

УДК 616.831-005.1-06:616-008.27.014.425]-092.4

С. В. Горбачова, І. Ф. Бєлєнічев, Л. І. Кучеренко, Н. В. Бухтіярова
Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

МОДУЛЯТОРИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ В КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В ПРИ ГОСТРІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

Порушення окисно-відновного статусу в нейронах в умовах експериментального гострого порушення мозкового кровообігу обумовлює формування мітохондріальної дисфункції та, як наслідок, порушення енергетичного метаболізму. Важливу роль у підтримці редокс-статусу відіграє тіол-дисульфідна система, а саме співвідношення рівня відновленого та окисленого глутатіону в нейронах. Відновлення тіолового редокс-статусу клітини шляхом використання модуляторів тіол-дисульфідної системи позитивно впливає на функціонування мітохондрій та попереджує розвиток мітохондріальної дисфункції. Наявність в молекулярній структурі вказаних препаратів SH-групи та їхня здатність зв'язувати цитотоксичні деривати активних форм кисню захищає транскрипційні фактори від окисної модифікації, а також підтримує редокс-гомеостаз у клітині та запобігає відкриттю мітохондріальної пори.

Ключові слова: енергетичний метаболізм, мітохондріальна дисфункція, модулятори тіол-дисульфідної системи.

Робота є фрагментом НДР «Молекулярно-біохімічні механізми формування мітохондріальної дисфункції нейронів головного мозку в умовах гострої церебральної ішемії: нові мішені для нейропротекції» (№ державної реєстрації 0113U000797).

Енергетичний дефіцит та лактат-ацидоз є основними пусковими механізмами розвитку патобіохімічних реакцій, які виникають при ішемії у всіх основних клітинних пулах та призводять до формування інфаркту мозку за двома основними механізмами – некрозом та апоптозом. Зниження перфузії тканин головного мозку супроводжується значним зменшенням транспортування кисню до нейронів, де він бере участь в аеробних реакціях синтезу енергії, так як є субстратом термінального ферменту мітохондріального дихального ланцюга – цитохромоксидази. Подальша гіпоксія призводить до формування складних каскадних реакцій, в основі яких лежать послідовні зміни властивостей мітохондріальних ферментних комплексів. На першому (компенсаторному) етапі відбувається активація NAD/NADH-залежного шляху окислення, що не викликає значущих змін концентрації внутрішньоклітинних макроергічних фосфатів та функціональної активності нейронів. Однак, подальша киснева недостатність супроводжується пригніченням електронтранспортної функції дихального ланцюгу. Внаслідок цього відмічається зменшення вмісту аденозинтрифосфату (АТФ) та формується лінійна залежність його концентрації з парціальним тиском кисню [6].

Розвиток енергетичного дефіциту викликає дисфункцію каналів активного іонного транспорту, гіперактивацію глутаматних NMDA-рецепторів, дестабілізацію клітинних мембран та розвиток мітохондріальної дисфункції. Основними проявами останньої є зниження рівня АТФ, активація механізмів загибелі клітин та продукція мітохондріями активних форм кисню (АФК) [1, 3]. Функціонування мітохондрій тісно пов'язане з підтриманням клітинного редокс-балансу, завдяки наявності потужної антиоксидантної системи. Важливою складовою частиною цієї системи є мітохондріальний глутатіон у відновленій формі (mGSH), який попереджує та відновлює пошкодження, що виникають при аеробному метаболізмі. Концентрація mGSH приблизно така ж як і в цитоплазмі, звідки він проникає по пориновим каналам зовнішньої мембрани [10]. Виконуючи функції «пастки» вільних радикалів, глутатіон окислюється до дисульфіду (GSSG), порушуючи при цьому тіол-дисульфідну рівновагу. Згідно сучасним уявленням зниження рівня mGSH нижче певного порогового рівня призводить до появи сигналу апоптозу, який ініціюється мітохондріальним апоптичним сигналінгом [4, 7]. Виходячи з цього перспективним напрямком корекції мітохондріальної дисфункції є нормалізація тіолового редокс-статусу з метою попередження розвитку апоптозу нейронів в умовах порушення мозкового кровообігу. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що використання модуляторів тіол-дисульфідної системи в досліді in vitro та in vivo обмежує розвиток оксидативного стресу та попереджує загибель нейронів [2, 5].

