

# ІКЛІНІЧНА ФАРМАЦІЯ

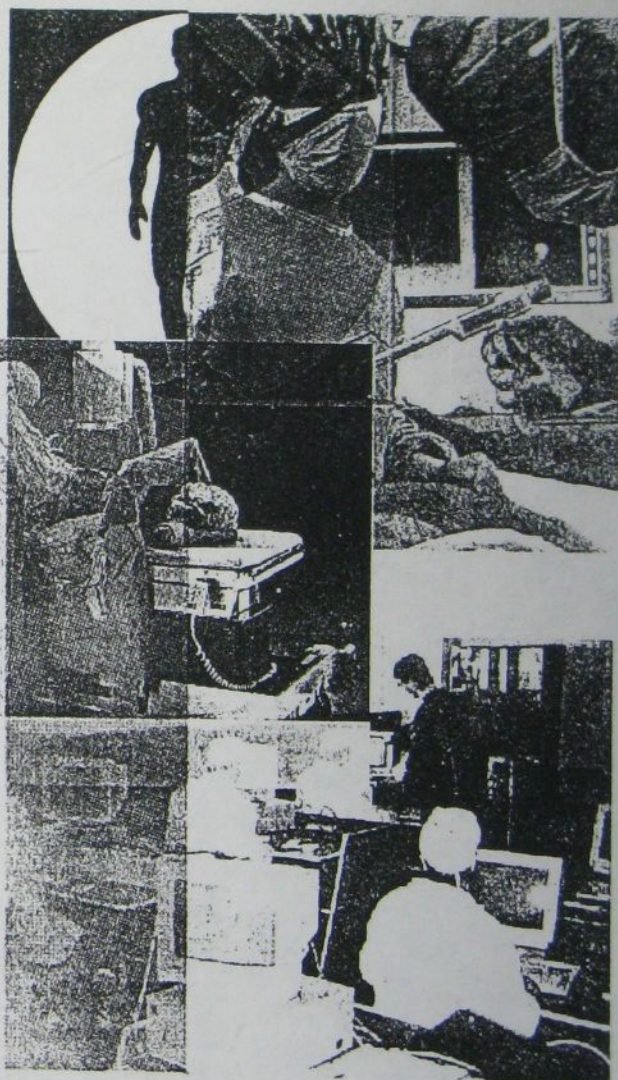
■ ФАРМАКОТЕРАПІЯ  
НЕВРОЛОГІЧНИХ ТА  
ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

■ КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ  
В КАРДІОЛОГІЇ

■ ДОКЛІНІЧНІ І КЛІНІЧНІ  
ВИПРОБУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ  
ПРЕПАРАТІВ

■ ОРГАНІЗАЦІЙНІ АСПЕКТИ  
КЛІНІЧНОЇ ФАРМАЦІЇ

■ ЛЕКЦІЇ З КЛІНІЧНОЇ  
ФАРМАКОЛОГІЇ





# ВИВЧЕННЯ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ РОЗВИТКУ СТРЕСУ ЗА ДОПОМОГОЮ ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ (НОВІ ТЕХНОЛОГІЇ В МЕДИЦИНІ)

Ю.І.Бажора, В.Й.Кресюн, А.А.Константинова

Одеський державний медичний університет

Ключові слова: лазерна спектроскопія; стрес; гомеостаз; фармакотерапія

**Мета:** дані щодо застосування нової технології в медицині — лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) біологічних рідин. На прикладі поетапного вивчення патогенетичних механізмів розвитку стресу було виявлено, що ЛКС плазми крові є високоінформативним інтегральним показником гомеостазу. Встановлено, що ЛКС виявляє ранні зміни спектрального складу часток білків плазми (за їх величиною та вкладом в спектророзсіювання) в порівнянні з традиційними (біохімічними, морфологічними тощо) методами. Крім того, якщо за даними традиційних методів нормалізація параметрів гомеостазу відбувалася на 7-8 добу, то спектральні зміни зберігались до 13-14 доби. Отримані результати дозволяють рекомендувати ЛКС-метрію як чутливий метод в оцінці ефективності фармакотерапії.

