

П. О. Ваврух, Я. Я. Боднар, Г. П. Ваврух
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДИНАМІКА ІНТЕГРАЛЬНИХ МАРКЕРІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, СПРИЧИНЕНОЇ ВВЕДЕННЯМ ЦИТОСТАТИКІВ

Визначено інтегральні маркери ендогенної інтоксикації в експериментальних тварин з ендогенною інтоксикацією, відтвореною шляхом поєданого введення тетрахлорметану і бактерійного полісахариду, а також введення циклофосфану, та при корекції карболайном. З'ясовано, що ентеросорбент "Карболайн" зменшує біохімічні показники ендогенної інтоксикації. Можна вважати, що в основі цього феномена лежать відновлення рівноваги між анаболічними і катаболічними процесами, поновлення структури і функцій мембранних утворів за рахунок активації метаболічних процесів, зниження концентрації субстратів вільнорадикальних реакцій, сорбції екзо- та ендогенних токсинів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: маркери ендогенної інтоксикації, цитостатики, тетрахлорметан, циклофосфан.

ВСТУП. Як свідчить аналіз літератури, на сьогодні увага дослідників зосереджена на вивченні впливу на процеси структурної реорганізації міокарда токсичних речовин, у тому числі лікарських засобів. За таких умов при оцінці паренхіматозно-стромальних співвідношень у міокарді враховують проліферативну активність кардіоміоцитів та морфогенез кардіосклерозу на місці дифузної загибелі окремих м'язових клітин серця. Зазначені морфологічні прояви кардіоміопатії є основою регенераторно-пластичної недостатності міокарда, яка має притаманні їй морфологічні особливості, що відрізняють її від метаболічних та ішемічних пошкоджень серця [2]. Найбільш яскраво вона проявляється при супресії або інгібуванні кардіоспецифічних генів у результаті дії цитостатичних (цитотоксичних) препаратів. Цей ефект уперше був відзначений клініцистами при трактуванні розвитку антрациклінової кардіоміопатії і серцевої недостатності в онкологічних хворих після застосування курсу хіміотерапії.

Подібна структурна реорганізація міокарда може бути відтворена в експерименті тривалим впливом бактеріальних ліпополісахаридів, особливо в поєднанні з паренхіматозним токсичним пошкодженням печінки і/або нирок [6, 7]. При цьому міокард стає мішенню вторинного пошкодження ендогенними ток-

сичними сполуками. Викладене дозволяє припустити або заперечити участь ендогенного токсичного компонента і дисметаболических порушень у розвитку регенераторно-пластичної недостатності міокарда при курсовій хіміотерапії. Фрагментарність робіт, присвячених даній проблемі, спонукала нас до проведення цих досліджень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальне відтворення онкогенноподібної інтоксикації проведено на 110 білих нелінійних щурах-самцях при стандартному їх утримуванні й харчуванні. Інтегральні маркери ендогенної інтоксикації за умов уведення цитостатиків вивчено на трьох експериментальних моделях, всі зміни оцінено в трьох часових інтервалах (30, 60, 90 діб). До 1-ї групи входили тварини, яким вводили циклофосфан ("Артеріум", Україна) внутрішньочеревно в дозі 15 мг/кг 1 раз на 5 днів протягом 30–90 діб. До 2-ї – щури, яким, крім циклофосфану, з метою корекції ендогенної інтоксикації вводили внутрішньошлунково карболайн у дозі 1 г/кг. Тваринам 3-ї групи внутрішньошлунково вводили кожні 48 год 10 % олійний розчин тетрахлорметану з розрахунку 3–5 мл/кг маси. На 6-й день до цієї процедури додавали внутрішньочеревне введення бактеріального ліпополісахариду в дозі 0,2 мг/кг маси тіла. На 7-й день маніпуляцій не проводили [6, 7]. Усіх тварин виво-

дили з експерименту на 30-ту, 60-ту та 90-ту доби, не раніше ніж через 48 год після останньої ін'єкції цитостатика.

Як інтегральні лабораторно-біохімічні показники розвитку ендотоксикозу визначали вміст молекул середньої маси (МСМ) [8, 10], концентрацію ТБК-активних продуктів [11], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [1, 3] та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) [9].

