

проток, а наименьшее значение имеют высота эпителиоцитов и площадь просвета вставочных протоков. Использование кластерного анализа и анализа главных компонент позволяет более полно оценить состояние паренхимы слюнных желез с позиции функциональной морфологии.

Ключевые слова: серомукоциты, интрадолевковые протоки, морфометрия, кластерный анализ, анализ главных компонент.

cells less important, and the height of epithelial cells and intercalated ducts lumen area are the least important. The cluster analysis and principal component analysis can serve as a mean of a better salivary gland parenchyma condition assessment (from the side of functional morphology).

Key words: seromucous cells, intralobular ducts, morphometric analysis, cluster analysis, principal component analysis.

Стаття надійшла 23.09.2014 р.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 577.151.63:57.017.6

С. І. Крижна

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОРУШЕННЯ ПОРФІРИНОВОГО ОБМІНУ НА МОДЕЛЯХ СВИНЦЕВОЇ ТА БЕНЗОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЙ

У роботі наведені результати експериментального пошуку оптимальної моделі відтворення порушення порфіринового обміну у піддослідних тварин.

Встановлено, що моделювання хронічної бензольної і свинцевою інтоксикацій достовірно призводить до порушення порфіринового обміну за показниками проміжного обміну порфіринів у крові та сечі щурів. Такі зміни завжди супроводжуються достовірним ураженням печінки за показниками зростання активності в плазмі крові індикаторів цитолізу, холестерину і паренхиматозного запалення. Найбільш оптимальною для визначення проміжних продуктів синтезу гема в головному мозку є модель свинцевої інтоксикації в дозі 0,5 мл / кг щодня протягом 2-х тижнів.

Ключові слова: порфірія, модель, бензолева і свинцева інтоксикації.

Робота є фрагментом НДР «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ державної реєстрації 0113U000478).

Серед нозології хвороби людини клініцисти та патофізіологи окремо виділяють широкую групу спадково обумовленої патології – порфірії. Поширеність захворювання зумовлена типом ферментативного дефекту біосинтезу гему та впливом тригерних факторів таких як солі важких металів, алкоголь, контакт з отрутохімікатами, лікарські препарати, порушення гормонального профілю у жінок, різка зміна характеру харчування, голодування, інфекційні захворювання, стресові ситуації тощо [1, 4]. Гостру порфірію можна підозрювати у будь-якого хворого, що госпіталізовано в клініку з раптовим абдомінальним болем, периферичною невротатією або з порушенням психіки. Проте незважаючи на низку визначених механізмів розвитку порфірії, наразі неврологічна дисрегуляція досліджена вкрай недостатньо [8]. Проблема досліджень полягає в тому, що створити модель захворювання *in vivo* вкрай важко, бо δ-амінолевулінова кислота та порфобіліноген швидко перетворюються в фотосенсибілізуючі порфірини і стало високої концентрації цих сполук не відбувається [9]. Існуючі дані щодо перебігу порушеного метаболізму гему наразі недостатні, але безперечно, необхідні з точки зору розуміння фізіологічних та патологічних процесів, які відбуваються у нервовій системі.

Метою роботи було оцінювання особливостей порушеного порфіринового обміну в організмі щурів на різних експериментальних моделях (інтоксикації бензолом, оцтовокислим свинцем) задля визначення найбільш оптимальної модельної патології.

Матеріал та методи дослідження. Ступінь ураження печінки за умов бензольної інтоксикації вивчали за допомогою морфологічних, морфометричних та біохімічних методів дослідження. Для відтворення порушення порфіринового обміну використовували 150 тварин та 2 експериментальні моделі: 1) шляхом бензольної інтоксикації протягом 15 діб вводили 0,1 мл/кг та 0,5 мл/кг (один раз на дві доби протягом 30 діб); 2) підшкірними ін'єкціями оцтовокислого свинцю з розрахунку 2,5 мг на 100 г маси або 10 мг на 1 кг маси тіла тварин кожен день протягом 10 днів [5]. Тварини були поділені на експериментальні групи: 1. контрольні щури; 2. щури, яким моделювали порушення порфіринового обміну. Об'єктом досліджень були внутрішні органи (печінка, головний мозок), сеча, цільна кров, що відбиралася на антикоагулянт (трикалієва сіль ЕДТА); сироватка крові. У інтактних щурів і щурів з порушеним порфіриновим обміном визначали рівень 5-амінолевулінова кислота (АЛК) і порфобіліноген (ПБГ) в сечі, активність ферментів аспартатамінотрансферази (АлАТ) і аланінамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), показники тимолової проби в сироватці крові [6]. Кількісне визначення АЛК і ПБГ в сечі проводили за методом Mauzerall і Granick (1970), що заснований на їх розділенні за допомогою

