

Results. It was shown that under condition of the induction of acute pancreatitis by ornithine, activity of myeloperoxidase increased almost three-fold, $p < 0,01$ as compared to the control group, indicating the development of inflammatory process in the pancreas. Administration of NaHS and L-cysteine led to the decrease of myeloperoxidase activity as compared to parameters of the 2nd group. Myeloperoxidase activity was decreased by 40 and 48%, subsequently, $p < 0,01$. The development of acute pancreatitis was accompanied by the formation of oxidative stress in the pancreas, manifested by two-fold ($p < 0,01$) increase of MDA concentration. NaHS decreased MDA concentration by 40%, $p < 0,01$, L-cysteine by 11,5% as compared to parameters of rats with acute pancreatitis. Such a decrease in MDA concentration under condition of the use of H₂S donors may demonstrate the antioxidant properties of this gaseous mediator. Activity of one of the most important enzymes of antioxidant system SOD was reduced by 40%, $p < 0,01$ in homogenates of pancreas of rats with acute pancreatitis, since the introduction of NaHS and L-cysteine increased it. Catalase activity as well as SOD activity decreased in acute pancreatitis (by 33%, $p < 0,01$) however it demonstrated only the tendency to the increase in groups of animals treated by H₂S donors. H₂S concentration in blood plasma of animals of the 2nd group decreased by 16%, leading to the disappearance of hydrogen sulfide antioxidant and anti-inflammatory properties in acute pancreatitis. H₂S donors significantly increased it.

Conclusion. The induction of acute pancreatitis by L-ornithine was accompanied by the development of oxidative stress in pancreas manifested by the increase of MDA concentration and the decrease of SOD and catalase activities. H₂S donors demonstrated beneficial effects, decreasing the level lipid peroxidation, inducing activities of antioxidant enzymes and possessing anti-inflammatory action by the decrease of myeloperoxidase activity. Thus, H₂S-releasing compounds in physiological doses may create new pharmacological approaches in the treatment of inflammation in acute pancreatitis.

Key words: pancreas, acute pancreatitis, hydrogen sulfide, oxidative stress.

Рецензент – проф. Непорада К. С.
Стаття надійшла 10.02.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-102-106

УДК 577.125.33:616-001.18:[615.361:615.451.1:611.77]:57.086.13:544.77.023.5:546.26

^{1,2}Власов О. О., ¹Ковальов Г. О., ¹Чиж М. О., ¹Гальченко С. Є.

ДИНАМІКА ВМІСТУ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТІВ В КРОВІ ЩУРІВ З КРІОДЕСТРУКЦІЄЮ ШКІРИ ТА УВЕДЕННЯМ ЕКСТРАКТУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ ШКІРИ ПОРОСЯТ АБО ВОДНОГО КОЛОЇДНОГО РОЗЧИНУ ФУЛЕРЕНУ C₆₀

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна (м. Харків)

tbondarchuk@meta.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках наукової роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин», державний реєстраційний номер роботи 0117U000849.

Вступ. Для видалення пухлин шкіри часто використовують кріодеструкцію, оскільки цей метод є найменш травматичним, не має протипоказань для лікування злоякісних новоутворень зовнішніх локалізацій, а в деяких випадках є методом вибору [1]. Холодова травма – це форма патології, яка супроводжується розвитком судинних і тканинних змін і проводить до збільшення утворення активних форм кисню. Дані про зміст продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в біологічних об'єктах і рівня ферментів антиоксидантів захисту можуть нести в собі інформацію про глибину і ступінь патологічного процесу, маркерами якого можуть бути як продукти ПОЛ, так і активність оксидоредуктаз: каталази і супероксиддисмутази (СОД) [2].

Для відновлення шкіри після холодкових пошкоджень використовують різні терапевтичні прийоми, спрямовані на стимуляцію регенерації. Так, існують дані в літературі про застосування засобів природного і синтетичного походження для посилення ре-

генаторних процесів, зокрема гормонів, цитокінів, факторів росту, тканинспецифічних регуляторних пептидних комплексів, розробка яких на сьогоднішній день є перспективним напрямком в біотехнології [3,4]. Так, біологічно активні пептидні комплекси, виділені з найрізноманітніших внутрішніх органів ссавців, беруть участь в модуляції фізіологічних функцій і нормалізації діяльності клітин, тканин, органів і організму в цілому [5].