Перед експериментом усі тварини були оглянуті й пройшли необхідний карантин. Маніпуляції, що завдають щурам біль, проводили під знеболюванням. Для анестезії використовували ефірний і тіопенталовий наркоз ("Тіопентал натрію-КМП" 25 мг/кг внутрішньочеревно). Контрольні групи формували для кожної серії експерименту з урахуванням статі й віку тварин, у всіх випадках визначено межі біологічної норми для всіх тестованих показників. Роботу з піддослідними тваринами виконували згідно з правилами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) [12].

Статистичний аналіз отриманих кількісних даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики [5] з визначенням середньої арифметичної величини (M) та похибки середньої арифметичної величини (m). У зв'язку з відсутністю нормального закону розподілу для статистичної оцінки значимості різниці між середніми величинами у вибірках використовували непараметричний метод – U-тест Манна-Уїтні. Аналіз результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" в програмному пакеті "Statsoft Statistica". Достовірними вважали відмінності при $p \leq 0,05$ (95,5 %).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При введенні тетрахлорметану і бактерійного ліпополісахариду в плазмі крові щурів відмічено збільшення рівня МСМ у всі терміни дослідження (табл. 1). Так, показник рівня МСМ₁ на 30-ту добу експерименту перевищував аналогічне значення у тварин контрольної групи в 1,38 раза ($p < 0,001$), а МСМ₂ – в 1,51 раза ($p < 0,001$) відповідно. На 60-ту добу значення показників становили 143 і 227 % від рівня контрольних тварин відповідно. На 90-ту добу значення показників рівня МСМ₁ перевищували норму в 1,53 раза, а МСМ₂ – у 2,57 ($p < 0,001$). Очевидно, досліджувані токсиканти посилюють в організмі тварин катаболічні процеси, завдяки чому і зростає вміст середніх молекул [4, 6, 7]. Значне збільшення їх вмісту вказує на різке підвищення концентрації ланцюгових і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів МСМ, причому переважає концентрація ароматичних амінокислот.

Одним з інтегральних маркерів, за яким можна відстежувати стан плазматичних мембран і його зміни при дії чинників ендогенної інтоксикації, є ЕІІ. В основі цього методу лежить уявлення про еритроцит як універсальний адсорбент. За дії досліджуваних токсикантів на 30-ту добу дослідження ступінь проникнення барвника через еритроцитарну мембрану зріс до 143 % від показника контрольної групи тварин і продовжував збільшуватись, сягаючи до 90-ї доби 193 % від норми. Зважаючи на це, можна опосередковано судити, що досліджувані токсиканти підвищують проникність клітинних мембран, проявляючи, таким чином, мембранолітичну активність. Універсальністю будови плазматичних і внутрішньоклітинних мембран пояснюється один з основних неспецифічних механізмів порушення внутрішньоклітинного гомеостазу, і, незалежно від фактора, що ініціює реакцію окиснення або перекиснення ліпідів мембран, її проникність під його впливом різко зростає, що призводить

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили тетрахлорметан і бактерійний полісахарид ($M \pm m$)

| Показник | Контрольна група (n=8) | Хронічна ендогенна інтоксикація | | |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|------------------|-----------------|
| | | 30 діб (n=10) | 60 діб (n=10) | 90 діб (n=8) |
| МСМ ₁ , ум. од. | 351,3±14,5 | 486,2±8,9*** | 503,8±9,1*** | 537,5±12,7*** |
| МСМ ₂ , ум. од. | 204,3±11,2 | 307,7±10,5*** | 463,4±10,3*** | 525,6±27,4*** |
| ЕІІ, % | 30,9±0,8 | 44,2±0,8*** | 55,9±1,0*** | 59,6±1,2*** |
| ЦІК | 104,3±3,9 | 185,3±5,1*** | 184,0±9,5*** | 197,8±12,7*** |
| МДА, мкмоль/л | 5,61±0,32 | 7,16±0,51 | 7,43±0,59 | 8,02±0,60* |

Примітки. У цій і наступних таблицях:

- 1) * – $p < 0,05$;
- 2) ** – $p < 0,01$;
- 3) *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

до ряду порушень всередині клітини і завершується пошкодженням клітинних органел та виходом ферментів [4, 6, 7]. Цей процес відіграє значну роль у розвитку ендогенної інтоксикації.