адсорбції на колонках з іонообмінною смолою, закисом алюмінію та ін. Оптичну щільність кінцевих продуктів АЛК та ПБГ знімали на спектрофотометрі «Specord UV VIS» (Германія, 1999) після 15 хвилинної витримки з реактивом Ерліха. АсАТ і АлАТ – маркерних ферментів цитолізу, визначали за методом Райтмана і Френкеля у модифікації Пасхіної [2].

Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричних методів статистики за t-критерієм Ст'юденту [3, 6]. Усі маніпуляції на тваринах проводили під гексеналовим наркозом (60 мг/кг підшкірно), згідно з Міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986) і ухвалено першим національним конгресом по біоетиці (Київ, 2001).

Результати дослідження та їх обговорення. Експериментальне відтворення порушення порфіринового обміну моделювали шляхом бензольної інтоксикації організму на щурах, що, за даними літератури, приводить до виражених порушень порфіринового обміну. Проведено визначення таких параметрів метаболізму гемму: уропорфірину, копропорфірину, протопорфірину (ПП) еритроцитів та АЛК, ПБГ, уропорфірину, копропорфірину сечі тварин. Результати наведені в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Деякі показники метаболізму гемму в еритроцитах щурів за умов експериментальної порфірії, відтвореної шляхом бензольної та свинцевої інтоксикації (M±m, n=10)

Групи тварин	Показники		
	уропорфірин	копропорфірин	протопорфірин
	мкг на 100 мл еритроцитів		
інтактні	1,4±0,3	3,8 ±0,6	19,2 ±2,0
з бензольною інтоксикацією	5,32±0,22*	15,96±0,55*	74,88±2,9*
зі свинцевою інтоксикацією	5,44±0,13*	13,41±0,39*	71,25±3,1*

Примітка. * – p<0,05 по відношенню до інтактної групи щурів.

Встановлено, що в еритроцитах 2-ї групи тварин рівень уропорфірину в перерахунку на мкг на 100 мл еритроцитів перевищував такий у інтактних щурів у 3,8 рази, копропорфірину – у 4,2 рази і протопорфірину у 3,9 рази. В еритроцитах 3-ї групи тварин рівень уропорфірину перевищував такий у інтактних щурів у 3,9 рази, копропорфірину – у 3,52 рази і протопорфірину у 3,7 рази. Дані, отримані при дослідженні кількості порфіринів в сечі тварин з бензольною та свинцевою інтоксикацією, мають подібну характеристику (табл. 2).

Таблиця 2

Деякі показники метаболізму гемму в сечі щурів за умов експериментальної порфірії, відтвореної шляхом бензольної та свинцевої інтоксикації (M±m, n=10)

Групи тварин	Показники			
	АЛК	ПБГ	уропорфірин	копропорфірин
	мг/1 г креатиніну	мг/1 г креатиніну	мк/1 г креатиніну	мк/1 г креатиніну
інтактні	3,78±0,72	1,42±0,31	8,2±1,9	223±24
з бензольною інтоксикацією	15,50±0,61*	4,69±0,43*	12,3±2,2*	312,2±19*
зі свинцевою інтоксикацією	32,5±8,4*/**	15,3±2,9*/**	11,4±2,4*	345,7±18*

Примітки: * – p<0,05 по відношенню до інтактної групи щурів; ** – p<0,05 по відношенню до експериментальної групи щурів.