Протидіючи стресорним факторам, регуляторні системи організму (нервова, ендокринна, імунна) включають цілий ряд захисних механізмів через основні ефекторні системи, що відображаються в змінах показників гомеостазу плазми (сироватки) крові [9]. Тривала дія стресорних агентів призводить до стійких порушень обмінних процесів, які проявляються зрушеннями в різних ланках метаболізму [15]. Зміни показників гомеостазу в крові при експериментальних та клінічних дослідженнях визначають різними методами поодино, а потім знаходять корелятивні взаємозв'язки між параметрами, які вивчаються, що ускладнює інтегральну оцінку їх змін в динаміці [11].

В останні роки в ряді експериментальних та клінічних досліджень показана діагностична цінність методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС), який дозволяє давати оцінку багатопараметровим зрушенням в системі гомеостазу, що мають характерні особливості при тих чи інших патологічних станах, а також про-

гнозувати перебіг захворювання, спостерігати за ефективністю лікування. Слід відмітити, що клінічна апробація методу знаходиться на етапі накопичення банку даних, співставлення одержаних результатів з показниками біохімічних, імунологічних, гістохімічних та інших досліджень, тому інтерпретація зрушень у системі гомеостазу за допомогою ЛКС-метрії при вивченні динаміки патологічних процесів в експерименті може стати значно інформативнішою та обумовлювати більш швидке клінічне застосування цього методу.

Метою даної роботи було вивчення характеру зрушень у плазмі крові, виявлених методом ЛКС у динаміці розвитку стрес-реакцій.

## Матеріали та методи

Досліди проводились на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-250 г. Стрес відтворювали методом тривалої (4 доби) депривації парадоксальної фази сну [14]. Кров для досліджень брали з 3,8% розчином натрію цитрату у співвідношенні 9:1. Зразки плазми крові для ЛКС-метрії готували ра-

ніше описаним методом [4]. Забір крові проводили на 2, 3, 4, 12, 13 та 14 добу експерименту. Традиційні методи дослідження показали, що в перші чотири доби розвиваються основні прояви стресу, які стають найбільш вираженими на 4-5 добу, а з 6-ї доби вони поступово зменшуються і відновлюються на 8-10 добу [6].

ЛКС-метрію проводили на ЛК-спектрометрі (Санкт-Петербурзький НДІ ядерної фізики), сполученому з комп'ютером IBM PC AT. Зареєстровані кореляційні функції піддавались математичній обробці методом регуляризації за допомогою спеціальної процедури, яка входить в комплект програмного забезпечення спектрометра. Результатом розрахунку є функція розподілу світлорозсіюючих часток за розмірами, яка наводиться у вигляді гістограм. Одержані в роботі результати візуалізовані у вигляді загальногрупових гістограм спектрів розсіювання; різниця між групами оцінювалась за класифікаційними картами і таблицями [2].

## Результати та їх обговорення

Дані ЛКС-метрії плазми крові щурів контрольної групи (рис. 1) показують, що груповий спектр