Було показано, що екстракти кріоконсервованих фрагментів органів свиней та новонароджених поросят стимулюють репаративну регенерацію при експериментальних патологічних станах [6]. І їх дія є тканинспецифічною. Тому важливим видається дослідити вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят (ЕКФШП) на загоєння холодкових ран.

Пошук нових нанорозмірних сполук, здатних впливати на клітинні процеси, є актуальним завданням розвитку нанобіотехнологій. З огляду на це інтенсивно досліджуються представники алотропної форми вуглецю – фулерени C₆₀, яким притаманні унікальні фізико-хімічні властивості. Наразі застосування фулеренів має перспективи в різних областях науки, у т. ч. медицині. Їх біологічна дія широко вивчається в експериментальних дослідженнях [7,8]. Отже вивчення біологічної дії фулеренів на процес

загоєння холодних ран може внести свій вклад в розробку нових підходів до лікування таких ушкоджень.

Метою досліджень було встановити вплив ЕКФШП або водного колоїдного розчину фулерену C_{60} (ВКРФ C_{60}) на інтенсивність ПОЛ і антиоксидантну активність ферментів в сироватці крові щурів після локальної кріодеструкції шкіри у безшерстних щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводились в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України на 6-місячних безшерстних щурасамцях. Експерименти проводили за регламентом, затвердженим Комітетом з біоетики ІПКіК НАН України, який було розроблено відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених ІІІ Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2007) і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986).

Шкіру новонароджених поросят отримували в операційній віварію ІПКіК НАН України. Поросят доставляли з агрокомбінату «Слобожанський» Чугуєвського району Харківської області. Фрагменти шкіри отримували шляхом подрібнення її шматочків ножицями. Маса фрагментів становила в середньому 2-5 мг. Одержані фрагменти тричі відмивали фізіологічним розчином (рН 7,4) у співвідношенні 1:10. До фрагментів шкіри по краплях додавали 20% розчин ПЕО-1500 в фізіологічному розчині в співвідношенні 1:1, ретельно і обережно перемішуючи зависть.

Зависть фрагментів розфасовували в поліетиленові ампули об'ємом 20 мл. Заморожували за допомогою програмного заморозувача УОП-6 виробництва СКТБ з ДВ ІПКіК НАН України зі швидкістю охолодження $1^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ до температури -70°C з наступним перенесенням в рідкий азот. Матеріал відігривали на водяній бані з температурою $37-40^{\circ}\text{C}$. Від ПЕО-1500 фрагменти відмивали фізіологічним розчином. Для одержання екстракту фрагменти шкіри інкубували в фізіологічному розчині 60 хв. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівали на киплячій водяній бані 15 хв. і очищували, пропускаючи через фільтрувальний папір [9]. Концентрацію пептидів визначали спектрофотометричним методом при довжинах хвиль 280 нм і 260 нм відповідно на спектрофотометрі Perkin Elmer Lambda (США) [10]. Водний колоїдний розчин немодифікованих фулеренів C_{60} готували за методикою [11].

Кріодеструкцію шкіри виконували на латеральній поверхні стегна кріоінструментом – акумулятором холоду [12]. Діаметр кріоаплікатора становив 10 мм. Час кріовпливу становив 120 с.

Після моделювання кріоушкоджень одній групі щурів в черевну порожнину вводили ВКРФ C_{60} щодня в разовій дозі 0,1 мг/кг маси тіла, починаючи з дня моделювання кріоушкоджень, протягом 5 днів. В іншій групі дослідним тваринам вводили ЕКФШП з концентрацією пептидів 100 мкг/мл в черевну порожнину один раз на добу протягом всього експерименту. Доза пептидів становила 0,5 мг/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин (плацебо). Була також група інтактних тварин.