Метою роботи було вивчення впливу модуляторів ТДС на розвиток мітохондріальної дисфункції та енергетичний метаболізм в умовах експериментального порушення мозкового кровообігу.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені згідно з Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 EU відносно експериментів над тваринами. Експерименти

виконані на білих безпородних щурах обох статей масою 180 – 200 г. Порушення мозкового кровообігу моделювали шляхом незворотної двобічної оклюзії загальних сонних артерій. Операцію проводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг), шляхом хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, підводили під них шовкові лігатури та перев'язували. Враховуючи високу смертність даної моделі оперували таку кількість тварин, щоб на 4 добу експерименту кожна група містила 10 особин. В групі псевдооперованих тварин виконували всі перераховані маніпуляції, окрім перев'язування сонних артерій шовковими лігатурами.

В якості модуляторів ТДС використовували тіотриазолін, ангіолін, тіоцетам та α -ліпоеву кислоту. Перераховані препарати вводили внутрішньоочередно 1 раз на добу, починаючи з виходу тварин з наркозу. Тваринам з модельною патологією (контроль) та псевдооперованим вводили фізіологічний розчин. З експерименту тварин виводили під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) [9]. Із головного мозку швидко видаляли кров, відділяли від мозкової оболонки, а досліджувані тканини поміщали у рідкий азот. Потім зразки подрібнювали у рідкому азоті до порошкоподібного стану і гомогенізували у 10-кратному об'ємі середовища, яке містило (у ммольях): сахарози — 250, трис-НСІ-буферу — 20, ЕДТА-1 (рН 7,4). Отримані зразки центрифугували при температурі +4°C протягом 7 хв при 1000g для очищення від крупних клітинних елементів, а потім при 17000g протягом 20 хв. на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30к. Осад мітохондрій суспендували у середовищі виділення. Для визначення швидкості розкриття мітохондріальної пори використовували суспензію з вмістом білка 0,5 – 1,0 мг/мл. Функціональний стан мітохондрій оцінювали за їхньою здатністю попереджувати відкриття мітохондріальних пор (МП) та підвищувати мітохондріальний потенціал Ψ . Відкриття МП визначали при $\lambda = 540$ нм, температурі 25 °С та постійному перемішуванні протягом 25 хв. Визначення мітохондріального потенціалу проводили з сафраніном-О (9 мкмоль на зразок) за зміною екстинції при 515 і 525 нм ($\Delta A_{515 - 525}$ нм) [9].

Для оцінки процесів енергетичного обміну та функціонального стану мітохондрій визначали вміст аденілових нуклеотидів методом тонкошарової хроматографії у системі діоксанізопропанол-вода-аміак (4:2:4:1). Ідентифікацію проводили в ультрафіолеті при $\lambda = 365$ нм з наступною елюацією 0,1 н НСІ і спектрофотометруванням при $\lambda = 260$ нм. На основі отриманих даних розраховували комплекс показників, що характеризують стан енергетичного обміну в умовах експерименту:

1. Енергетичний заряд (ЕЗ) за формулою $EZ = (AT\Phi + \frac{1}{2} AD\Phi) / (AT\Phi + AD\Phi + AM\Phi)$;
2. Індекс фосфорилування (ІФ) за співвідношенням $IF = AT\Phi / (AD\Phi + AM\Phi)$;
3. Термодинамічний контроль дихання (ТКД) $TKD = AD\Phi / AM\Phi$ [9]

Результати дослідження оброблені з використанням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також «Microsoft Excel 2010». Статистичну обробку проводили із застосуванням t-критерію Ст'юдента. Для всіх видів аналізу статистично значимими вважали відмінності з рівнем значимості менше 0,05 (95%) [8].

Результати дослідження та їх обговорення. Моделювання гострого порушення мозкового кровообігу призводило до виражених змін функціонального стану мітохондрій та розвитку мітохондріальної дисфункції. Остання проявляється порушенням іонного транспорту, генерації та проведення імпульсу, активацією «паразитарних» енергопродуруючих реакцій та значною втратою енергетичних запасів нейрональної клітини. Дефіцит кисню в тканинах, гіперпродукція ексайтотоксичних амінокислот та активація вільно-радикального окислення викликають пошкодження внутрішніх мембран мітохондрій та відкриття неселективної мітохондріальної пори. На 4-ту добу експерименту проведеними дослідженнями встановлено падіння потенціалу та відкриття мітохондріальної пори (МП) у 3,1 та 3,4 рази відповідно (рисунок).