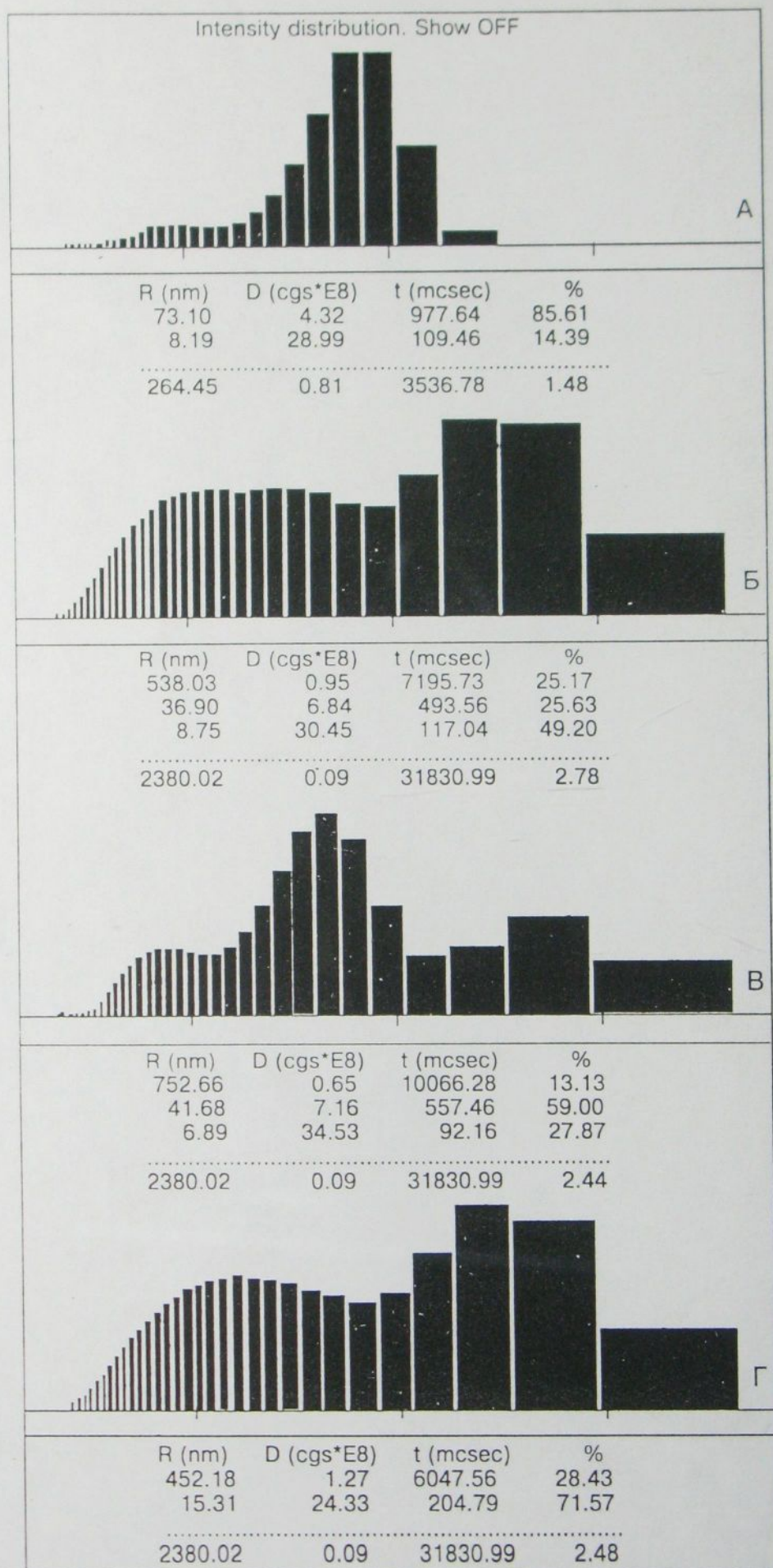


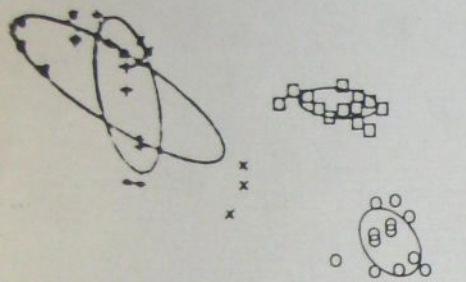
Рис. 1. Характеристика групових ЛК-спектрів плазми крові щурів в динаміці розвитку стресу, де вісь абсцис — % внеску в світлорозсіювання; вісь ординат — розмір часточок в нм; А — контрольна група; Б — 2 доба дослідження; В — 3 доба дослідження; Г — 4 доба дослідження.

цих тварин має бімодальне розподілення з усередненими модами 8,19 нм (низькомолекулярна фракція) та 73,10 нм (середньомолекулярна фракція). Принципово таку ж будову мають усереднені спектри плазми крові здорових людей [3]. На другу добу розвитку стресу ЛК-спектр плазми крові тварин зазнає суттєвих змін. Змінюється як відношення відповідних фракцій, так і їх внесок у світлорозсіювання. Так, низькомолекулярна фракція (8,75 нм) вносить 49,2% в світлорозсіювання. З'являються також виражені шпильки з модами 36,90 нм (25,6%) і 538,03 нм (25,8%). Останні не спостерігаються ні у здорових тварин, ні при інших експериментальних моделях, які нами вивчалися [10]. Незначний вклад (2,8%) в світлорозсіювання мали надзвичайно великі частки (2380,02 нм).