Зразки крові для досліджень отримували з черевного відділу аорти. Для цього після наркотизації тварину фіксували на спині, розтягуючи за кінцівки. Після стандартної обробки операційного поля проводили широкий розтин передньої черевної стінки (від лобкового з'єднання до мечоподібного відростку), який в середній треті доповнювали поперечним розтином до правої середньої аксиллярної лінії. Тонку кишку відводили вверх і назовні, тупо виділяли черевний відділ аорти. Після цього проводили пункцію аорти відразу над біфуркацією голкою 22G надітою на сухий трьохкомпонентний шприц 5 мл «Алекс Фарм» (Україна).

Для оцінки інтенсивності ПОЛ визначали рівень дієнових кон'югатів (ДК) та продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКАП). Антиоксидантну активність оцінювали по активності СОД та каталази в сироватці крові. Використовували набори виробництва «Реагент» (Україна) відповідно до інструкції, що додається до наборів.

Статистичну обробку результатів проводили використовуючи критерій Краскела-Уолліса за допомогою пакета програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA).

Результати досліджень та їх обговорення. В сучасній біології активація ПОЛ розглядається як універсальна відповідь живої системи на дію екстремальних факторів [13]. Загалом, прооксидантно-антиоксидантний статус організму відбиває баланс між двома протилежно спрямованими діями в організмі: антиоксидантними властивостями та утворенням вільних радикалів. Вплив екстремальних чинників призводить до зміщення рівноваги між ними у прооксидантний бік і розвитку так званого «окислювального стресу». Вільно-радикальне перекисне окислення практично на всіх етапах свого перебігу утворює ряд продуктів, які є результатом взаємодії вільних радикалів як між собою, так і з біологічними макромолекулами [2]. Антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільно-радикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідроперекисів та малонового діальдегіду.

Як видно з **табл. 1** та **табл. 2** на 7 добу експерименту концентрація ДК і ТБКАП в сироватці крові статистично достовірно перевищує норму у всіх випадках. При цьому, в контрольній групі тварин (без лікування) значення показників були вище в 1,7 рази. В групах з введенням ЕКФШП або ВКРФ C_{60} отримані значення не відрізнялись від даних у щурів контрольної групи.

Таблиця 1 – Концентрація ДК в сироватці крові щурів (мкмоль/л)

Умови експерименту	Термін спостереження, доба		
	7	14	21
Інтактні тварини	27,01±1,59		
Кріодеструкція та введення фізіологічного розчину	45,92±4,47 ¹	40,49±4,24 ¹	39,48±4,31 ¹
Кріодеструкція та введення ЕКФШП	41,28±4,96 ²	35,87±3,56 ²	28,05±3,13 ²
Кріодеструкція та введення ВКРФ C_{60}	42,06±4,57 ¹	28,41±3,11 ²	28,08±3,25 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з кріодеструкцією та введенням фізіологічного розчину.

Таблиця 2 – Концентрація ТБКАП в сироватці крові щурів (нмоль/л)

Умови експерименту	Термін спостереження, доба		
	7	14	21
Інтактні тварини	5,13±0,16		
Кріодеструкція та введення фізіологічного розчину	8,76±0,87 ¹	7,82±0,72 ¹	7,10±0,73 ¹
Кріодеструкція та введення ЕКФШП	8,01±0,89 ¹	7,38±0,81 ¹	5,50±0,60 ²
Кріодеструкція та введення ВКРФ С ₆₀	7,94±0,83 ¹	5,76±0,54 ²	5,24±0,61 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні (p < 0,05): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з кріодеструкцією та введенням фізіологічного розчину.

Таблиця 3 – Активність СОД в сироватці крові щурів (у.о./мл)

Умови експерименту	Термін спостереження, доба		
	7	14	21
Інтактні тварини	4,94±0,43		
Кріодеструкція та введення фізіологічного розчину	2,11±0,26 ¹	2,31±0,33 ¹	2,86±0,30 ¹
Кріодеструкція та введення ЕКФШП	2,58±0,31 ¹	3,38±0,42 ^{1,2}	4,27±0,46 ²
Кріодеструкція та введення ВКРФ С ₆₀	2,58±0,34 ¹	3,66±0,42 ^{1,2}	4,85±0,59 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні (p < 0,05): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з кріодеструкцією та введенням фізіологічного розчину.