Так, рівень уропорфірину і копропорфірину в сечі достовірно зріс як у 2-ї так і у 3-ї груп у 1,5 та 1,4 рази та 1,39 та 1,55 рази відповідно відносно контролю. Кількість АЛК в перерахунку на мкг на 1 г креатиніну достовірно збільшилася у 2-ї групи – у 4,1 рази, у 3-ї – у 8,6 рази, ПБГ – у 3,3 та 10,8 рази відповідно. Зростання вмісту цих продуктів метаболізму гемму в сечі тварин з бензольною інтоксикацією вказує на розвиток порушення порфіринового обміну. Введення як бензолу, так і свинцю в організм тварин приводить не тільки до порушення порфіринового обміну, але й до розвитку запального процесу в печінці. Визначення маркерів пошкодження клітин за умов бензольної інтоксикації дозволило підтвердити цей факт. У результаті проведених досліджень встановлено достовірне підвищення активності АлАТ і АсАТ у плазмі крові – у 5 та 2,6 рази, відповідно, порівняно з інтактними тваринами у 2-й групі (табл. 3).

Достовірно підвищилася активність маркерів пошкодження клітин печінки – АлАТ і АсАТ: у 5,0 та 4,1 рази відповідно у тварин 3-ї групи. Зростання активності амінотрансфераз у сироватці крові тварин вказує на розвиток цитолітичного процесу в печінці, оскільки дані ферменти розташовані в клітинах печінкової паренхіми і при їх некротичному ушкодженні виходять у кров. У щурів групи з експериментальною бензольною інтоксикацією відмічено достовірне підвищення активності ЛФ у 5,35 рази порівняно з інтактними тваринами, зі свинцевою – у 3,71 рази, що може бути ознакою розвитку внутрішньопечінкового холестазу. Також відмічено зростання тимолової проби в 3 рази у тварин двох експериментальних груп

порівняно з інтактними. Такі результати можна пояснити розвитком запального процесу, що супроводжувався зростанням активності в сироватці крові шурів індикаторів цитолізу, холестази і паренхімального запалення. Таким чином, отримані результати дозволили встановити розвиток гепатиту на тлі обох інтоксикацій.

Таблиця 3

Активність АлАТ, АсАТ, ЛФ і показник тимолової проби в плазмі крові за умов експериментальної бензолної та свинцевої порфірії (M±m, n=10)

Групи тварин	АлАТ, мкмоль/год ·мл	АсАТ, мкмоль/год ·мл	Лужна фосфатаза, нмоль/с·л	Тимолова проба, од. помутніння
інтактні	72,98±1,1	151,9±5,9	174,6±6,2	4,00±0,50
з бензолною інтоксикацією	423±12,3*	315±4,9*	935±13,8*	12,48±0,11*
зі свинцевою інтоксикацією	365,2±2,4*/**	625,3±2,9*/**	648,3±10,9*/**	13,3±0,7*

Примітки: * – p<0,05 по відношенню до інтактної групи шурів; ** – p<0,05 по відношенню до експериментальної групи шурів.

Проведені дослідження є обґрунтованою підставою для пошуку найбільш оптимальної моделі порушеного порфіринового обміну. Недоліком свинцевої інтоксикації є блокування синтезу гемму на різних етапах його синтезу, що створює проблеми для визначення проміжних продуктів синтезу гемму у головному мозку [7]. Нами запропоновано корисну модель, яка завдяки ефективним дозам бензолу і тривалості моделювання, забезпечує одержання вираженої інтоксикації саме у головному мозку. Моделювання здійснювали шляхом підшкірних ін'єкцій бензолу в дозах 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1,0 мл/1 кг маси тварини 1 раз на добу протягом двох тижнів, та оцінювали за зміною проникності гематоенцефалічного бар'єру для порфіринів. Дані дослідів наведені у таблиці 4.

Аналіз отриманих даних свідчить, що введення бензолу в дозі 0,5 мл/кг призводило до отримання найбільш достовірних та стабільних результатів. Так, при введенні меншої за 0,5 мл/кг дози бензолу розбіжності отриманих результатів були великими, а введення дози 1,0 мл на один кг маси тіла тварин призводило до підвищення смертності серед тварин до 50%. Таким чином, найбільш оптимальною дозою для відтворення експериментальної моделі порушення порфіринового обміну та визначення показників АЛК та ПП саме у головному мозку є 0,5 мл на 1 кг маси тіла шурів.