Виявлені зміни на даному етапі розвитку стресу (стадія напруги), вірогідно, пов'язані з дією відомих механізмів. В першу чергу, це викид глюкокортикоїдів, які запускають процеси катаболізму [12] та призводять до появи в крові підвищеного вмісту різних біомолекул, які інтенсивно використовуються клітинами органів ефекторних систем. Глюкокортикоїди, впливаючи, наприклад, на сполучну тканину, викликають в ній деструкцію, що може супроводжуватись викидом у кров великої кількості молекул різної величини, та утворюють значні біомолекулярні комплекси. Крім того, в цей період розвитку стресу проходять зміни в системі зсідання та протизсідання крові, спрямовані в бік тромбоутворення [1]. Катаболічний ефект стресу веде до розпаду білків м'язів, сполучної тканини, лімфодних утворень. Очевидно, що циркуляція в крові протягом невизначеного часу продуктів інтенсивного розпаду клітин лімфодної системи, як одного з важливих компонентів мобілізації захисних механізмів організму, також робить свій внесок у зміну ЛК-спектру плазми крові.

На 3-ю добу розвитку стресу згідно з сьогоднішнім уявленням





- - контроль
- ⊕ - ds2
- - ds3
- × - ds4

• статистичний аналіз  
 ■ довжини ЛК-спектрів груп дослідних тварин на 2, 3, 4 доби стрес-реакції, де: ○ — контроль, ⊕ — 2 доба; □ — 3 доба; × — 4 доба дослідження; \* — значимі довірчі інтервали

...стадія встановлюється стадія ... В цей часовий тер... трама завнає значних змін... до такої на 2-у... набуває чіткої тримодальної конфігурації. Внесок в світлорозсіювання мілких (6,89 нм) та великих (752,66 нм) частинок зменшується майже вдвічі, при цьому домінуючою (59.0%) стає фракція з модою 41.68 нм. Можна припустити, що компенсаторні механізми адаптації на цій стадії розпочинають біохімічні процеси, спрямовані на включення часточок малих розмірів, серед яких знаходяться альбуміни, глобуліни та мікроглобуліни (муноглобуліни) та інші малі комплекси [5]. Не виключено, що крупнодисперсні комплекси, які фіксуються в органах тваринах, піддаються катаболічним перетворенням, характерним для стрес-реакції. Активація адаптивних механізмів призводить до генералізованої мобілізації резервних та структурних резервів в організмі, що підвищує рівень глікогену в печінці, викликає ліполіз, активує гліколітичну та трансамінування, що створює сприятливі умови для окислювальних процесів у тканинах. Цей факт підтверджується значним посиленням гліколізу, окисленням жирних кислот, збільшенні вмісту аденозних нуклеотидів, в основному за рахунок АТФ, супроводженим цим процесом та цілим