Таблиця 4 – Активність каталази в сироватці крові щурів (у.о./мл)

Умови експерименту	Термін спостереження, доба		
	7	14	21
Інтактні тварини	3,65±0,32		
Кріодеструкція та введення фізіологічного розчину	1,76±0,22 ¹	1,93±0,17 ¹	2,03±0,21 ¹
Кріодеструкція та введення ЕКФШП	2,07±0,23 ¹	2,73±0,2 ^{1,2}	3,37±0,4 ²
Кріодеструкція та введення ВКРФ С ₆₀	1,91±0,23 ¹	2,60±0,21 ^{1,2}	3,42±0,41 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні (p < 0,05): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з кріодеструкцією та введенням фізіологічного розчину.

На 14 добу підвищений рівень ДК і ТБКАП зберігався в контрольній групі (в 1,5 рази) і в групі тварин, яким вводили ЕКФШП. При цьому введення ЕКФШП не супроводжувалося статистично достовірними змінами показників по відношенню до результатів в контрольній групі тварин. Після введення ВКРФ С₆₀ було зафіксовано нормалізацію обох показників.

На 21 добу рівень ДК і ТБКАП не відрізнявся від значень у інтактних тварин в групах, де вводили ЕКФШП або ВКРФ С₆₀. В групі щурів, яким вводили фізіологічний розчин (плацебо) обидва показники були вище, ніж в групі інтактних тварин (в 1,5 і 1,4 рази, відповідно).

Особливе значення для перебігу патологічного процесу, цілком ймовірно, можуть мати зміни в вмісті і активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту, до числа яких відносяться СОД і каталаза. Для нормального функціонування антиоксидантної системи важливим є збереження співвідношень між її окремими ферментами [14,15]. Це доводить необхідність визначення стану антиоксидантного захисту.

Активність СОД і каталази на 7 добу в усіх експериментальних групах була меншою за норму (табл. 3, табл. 4). При цьому, в контрольній групі значення показників були, відповідно, нижче за норму в 2,3 і

2,1 рази і не відрізнялись від даних в групах з введенням ЕКФШП або ВКРФ С₆₀.

На 14 добу активність СОД і каталази також була менше норми в усіх групах, але в групі з введенням екстракту або розчину фулерену вона була вище, ніж в контрольній групі (плацебо). В контрольній групі активність ферментів була нижче за норму, відповідно в 2,1 і 1,9 рази. Введення ЕКФШП або ВКРФ С₆₀ супроводжувалося, відповідно, підвищенням активності, по відношенню до даних контрольної групи, СОД в 1,5 або 1,6 рази, каталази – в 1,4 рази.

На 21 добу спостереження ці показники в групах щурів, яким вводили ЕКФШП або ВКРФ С₆₀ не відрізнялися від значень в групі інтактних тварин. В той же час активність СОД і каталази в контрольній групі була нижче ніж у інтактних щурів в 1,7 і 1,8 рази, відповідно.

Таким чином, отримані результати свідчать про стимуляцію ЕКФШП або ВКРФ С₆₀ процесів відновлення про- і антиоксидантної рівноваги після кріодеструкції шкіри *in vivo*. Механізми такого впливу досліджуваних терапевтичних агентів, ймовірно пов'язані з прямою або опосередкованою дією на регуляторні системи організму. Уточнення механізмів впливу ЕКФШП або ВКРФ С₆₀ потребує проведення подальших досліджень процесів деструкції і відновлення тканин після кріодеструкції на місцевому і системному рівні.

Висновки. Кріодеструкція шкіри супроводжувалася статистично значущим збільшенням вмісту дієвих кон'югатів і ТБКАП в сироватці крові тварин. При цьому мало місце зменшення активності супероксиддисмутази і каталази.

Застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят або водного колоїдного розчину фулерену С₆₀ сприяло відновленню балансу про- і антиоксидантної систем у тварин з холододимими ранами, що проявлялося нормалізацією вмісту дієвих кон'югатів і ТБКАП на 14 добу після введення водного колоїдного розчину фулерену С₆₀, на 21 добу після введення ЕКФШП або ВКРФ С₆₀, а також підвищенням активності супероксиддисмутази і каталази до рівня норми в сироватці крові на 21 добу спостереження.

Отримані результати свідчать про перспективність застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят та водного колоїдного розчину фулерену С₆₀ для регуляції перебігу процесу загоєння ран.