Таблиця 4

Залежність рівня порфіринів АЛК і ПП у головному мозку шурів від дози бензолу (M±m, n=10)

Порфірини та їх попередники	Групи тварин	Дози бензолу, мл/кг				
		0,1	0,3	0,5	0,7	1,0
АЛК, мкмоль/г/мл	Інтактні шури	0,23±0,3				
	Експериментальна група	1,59±0,62	1,66±0,80	1,79±0,25*	1,87±0,16*	1,86±0,23*
ПП, мкг/г/мл	Інтактні шури	0,072±0,014				
	Експериментальна група	0,115±0,091*	0,179±0,087*	0,182±0,016*	0,187±0,03*	0,195±0,026*

Примітка. *p<0,05 відносно інтактного контролю.

Висновки

1. Свинцева та бензолна інтоксикації достовірно викликають підвищення рівнів маркерів порфіринового обміну: вмісту уропорфіринів, копро порфіринів та ПП в еритроцитах, АЛК та ПБГ у сечі. При цьому спостерігається максимально виражене пошкодження печінки: активність АлАТ і АсАТ достовірно зростає.
2. Гострий гепатит виникає на тлі введення обох тригерних факторів (свинцю та бензолу), що супроводжується зростанням активності в плазмі крові шурів індикаторів цитолізу, холестази і паренхімального запалення. Для визначення проміжних продуктів синтезу гемму в головному мозку оптимальною є модель бензолної інтоксикації організму шурів. Оптимальна доза бензолу – 0,5 мл/кг щоденно протягом 2-х тижнів.

Перспективи подальших досліджень в даному напрямку. Продовження дослідження дозволить створити єдину концепцію розвитку патологічного процесу та обґрунтувати доповнення до класичної терапії порфірії, ускладненої ураженнями головного мозку, з метою зменшення ризику життєво небезпечних ускладнень.

Список літератури

1. Gzhegoc'kij M. R. Sistema krvi. Fiziologichni ta klinichni osnovi / M. R. Gzhegoc'kij, O. S. Zajachkivs'ka // – L'viv: Svit, - 2001. – 173 s.
2. Bazarnova M. A. Rukovodstvo po klinicheskoj laboratornoj diagnostike. Ch.3. Klinicheskaja biohimija : ucheb. posobie / M. A. Bazarnova, Z. P. Gette, L. I. Kal'nova [i dr.] // – K.: Vishha shk., - 2000. – 319 s.
3. Zajcev V. M. Prikladnaja medicinskaja statistika / V. M. Zajcev/ V. G. Lifljandskij, V. I. Marinkin // – SPb.: FOLIANT, - 2003. – 429 s.
4. Pustovojt Ja. S. Klinika, diagnostika i lechenie porfirij : Posobie dlja vrachej / Ja. S. Pustovojt, A. V. Pivnik, I. V. Karlova // – M.: Agat-Med., - 2003. – 211 s.
5. Safarov M. I. Vlijanie parov benzola nizkoj koncentracii na obmen γ -aminomasl'noj kisloty v mitohondrial'nyh frakcijah mozga / M. I. Safarov // Ukr. biohim. zhurn. – 2000. – T. 72, № 2. – S.77–81.

6. Sernov L. N. Elementy jeksperimental'noj farmakologii / L.N. Sernov, V.V. Gacura // – М., - 2000. –192 s.
7. Ennis S. R. Transport of 5-aminolevulinic acid between blood and brain / S. R. Ennis, A. Novotny, J. Xiang [et al.] // Brain Res. – 2003. – Vol. 959, № 2. – P.226–234.
8. Wikberg A. Signs of neuropathy in the lower legs and feet of patients with acute intermittent porphyria / A. Wikberg, C. Andersson, F. Lithner // Intern Med. – 2000. – Vol. 248, № 1. – P. 27–32.
9. Zaider E. Clinical laboratory methods for diagnosis of the porphyrias / E. Zaider, D. R. Bickers // Clin. Dermatol. – 1998. – Vol. 16, №5. – P. 277–293.

Реферати

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАРУШЕНИЯ ПОРФИРИНОВОГО ОБМЕНА НА МОДЕЛЯХ СВИНЦОВОЙ И БЕНЗОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЙ

Крыжная С. И.