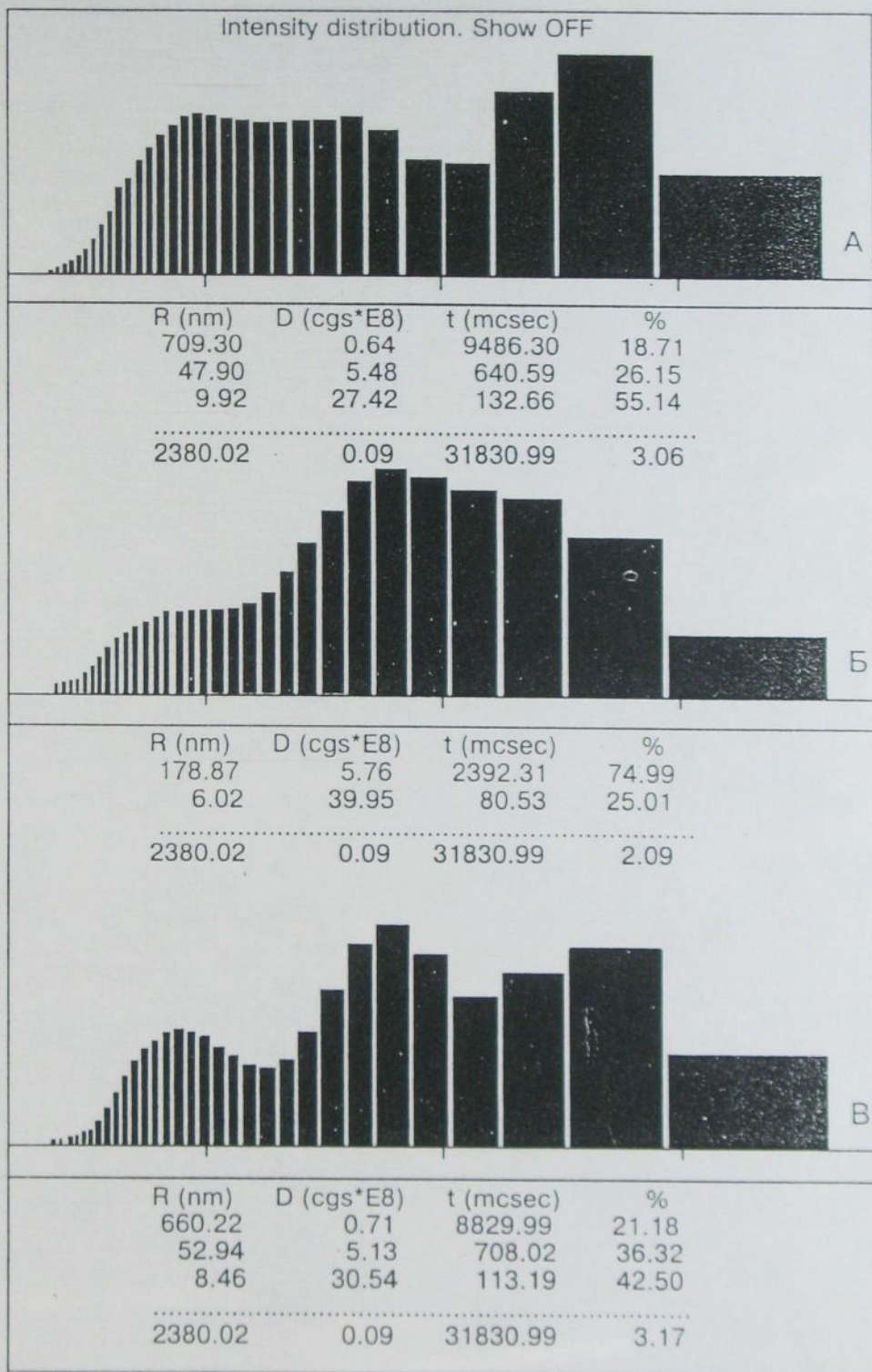


Рис. 3. Характеристика групових ЛК-спектрів плазми крові щурів після стресу, де: вісь абсцис — % внеску в світлорозсіювання; вісь ординат — розмір часточок в нм. А — 12 доба дослідження; Б — 13 доба дослідження; В — 14 доба дослідження

рядом інших біохімічних показників.

На 4-у добу експерименту, коли за верифікованими даними із застосуванням інших методів дослідження настає стадія виснаження, ЛК-спектр набував бімодальної конфігурації з модами 15.31 нм (71,6%) та 452,18 нм (28,4%). В цей період розвитку стресу, коли компенсаторні механізми гомеостазу суттєво пригні-

чені, в першу чергу, страждають клітинні мембрани і метаболізм ліпідів. Різко активуються процеси пероксидації ліпідів, про що свідчить збільшення рівня маломолекулового діальдегіду та дієнових кон'югатів, пригнічується ферментна та неферментна частина антиоксидантного захисту [8]. Поряд з цим в організмі активується цілий ряд систем, що відіграють "стимулюючу" або адаптивну