Перспективи подальших досліджень. Планується дослідження впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят або водного колоїдного розчину фулерену С₆₀ на концентрацію С-реактивного білка, молекул середньої маси, нітратів та нітритів в сироватці крові щурів після локальної кріодеструкції шкіри у безшерстних щурів.

Література

1. Olkhovskiy VK. Lechenye onkolohycheskykh zabolevaniy. Noveishiy spravochnyk. Rostov na Donu: 2007. 221 s. [in Russian].
2. Bielenichev IF, Levyskiy YeL, Hubskiy Yul, Kovalenko CI, Marchenko OM. Antyoksydantna sistema zakhystu orhanizmu (ohliad). Sovr probl toksykol. 2002;3:24-31. [in Ukrainian].
3. Smyrnov SV, Smyrnov YV, Kyselev SV, Vasylev AV. Sovremennye metody kletochnoi terapiy pry lecheny ozhohov. Khyrurhyia. 2003;12:58-62. [in Russian].
4. Lay-flurrie K. Honey in wound care: effects, clinical application and patient benefit. Br J Nurs. 2008;17(11):30,32-6.
5. Polezhaev LV. Ocherky o byolohychesky aktyvnykh veshchestvakh. Uspekhy sovrem. byolohyy. 1992;112(1):74-87. [in Russian].
6. Halchenko SYe, Sandomyrskiy BP. Ekstrakty kriokonservovanykh frahmentiv orhaniv svynei ta porosiat yak komponent vidnovnoi medytsyny. Dopovidi natsionalnoi akademii nauk Ukrainy. 2017;7:91-7. [in Ukrainian].
7. Prylutska SV, Grynyuk II, Matyshevska OP, Prylutskiy Yul, Ritter U, Scharff P. Antioxidant properties of C₆₀ fullerenes in vitro. Fullerenes, Nanotubes., Carbon Nanostruct. 2008;16(5-6):698-705.
8. Vlasov OO, Kovalov GO, Belochkina IV, Iefimova IA, Sandomyrskiy BP. Effect of aqueous colloidal solution of fullerene C₆₀ on hematological and biochemical indices of rat blood. Fiziolohichnyi zhurnal. 2018;64(3):70-8.
9. Halchenko SYe, Shkodovska NYu, Sandomyrskiy BP, Hryshchenko VI, vynakhidnyky. IPKiK NAN Ukrainy, patentovlasnyk. Sposib otrymannia ekstraktiv ksenohennykh orhaniv. Patent Ukrainy № 64381 A. 2004 02 16. [in Ukrainian].
10. Uyliams D, Uylson K. Metody praktycheskoi byokhymy. Per. s anhl. pod. red. SE Severyna y AD Vynohradova. M.: 1978. 268 s. [in Russian].
11. Ritter U, Prylutskiy Yu, Evstigneev MP, Davidenko NA, Cherepanov VV, Senenko AI, et al. Structural features of highly stable reproducible C₆₀ fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2014;23:530-4.
12. Kovalov GO, Vlasov OO, Myroshnychenko MS. Experimental model of skin cryodestruction. Probl Cryobiol Cryomed. 2019;29(1):88-101.
13. Baraboi VA, Brekhnman YY, Holovytyyn VH. Perekysnoe okyslenye lypidov y stress. SPb.: 1992. 268 s. [in Russian].
14. Menshchykova EB, Zenkov NK. Antyoksydanty y ynhybytory radykalnykh okyslytelnykh protsessov. Uspekhy sov byolohyy. 1993;113:442-55. [in Russian].
15. Huberuk VO. Perekysne okyslennia lipidiv ta antyoksydantna sistema zakhystu orhanizmu (ohliad literatury). Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho. 2008;10(3):51-5. [in Ukrainian].

Висловлюємо подяку доктору фіз.-мат. наук, професору Прилуцькому Ю.І. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка) за надані зразки ВКРФ C₆₀.

ДИНАМІКА ВМІСТУ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТІВ В КРОВІ ЩУРІВ З КРІОДЕСТРУКЦІЄЮ ШКІРИ ТА УВЕДЕННЯМ ЕКСТРАКТУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ ШКІРИ ПОРОСЯТ АБО ВОДНОГО КОЛОЇДНОГО РОЗЧИНУ ФУЛЛЕРЕНУ C₆₀

Власов О. О., Ковальов Г. О., Чиж М. О., Гальченко С. Є.