Відкриття МП відбувається за рахунок окислення тіольних груп цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій (АТФ/АДФ-антипортеру), що перетворює його у неспецифічний, легко проникний канал-пору. Формування таких неспецифічних пор переводить роботу мітохондрій в неефективний режим, який супроводжується зниженням мембранного потенціалу, набуханням мітохондрій, пошкодженням зовнішньої мембрани. Відзначені порушення в результаті проявляються окисленням субстратів без утворення АТФ, що знайшло своє відображення в даному дослідженні (табл. 1). Визначення рівня макроергічних фосфатів у тканинах головного мозку на 4-ту добу експерименту показало значне зниження рівня АТФ та АДФ – у 3,4 та 2 рази відповідно.

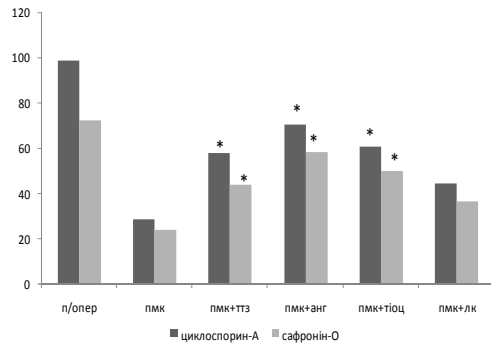


Рис. Відкриття мітохондріальної пори та мітохондріальний потенціал на 4 добу ГПМК. Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до тварин з ГПМК (контроль).

Рівень АМФ, який вважається прооксидантом, підвищувався у 2,4 рази у порівнянні з групою псевдооперованих тварин. Окрім визначення рівня макроергічних фосфатів з метою оцінки стану енергетичного забезпечення нейрональних клітин були визначені додаткові параметри енергообміну. Так, показник енергетичного заряду, який є показником ступеню наповненості системи АТФ – АДФ – АМФ високоенергетичними зв'язками, у контрольній групі тварин був нижче показника псевдооперованих тварин у 2,5 рази. Подібна динаміка відмічена для показників індексу фосфорилування (ІФ) та термодинамічного контролю дихання (ТДК) (табл. 2).

Таблиця 1
Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах мозку експериментальних тварин на 4 добу ГПМК

Експериментальна група	АТФ, мкмоль/ г тканини	АДФ, мкмоль/ г тканини	АМФ, мкмоль/ г тканини
Псевдооперовані	3,066 ± 0,094	0,434 ± 0,017	0,110 ± 0,010
ГПМК (контроль)	0,904 ± 0,054	0,218 ± 0,012	0,264 ± 0,012
ГПМК+ тіотриазолін	2,026 ± 0,052*	0,292 ± 0,013*	0,183 ± 0,008*
ГПМК + ангіолін	2,769 ± 0,110*	0,388 ± 0,026*	0,123 ± 0,013*
ГПМК + тіоцетам	2,327 ± 0,091*	0,315 ± 0,013*	0,174 ± 0,010*
ГПМК + ліпоева кислота	1,950 ± 0,068*	0,257 ± 0,024	0,202 ± 0,017*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до тварин з ГПМК (контроль).

Таблиця 2
Показники енергетичного обміну у тканинах мозку експериментальних тварин на 4 добу ГПМК

Експериментальна група	Енергетичний заряд	Індекс фосфорилування	Термодинамічний контроль дихання
Псевдооперовані	0,181 ± 0,007	5,684 ± 0,248	4,351 ± 0,474
ГПМК (контроль)	0,071 ± 0,004	1,893 ± 0,137	0,846 ± 0,071
ГПМК+ тіотриазолін	0,118 ± 0,005*	4,314 ± 0,178*	1,609 ± 0,085*
ГПМК + ангіолін	0,139 ± 0,008*	4,816 ± 0,251*	2,097 ± 0,144*
ГПМК + тіоцетам	0,129 ± 0,005*	4,605 ± 0,249*	1,869 ± 0,150*
ГПМК + ліпоева кислота	0,103 ± 0,008*	4,477 ± 0,353*	1,289 ± 0,085

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до тварин з ГПМК (контроль).

