком ішемічного інсульту. Перенесений інфаркт міокарда теж був підтверджений на електрокардіограмі у вигляді постінфарктного кардіосклерозу та задокументований у амбулаторній картці. В дослідження не включали хво-