Резюме. Кріодеструкція шкіри супроводжувалася статистично значущим збільшенням в сироватці крові вмісту дієнових кон'югатів і ТБКАП. При цьому мало місце зменшення активності супероксиддисмутази і каталази. Застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят або водного колоїдного розчину фуллерену C₆₀ сприяло відновленню балансу про- і антиоксидантної систем у тварин з холододивними ранами, що проявляється нормалізацією вмісту ТБКАП і дієнових кон'югатів, а також підвищенням активності супероксиддисмутази і каталази до рівня норми в сироватці крові на 21 добу.

Ключові слова: кріодеструкція шкіри, екстракт кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят, розчин фуллерену C₆₀, перекисне окислення ліпідів, активність антиоксидантних ферментів.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТОВ В КРОВИ КРЫС С КРИОДЕСТРУКЦИЕЙ КОЖИ И ВВЕДЕНИЕМ ЭКСТРАКТА КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ КОЖИ ПОРОСЯТ ИЛИ ВОДНОГО КОЛЛОИДНОГО РАСТВОРА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀

Власов А. А., Ковалев Г. А., Чиж Н. А., Гальченко С. Е.

Резюме. Кріодеструкція шкіри супроводжувалася статистично значущим збільшенням в сироватці крові вмісту дієнових кон'югатів і ТБКАП. При цьому мало місце зменшення активності супероксиддисмутази і каталази. Застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят або водного колоїдного розчину фуллерену C₆₀ сприяло відновленню балансу про- і антиоксидантної систем у тварин з холододивними ранами, що проявляється нормалізацією вмісту ТБКАП і дієнових кон'югатів, а також підвищенням активності супероксиддисмутази і каталази до рівня норми в сироватці крові на 21 добу.

Ключевые слова: кріодеструкція шкіри, екстракт кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят, розчин фуллерену C₆₀, перекисне окислення ліпідів, активність антиоксидантних ферментів.

THE DYNAMICS OF THE LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND ANTIOXIDANTS IN THE BLOOD AFTER SKIN CRYODESTRUCTION AND TREATMENT WITH CRYOPRESERVED EXTRACT OF PIGLET'S SKIN FRAGMENTS OR AQUEOUS COLLOIDAL SOLUTION OF FULLERENE C₆₀ IN RATS

Vlasov O. O., Kovalov G. O., Chizh M. O., Halchenko S. Ye.

Abstract. Cryodestruction is often used to treat skin tumors, since this method is the least traumatic, has no contraindications for the treatment of malignant neoplasm of external localizations. To restore the skin after cold injuries, various therapeutic methods are used to stimulate regeneration.

Research aim was to evaluate the effects of cryopreserved extract of piglet's skin fragments (PSE) or aqueous colloidal solution of fullerene C₆₀ (FAS C₆₀) on the intensity of lipid peroxidation (LPO) and the antioxidant enzymes activity in serum after local skin cryodestruction in rat.

Research object and methods. The study was performed in 6-month-old hairless male rats in compliance with the requirements of the Bioethics Committee of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the

NAS of Ukraine. The low-temperature exposure on skin was done by cryoprobe (10 mm diameter, time was 120 s). FAS C₆₀ was injected into the abdominal cavity daily in a single dose of 0.1 mg/kg body weight, starting from the day of cryodamage for 5 days. PSE were injected into the abdominal cavity daily during the entire experiment, the peptide dose was 50 µg per 100 g of weight. To assess the intensity of lipid peroxidation, the level of diene conjugates (DC) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) was determined. Antioxidant activity was evaluated by the activity of superoxide dismutase (SOD) and serum catalase (CAT). Statistical processing of the results was carried out using the Kruskal-Wallis test using the software package STATISTICA 10.0 (StatSoft, USA).

Results. On the 7th day of the experiment, the concentration of DC in serum was significantly higher than normal in all cases. On day 21, this indicator returns to normal values in groups of animals that were injected PSE or FAS C₆₀.