В работе приведены результаты поиска оптимальной модели воспроизведения нарушения порфиринового обмена у подопытных животных. Установлено, что моделирование хронической бензольной и свинцовой интоксикаций достоверно приводит к нарушению порфиринового обмена по показателям промежуточного обмена порфиринов в крови и моче крыс. Такие изменения всегда сопровождаются достоверным поражением печени по показателям роста активности в плазме крови индикаторов цитолиза, холестаза и паренхиматозного воспаления. Наиболее оптимальной для определения промежуточных продуктов синтеза гема в головном мозге является модель свинцовой интоксикации в дозе 0,5 мл/кг ежедневно на протяжении 2-х недель.

Ключевые слова: порфирия, модель, бензольная и свинцовая интоксикации.

Стаття надійшла 3.12.2014 р.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PORPHYRIN METABOLISM DISTURBANCES ON LEAD AND BENZENE INTOXICATIONS' MODELS

Kryzhna S. I.

The paper presents the results of optimal model reproducing the experimental disturbances of porphyrin metabolism in experimental animals. There is established that modeling of chronic alcohol and lead intoxications reliably lead to disturbances of porphyrin metabolism by indexes of intermediate metabolism of porphyrins of rats. Such changes are always accompanied by liver injure due to increasing activity of plasma indicators cytolysis, cholestasis and parenchymal inflammation. To determine the most optimal intermediates of heme synthesis in the brain is the model of lead intoxication by the dose of 0.5 ml/kg daily for 2 weeks.

Key words: porphyria, model, benzene and lead intoxication.

Рецензент Бобирьев В.М.

УДК 616.36-053.1-091.8-02:[618.3-06:616.155.194.8]

О. С. Проценко

Харківський національний університет ім. В.И. Каразіна, м. Харків

ВПЛИВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ МАТЕРІ НА МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН КЛІТИН КУПФЕРА ПЕЧІНКИ ПЛОДІВ І НОВОНАРОДЖЕНИХ

Вивчені морфометричні показники зірчастих ретикулоендотеліоцитів плодів і новонароджених від матерів з залізодефіцитною анемією. Встановлено, що ступінь вираженості морфометричних показників зірчастих ретикулоендотеліоцитів печінки новонароджених залежить від тяжкості анемії матері. Максимальний рівень компенсаторно-приспосувальних механізмів ЗРЕ визначається при ЗДА середнього ступеня важкості, тоді як при тяжкій анемії визначається виснаження механізмів адаптації та ознаки пригнічення клітинного метаболізму.

Ключові слова: зірчасті ретикулоендотеліоцити, клітини Купфера, новонароджений, плід, залізодефіцитна анемія.

Робота є фрагментом НДР «Патоморфологічні особливості формування плода і новонародженого під впливом патології матері» (№ державної реєстрації 0110U001805).

Серед екстрагенітальної патології вагітних, за даними різних авторів, в 21-80% випадків реєструється залізодефіцитна анемія (ЗДА) [8, 12]. В умовах анемії в міометрії та плаценті відзначаються дистрофічні процеси, що призводять до зниження рівня гормонів, що виробляються – прогестерону, естрадіолу, плацентарного лактогену – що призводить до розвитку фетоплацентарної недостатності, яка, в свою чергу, зумовлює хронічну внутрішньоутробну гіпоксію [2].

Зірчасті ретикулоендотеліоцити (ЗРЕ), або клітини Купфера, є за своїм походженням, будовою та функціям макрофагами і складають до 80-90% фіксованих макрофагів ретикулоендотеліальної системи (РЕС) [6]. ЗРЕ мають велике значення в регуляції структурного гомеостазу печінки, впливають на зростання і регенерацію гепатоцитів, підтримують імунологічний гомеостаз, беруть участь в метаболізмі заліза, синтезі еритропоєтину і таке інше [11, 13]. Дані про морфометричні та морфофункціональні особливості ЗРЕ печінки плодів і новонароджених від матерів із ЗДА відсутні. Слід зазначити, що формування печінки в антенатальному періоді зумовлює не лише розвиток адаптаційних механізмів в постнатальному періоді, але може стати основою для розвитку подальшої гепатоцелюлярної патології дітей і дорослих [5, 9].

Метою роботи було вивчення морфометричних особливостей ЗРЕ печінки плодів і новонароджених від матерів з анемією.

Матеріал та методи дослідження. Дане дослідження засноване на вивченні печінки плодів і новонароджених дітей від матерів, вагітність яких була ускладнена залізодефіцитною