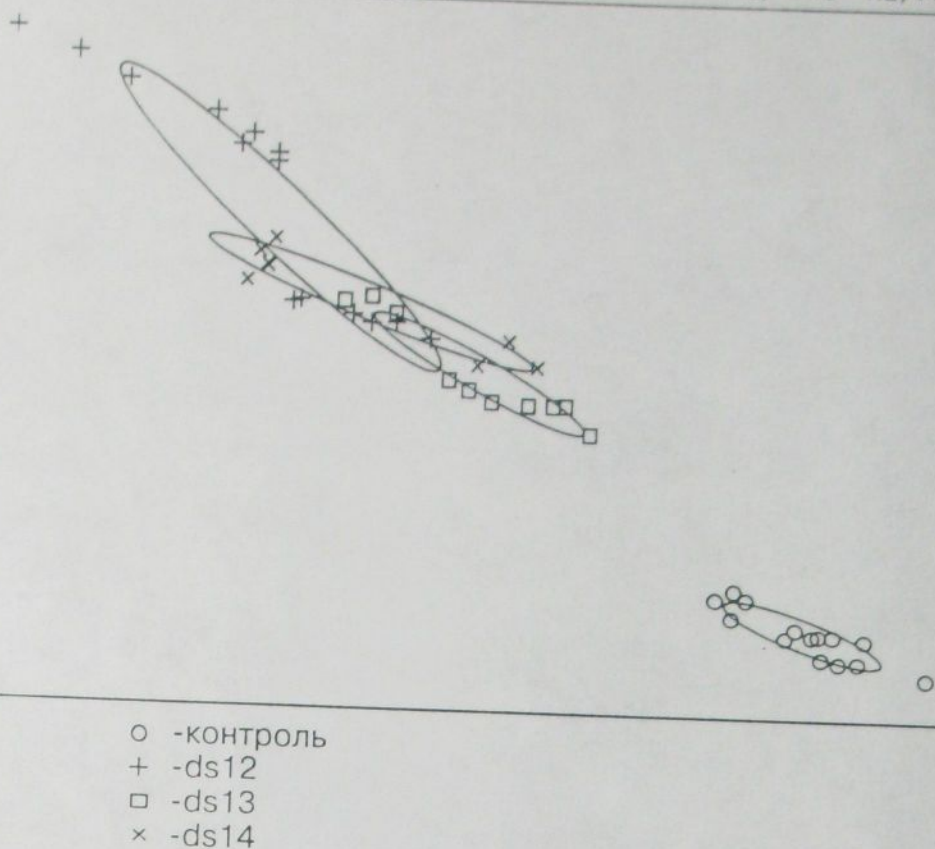


Рис. 4. Класифікаційний аналіз відмінності ЛК-спектрів груп піддослідних тварин на 12, 13, 14 добу після стрес-реакції, де: o — контроль; + — 12 доба; □ — 13 доба; x — 14 доба дослідження; еліпси — довірчі інтервали

роль у підтримці сталості гомеостазу. До них, в першу чергу, відноситься система простагландинів. Останні не тільки модулюють активність стрес-компетентних органів, але й запобігають пошкодуючій дії симпатичної нервової системи [16]. Декомпенсація цих адаптативних механізмів супроводжується інтенсивним пошкодженням мембран, порушенням функції клітин в цілому, що призводить до накопичення біомолекул різної величини, та структури в плазмі крові. Довготривала циркуляція великих комплексів може бути пов'язана також з перевантаженням клітин Купферовської системи печінки в умовах стресу [13].

Суттєві відмінності між початковим ЛК-спектром в порівнянні з таким на 2, 3 та 4 добу розвитку стресу підтверджує класифіка-

ційний аналіз (рис. 2). Він дозволяє виявити ще один дуже цікавий факт. Незважаючи на площинне накладання еліпсів, вірогідність стресу в групах на 2-у та 4-у добу, а також характер розподілення в них різні. Крім того, спектри груп, обстежених на 3-ю добу, суттєво відрізняються від них. Це дозволяє припустити, що описані вище механізми змін, які виникають в ЛК-спектрах піддослідних тварин в процесі розвитку стресорної реакції, не позбавлені підстави. Більш виражена депресія в групі тварин на 2-у добу (стадія тривоги) вказує на індивідуальні особливості ввімкнення тих чи інших механізмів адаптації у кожного щура. Процеси декомпенсації в стрес-компетентній системі, вірогідно, мають однаковий характер, тому в групі щурів на 4-у добу розвитку

стресу дисперсія змін значно менша. Чітку спрямованість мають і механізми, які забезпечують розвиток стадії резистентності. Раніше нами було показано [6], що виражені зміни ЛК-спектрів зберігаються на 7-8 добу початку розвитку стресу, і лише на 9-у добу гістограми набувають схожості з такими ж на 3-ю добу дослідження стресу. В даній роботі було встановлено, що коливання спектрального складу частот та їх внеску в світлорозсіювання спостерігається і на 12-й день (рис. 3 А,Б). Лише на 14-й день стабілізується картина гістограм з направленістю в бік нормалізації (рис. 3 В). Це підтверджує і класифікаційний аналіз групових ЛК-спектрів (рис. 4).

Слід підкреслити, що ЛКС-метод плазми крові при експериментальному стресі в різні проміжки часу є більш чутливим методом розпізнавання його динаміки та тяжкості процесу. В ряді досліджень було встановлено, що при даній моделі стресу структурно-функціональні порушення гомеостазу відновлюються (за результатами традиційних методів дослідження) на 7-10 добу. Таким чином, ЛКС дозволяє встановити більш тонкі порушення в системі гомеостазу та слідові реакції метаболічних процесів і міжмолекулярних взаємовідносин внутрішнього середовища організму. Ці факти, безперечно, вимагають подальшого дослідження. Одержані результати потребують співставлення з даними методів аналізу. Лазерна кореляційна спектроскопія відкриває нові аспекти застосування стрес-протекторів в експериментальній та клінічній медицині, так як ми одержуємо достовірні критерії оцінки ефективності лікарських засобів, що використовуються в терапії різних захворювань.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев Г.В., Лютова Л.В., Ненчикова А.Л. и др. // Кардиология. — 1987. — Т. 27, №7. — С. 95-96.
2. Бажора Ю.И., Карповский Е.Я., Запорожан В.Н. и др. // Мед. реабилитация, курортология, физиотерапия. — 1996. — №4. — С. 41-46.