ІФ, що характеризує відношення вмісту АТФ до концентрації інших аденілових нуклеотидів, знижувався у 3 рази. Показник ТДК, який відображає залежність активності дихального ланцюга мітохондрій до інтенсивності фосфорилування, достовірно знижувався відносно значень псевдооперованих тварин більш ніж у 5 разів.

Використання модуляторів тіол-дисульфідної системи в умовах формування мітохондріальної дисфункції чинило позитивний вплив щодо досліджуваних показників. Найбільш ефективним у цьому відношенні був препарат ангіолін. Проведення фармакотерапії ангіоліном проявлялось зменшенням відкриття мітохондріальної пори та попередження падіння мітохондріального потенціалу у 2,5 рази (діаграма).

Варто відзначити, що ангіолін, нарівні з тіотриазоліном та тіоцетамом, призводив до підвищення рівня АТФ та АДФ, на тлі зниження АМФ. У дії α -ліпоевої кислоти відзначався подібний по направленості, але менш виражений ефект (табл. 1). Так, проведення фармакотерапії ангіоліном сприяло нормалізації морфо-функціонального стану мітохондрій та активації синтезу АТФ, про що свідчить підвищення вказаного показника у 2,6 разів. Паралельно відмічалось збільшення інтенсивності відкриття циклоспорин-А-чутливої пори та попередження падіння мітохондріального потенціалу в середньому у 2,5 рази, що супроводжувалося зменшенням рівня АМФ на 38,5%. Вказані зміни енергетичного обміну нейронів сприяли нормалізації ЕЗ та ІФ на 95,8% та у 2,5 разів відповідно. Введення тіоцетаму та тіотриазоліну викликало подібні зміни, на що вказує збільшення ЕЗ на 81,7 та 66,2%, з паралельною нормалізацією інших визначених показників – ІФ та ТДК (табл. 2). Призначення експериментальним тваринам вказаних препаратів попереджувало розвиток мітохондріальної дисфункції, що підтверджується нормалізацією вивчених показників (діаграма). Використання у якості модулятора тіолового статусу α -ліпоевої

кислоти сприяло зниженню на 23,5% концентрації АМФ, при цьому відмічалось зростання АТФ у 2,1 рази та підвищення показника ТКД на 52,3%.

Висновок

Енерготропний механізм модуляторів тиол-дисульфідної системи – тіотриазоліну, тіоцетаму, α -ліпоєвої кислоти та ангіоліну в умовах порушення мозкового кровообігу пояснюється їхньою антиоксидантною дією, зокрема, за рахунок зменшення патологічного впливу АФК і NO на мітохондрії (окислювальна модифікація білкових фрагментів, гіперполяризація мембрани, потенціал-залежна блокада окисно-відновних процесів, відкриттю мітохондріальної пори). Також у нормалізації процесів функціонування мітохондрій та енергообміну важливу роль відіграє відновлення GSH/GSSG і та підвищення GSH у цитозолі та мітохондріях, що призводить до активації експресії білку теплового шоку HSP 70, який за рахунок стабілізації α -субодиниці фактору, що індукується гіпоксією (HIF-1), регулює активність компенсаторного малат-аспаратного шунта продукції АТФ [3,4, 10].

Враховуючи енерготропну та мітопротективну активність модуляторів тиол-дисульфідної системи, перспективами подальших досліджень є дослідження метаболітопної активності препаратів у дослідіах in vitro та in vivo, з метою розкриття їхнього регуляторного впливу на процеси метаболізму нейронів та підтримки їх життєздатності на моделях експериментальної ішемії та інших патологічних станах.