A similar situation was observed when studying the concentration of TBA-RS in rat serum. In all cases, a decrease of this indicator is observed on day 21. But only in groups that were treated with PSE or FAS C₆₀, on the 21st day, the concentration of TBA-RS in blood serum was normalized.

The activity of SOD on day 7 in all experimental groups was less than normal. On day 14, its activity was also less than normal, but in the group with PSE or FAS C₆₀, it was higher than in the control group. On day 21 the activity of SOD in the experimental groups was normal. And it was significantly higher than in the control group. The dynamics of activity of CAT in serum was the same as the activity of SOD.

Thus, the treatment with PSE or FAS C₆₀ helped restore the balance of pro- and antioxidant systems in animals with skin cryodestruction, it manifests itself as a normalization of the content of TBARS and DC, as well as an increase in the activity of superoxide dismutase and catalase to normal levels in serum by 21 days.

Key words: skin cryodestruction, extracts of cryopreserved piglet skin fragments, solution of fullerene C₆₀, lipid peroxidation, antioxidant enzymes activity.

*Рецензент – проф. Небесна З. М.
Стаття надійшла 13.02.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-106-111

УДК 616-018.4-003.93:612.015.1:615.272.2]092.9-001.5

Ган І. В., Пороховська Н. В., Боднарчук Н. І., Фурдичко А. І., Федун І. Р.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМІКИ РЕГЕНЕРАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПІД ВПЛИВОМ ОСТЕОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

iryngagan@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР «Розпрацювання і застосування нових методів діагностики, профілактики та лікування захворювань ендодоннта та пародонту», № державної реєстрації 0115U000036.

Вступ. За сучасним уявленням в патогенезі хвороб тканин періодонту лежить один з класичних механізмів пошкодження мембран клітин – пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) [1,2]. В процесі ліпопероксидації утворюються синглетний кисень, пероксиди, кетони, діальдегіди та інші радикали, які взаємодіють не лише між собою, а й з молекулами біомембран [3,4]. Ферменти АОС забезпечують контроль цих процесів. Супероксиддисмутаза (СОД) – каталізуючи перетворення супероксидного аніон-радикалу у пероксид водню, перешкоджає його перетворенню в гідроксильний радикал, а каталаза забезпечує подальший розпад пероксиду водню до води і кисню. Це сприяє стабілізації мембран клітин, запобігає пошкодженню їх біоструктур і сприяє регенеративним процесам у кістковій тканині [5,6]. Надмірне пероксидне окиснення ліпідів викликає напруження антиоксидантної системи, що виявляється зменшенням контролю над вільнорадикальними реакціями. Це призводить до модифікації структури білків та ферментів, зміни їх активності, руйнування фосfolіпідів мембран та порушення транспорту іонів чим створює несприятливі умови для функціонування тканин періодонту. Тому маркерами важкості перебігу запалення в періодонті

може бути не лише рівень ПОЛ та АОС, а їх антиоксидантно-прооксидантний баланс (індекс АПІ).

Оскільки хронічні форми періодонтиту займають чільне місце серед усіх стоматологічних хвороб, важливо оцінити ефективність впливу на динаміку процесів регенерації у кістковій тканині запропонованих композицій на основі β-ТКФ та ГА порівняно з загальноприйнятим препаратом МТА.

Метою нашого дослідження було встановити в експерименті динаміку процесів репарації у тканині кістки під впливом препарату МТА та запропонованих нами композицій на основі β-ТКФ та ГА для ендодонтичного лікування оцінюючи показники біохімічних досліджень ПОЛ, АОС та індексу АПІ.

Об'єкт і методи дослідження. В експерименті використано 100 білих щурів лінії Wistar віком 9-10 тижнів. Дослідження на тваринах проводили дотримуючись принципів біоетики відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), положенням Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та були схвалені належним чином місцевим комітетом з питань етики. Для створення дефекту кістки втручання проводили під наркозом (0,5 мл 4 % розчину тіопенталу натрію всередину очеревини). Щурам на нижній щелепі зліва в ділянці між різцем та правим моляром скальпелем робили трапецеподібний розтин та відсепарували слизову оболонку. Кулястим та фісурним борами, під постійним зрошенням 0,9