- 3 Бажора Ю.И., Карповский Е.Я., Запорожан В.Н. и др. // *Мед. реабилитация, курортология, физиотерапия* — 1997. — №1. — С. 42-48.
- 4 Бажора Ю.И., Соколовский В.С., Кресюн В.И. и др. *Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине. Методические рекомендации.* — Одесса, 1995. — 20 с.
- 5 Бажора Ю.И., Шмалько Ю.П. *Стресс и метастазирование злокачественных опухолей.* — К.: Наукова думка, 1987. — 248 с.
- 6 Кресюн В.И. // *Бюлл. exper. биол. и мед.* — 1983. — Т. 96, №12. — С. 37-40.
- 7 Кресюн В.И., Бажора Ю.И., Карповський Е.Я., Костянтинова Л.Л. // *Вісник морської медицини.* — 1997. — №1. — С. 75-78.
- 8 Кресюн В.И., Рожковский Я.В. // *Украин. биохим. журн.* — 1991. — Т. 63, №4. — С. 74-80.
- 9 Мейерсон Ф.З. *Адаптация, стресс и профилактика.* — М.: Наука, 1981. — 278 с.
- 10 Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине / Под ред. Ю.И. Бажора, В.И. Кресюна, В.Н. Запорожана. — К.: Здоров'я, 1996. — 206 с.
- 11 Пачен Л.Е. Принцип системного подхода в изучении адаптационных механизмов / В кн.: *Эволюционная биология человека в условиях Крайнего Севера.* — Новосибирск: Наука, 1979. — С. 74-85.
- 12 Рогов А.И. Взаимоотношения эндокринных комплексов при стрессе / Под ред. В.Б. Розена. — М.: Медицина, 1982. — 208 с.
- 13 Шкурчалый В.А. *Ультраструктура клеток печени при стрессе.* — Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1989. — 144 с.
- 14 Jouvet M., Vimont P., Delorme F., Jouvret M. // *C.R. Soc. Biol.* — 1964. — Vol. 158, №4. — P. 756-760.
- 15 Кресюн В., Арыаев В. *Tranquilizers and Stress: Adaptive Action Mechanism.* — Harwood Acad. Publ. GmbH, 1992. — Vol. 2. — P. 1-49.
- 16 Neiberg H.E., Navarrete M., Strax P. et al. // *Cancer Detect. and Prevent.* — 1979. — Vol. 2. — P. 307-336.

Адреса для листування: 270100, м. Одеса,  
вул. Балховський, 2. Тел./факс (0482) 23-42-63.  
Одеський державний медичний університет

Надійшла до редакції 09.01.1998 р.

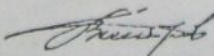
Засвідкований "КФ"


### Одержано свідоцтво про реєстрацію товарного знаку.

	УКРАЇНА	(111) 8016
	(190) (UA)	(151) 25.04.1997

**СВІДОЦТВО**  
на знак  
для товарів і послуг

зарєєстровано відповідно до Закону України  
«Про охорону прав на знаки для товарів і послуг»  
від 15 грудня 1993 року № 3689-XII

Голова Держпатенту України  В. Петров



(181) 22.04.2003

(540)

(210) 93041522

(220) 22.04.1993

(450) Бюл. № 2, 25.04.1997

(511) 5, 10, 35, 41, 42

(591) чорний, білий

(732) Українська фармацевтична академія  
м. Харків, вул. Пушкінська, 53, UA

(510) 5 - лекарственные препараты для медицинских целей; ветеринарные препараты; фармацевтические препараты; кормовые добавки для медицинских целей; гигиенические препараты.  
16 - издания печатные.  
35 - изучение рынка; публикация рекламных текстов.  
41 - воспитание; образование.  
42 - консультации профессиональные; инженерные работы (экспертная научно-исследовательская работ); исследования в области косметики.