Список літератури

1. Belenichev I.F. Mitochondrialna disfunktsiya pri tserebralnoy patologii. Neuroproteksiya tserebrokurinom / I.F. Belenichev, Yu.M. Kolesnik, S.V. Pavlov [i dr.] // Mezhdunarodnyy nevrologicheskyy zhurnal. – 2008. – No. 4 (20). – S. 20 – 26.
2. Belenichev I.F. Molekulyarnyye i ultrastrukturnyye aspekty formirovaniya mitochondrialnoy disfunktsii pri modelirovani hronicheskoy tserebralnoy ishemii: mitoprotektivnyye efekty angiolina / I.F. Belenichev, I.A. Mazur, L.I. Kucherenko [i dr.] // Neyrohimiya – 2016. – T.33, No.1 – S. 1 – 7.
3. Belenichev I. F. Neuroproteksiya i neyroplastichnost / I. F. Belenichev, V. I. Cherniy, E. A. Nagorna [i dr.]. – Kiev: Logos, 2015. – 512 s.
4. Vasilenko K. P. Okislitelnyy glutation vyzyivaet aktivatsiyu retseptora epidermalnogo faktora rosta i MAR-kinaz ERK 1,2 / K. P. Vasilenko, E. B. Burova, V. G. Antonov // Tsitologiya – 2006. – T. 48, No. 6. – S. 500 – 507.
5. Gorbachova S.V. Pokazniki sistemi glutatlonu ta apoptoz neuroniv v umovah ntrozativnogo stresu in vitro / S.V. Gorbachova, I.F. Belenichev // Odeskyy medichnyy zhurnal -2015. – No. 6 (152) – S. 5 – 9.
6. Gusev E.I. Ishemiya golovnogo mezga / E.I. Gusev, V.I. Skvortsova. – M.: Meditsina, 2001 – 328 s.
7. Kalinina E. V. Rol glutationa, glutationtransferazy i glutaredoksina v regulatsii redoks-zavisimyyh protsessov / E. V. Kalinina, N. N. Chernov, M. D. Novichkova // Uspehi biol. nauk. – 2014 – T. 54. – S. 299 – 348.
8. Rebrova O. Yu. Statisticheskyy analiz meditsinskih daniy. Primenenie paketa prikladnyh programm STATISTICA / O. Yu. Rebrova. – M., Mediasfera, 2002, 312 s.
9. Chekman I. S. Doklinicheskoe izuchenie spetsificheskoy aktivnosti potentsialnykh neuroprotektivnykh preparatov / I. S. Chekman, Yu. I. Gubskiy, I. F. Belenichev. – K.: GFTs MOZ Ukrainy, 2010. – 81 s.
10. Mari M. Mitochondrial glutathione: features, regulation and role in disease / M. Mari, A. Morales, A. Colell, C. Garcia-Ruiz // Biochimica et Biophysica Acta – 2013. – Vol.1830. – P. 3317 – 3328.

Реферати

МОДУЛЯТОРЫ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Горбачева С. В., Беленичев И.Ф., Кучеренко Л.И., Бухтиярова Н.В.

Важную роль в поддержании редокс-статуса играет тиол-дисульфидная система, а именно соотношение уровня восстановленного и окисленного глутатиона в нейронах. Восстановление тиолового редокс-статуса клетки путем использования модуляторов тиол-дисульфидной системы положительно влияет на функционирование митохондрий и предупреждает развитие митохондриальной дисфункции. Наличие в молекулярной структуре указанных препаратов SH-групп и их способность связывать цитотоксические дериваты активных форм кислорода защищает транскрипционные факторы от окислительной модификации, а также поддерживает редокс-гомеостаз в клетке и предотвращает открытие митохондриальной поры.

Ключевые слова: энергетический метаболизм, митохондриальная дисфункция, модуляторы тиол-дисульфидных системы.

MODULATORS OF THIOL-DISULFIDE IN THE CORRECTION OF ENERGY METABOLISM IN ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA

Gorbacheva S.V., Belenichev I.F., Kucherenko L.I., Bukhtiyarova N.V.

An important factor in normalization of mitochondrial functioning processes is a maintenance of thiol cellular redox status. Positive influence of thiol-disulfide system modulators explains the fact of their antioxidant action, namely the limitation of negative action of active oxygen forms on mitochondria. Presence of preparations of SH-groups in a molecule structure and their ability to bind cytotoxic derivatives in conditions of oxidative stress protect protein structures of a cell and transcription factors from the oxidative modification. Besides, these factors maintain redox homeostasis that prevents mitochondrial pore opening and formation of mitochondrial dysfunction.

Key words: energetic metabolism, mitochondrial dysfunction, thiol-disulfide system modulators

Стаття надійшла 10.01.2016 р.

Рецензент Бобирьов В.М.

UDC 611.814.3:611-018]:616-001.17-092.4-0

I. V. Dzevulska
Bogomolets National Medical University, Kyiv

MONTHLY RATES OF CELL CYCLE OF RAT ADRENAL GLANDS AFTER BURN AND IN ADMINISTRATION OF 0.9% NaCl SOLUTION, LACTOPROTEIN WITH SORBITOL AND HAES-LX-5%

The paper presents the results of the analysis of monthly rates of cell cycle of rat adrenal glands and DNA-fragmentation after the II-III degree burn with superficial burn surface of 21-23 % in administration of 0.9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5%. Burn injuries along with infusion of 0.9 % NaCl solution during the first 7 days of the experiment is accompanied by a significant increase of rates of SUB-G0G1 interval and S-phase of adrenal cells after 1, 3, 7 and 14 days after burn. Following the 21 and 30 days after burn no significant difference in the rate of S-phase in the adrenal cells against the similar rate in groups without burn is found, whereas the rate of SUB-G0G1 interval remains reliably higher than those in groups without burn. Thermal burn-related administration of lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5% solutions during the first 7 days of the experiment is accompanied by the positive effect on the rates of SUB-G0G1 interval and S-phase of adrenal cells following the 1, 3, 7 and 14 days after burn. And following the 21 and 30 days after burn the value of the abovementioned rates was almost the same as compared with similar rates in groups where infusion therapy was carried out to animals without burn.

Key words: cell cycle, DNA fragmentation, adrenal glands, rats, burn, 0.9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol, HAES-LX-5%.

The paper draws from the planned joint research work (regulated by the agreement on scientific cooperation between Bogomolets National Medical University and National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya) entitled "Experimental Substantiation of the Efficacy of Composite Infusion Agents in Simulated Burn Disease in Animals", which is the fragment of planned research work "Development of the Novel Composite Colloidal Blood Substitutes of Polyfunctioning Effect and Solution for Red Blood Cells Resuspending (laboratory and experimental rationale of their application in transfusiology)" (KPKV6561040, National registration № 0107U001132).

Immediate enhanced infusion therapy is one of the promising approach to burn disease treatment [7]. It is evident that such active infusion therapy leads to improving the outcomes of burn disease treatment, reduces mortality and shortens the duration of hospitalization. However, the proposed infusion solutions have a number of fairly significant drawbacks and limitations that narrows the range of therapeutic possibilities. Therefore, the development and testing of the novel agents for infusion therapy of burn disease remains the urgent issue of contemporary medicine, especially when taking into consideration the growing incidence of this pathology accompanied by the military operations, conducted on the territory of Ukraine.

One of the most burn-induced detrimental damages is the adrenal lesion, confirmed by the numerous experimental and clinical research; however, pathogenetic mechanisms of damage of this important part of body functioning remain to be understood, that essentially impedes the development of the novel and effective approaches of therapy aimed at this link of the pathological process [10].

Current data relative to the adrenal glands functioning in burn injury are obtained mainly using cytological, histological and biochemical approaches [4, 8, 9]. However, no publications, elucidating the state of adrenal glands functioning using the DNA-cytometry, which is considered as one of the most scrupulous approach in evaluation of synthetic processes and apoptosis (DNA degradation) on the cellular level, have been found [13]. It is apoptosis that is the main mechanism of cell damage, caused by the burn disease, and is involved in many areas of the pathological process and requires intensive monitoring and effective rehabilitation to prevent systematic destruction of the whole body [6].

The aim was the comparative analysis of the rates of rat adrenal cell cycle and DNA-fragmentation following the 1, 3, 7, 14, 21 i 30 days after thermal burn in rehabilitation with 0.9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5%.

Material and Methods. The experimental study has been made on 180 Wistar white male rats, weighted 160-180 g, provided by the vivarium at the Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine, and carried out on the basis of the Research Laboratory of Functional Morphology and Genetics of Research Center at National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, certified by the MOH of Ukraine (Certificate № 003/10 issued on 11.01.2010).

Animal housing and experiments on them have been carried out in compliance with the "General Ethic Rules for Conducting Experiments on Animals", adopted by the I National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001) and the requirements of international principles of the "European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1985), as well as the principles of "Good laboratory practice for safety tests on chemicals", rules of