Одним з індикаторів визначення імунного статусу організму і розвитку аутоімунних процесів є рівень ЦІК у крові [1, 3]. Тривала циркуляція в організмі імунних комплексів навіть при незначному підвищенні їх рівня спричиняє накопичення їх у тканинах, підвищення агрегації і адгезії тромбоцитів, що, у свою чергу, зумовлює порушення мікроциркуляції крові та пошкодження тканин.

За умов змодельованої хронічної ендогенної інтоксикації концентрація ЦІК достовірно підвищувалася протягом усіх термінів дослідження. Зокрема, на 30-ту добу від початку введення токсикантів їх рівень становив 178 % від норми і залишався таким до 60-ї доби. На 90-ту добу зафіксовано подальше зростання ЦІК, що склало 190 % від норми. Як свідчать отримані дані, у тварин дослідної групи за умов хронічної інтоксикації тетрахлорметаном і бактерійним полісахаридом спостерігають переважання анаболічних процесів, на що вказувало збільшення МСМ, і порушення їх виведення з організму, що видно з підвищення рівня ЦІК.

Однією з причин цього можуть бути активація вільнорадикальних процесів і збільшення в організмі концентрації продуктів пероксидації ліпідів та білків. Проведене нами визначення одного з ключових маркерів ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА) підтверджує цю

тезу. Зокрема, на 30-ту добу дослідження концентрація МДА зростала в 1,28 раза і мала тенденцію до подальшого підвищення, досягнувши на 90-ту добу експерименту показника 143 % від норми (табл. 1).

При тривалому введенні циклофосфану ознаки ендогенної інтоксикації виявляли з перших термінів спостереження (табл. 2), але приріст МСМ обох фракцій був несуттєвим: в 1,24–1,41 раза до 30-ї доби, 1,34–1,59 раза до 60-ї доби, 1,49–1,68 раза до 90-ї доби (всі $p < 0,001$). Аналогічну тенденцію відмічено стосовно показника ЕІІ. На 30-ту добу перевищення відносно контролю становило 1,20 раза і зростало до 90-ї доби, сягнувши 139 %. Рівень ЦІК зростав найбільшою мірою порівняно з іншими показниками, однак ступінь зростання був нижчим, ніж при хронічній інтоксикації, спричиненій тетрахлорметаном та бактерійним полісахаридом.

На противагу цьому, з ранніх термінів дослідження і до 90-ї доби реєстрували різко підвищений рівень МДА, що переважав такий у щурів контрольної групи більш ніж у 1,58 раза, а з 90-ї доби досягнув 183 % від норми (табл. 2).

Як свідчать наведені дані, введення циклофосфану за окремими маркерами ендогенної інтоксикації відповідає проявам класичного ендотоксикозу, але за приростом МДА, як відображення активації вільнорадикальних процесів, відрізняється від нього вираженням та динамікою.

У подальшому ми провели дослідження основних інтегральних маркерів ендотоксико-

Таблиця 2 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили циклофосфан ($M \pm m$)

| Показник | Контрольна група (n=8) | Хронічна інтоксикація циклофосфаном | | |
|----------------------------|------------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|
| | | 30 діб (n=8) | 60 діб (n=10) | 90 діб (n=10) |
| МСМ ₁ , ум. од. | 351,3±14,5 | 435,8±8,0*** | 469,5±9,6*** | 522,4±11,6*** |
| МСМ ₂ , ум. од. | 204,3±11,2 | 287,3±12,6*** | 325,2±6,0*** | 342,7±8,8*** |
| ЕІІ, % | 30,9±0,8 | 37,2±1,2*** | 39,8±1,0*** | 42,8±1,1*** |
| ЦІК | 104,3±3,9 | 175,8±5,1*** | 196,6±3,8*** | 207,7±4,2*** |
| МДА, мкмоль/л | 5,61±0,32 | 8,84±0,38*** | 9,13±0,47*** | 10,27±0,56*** |

Таблиця 3 – Показники ендогенної інтоксикації в організмі щурів, яким вводили циклофосфан і карболайн ($M \pm m$)

| Показник | Контрольна група (n=8) | Хронічна інтоксикація циклофосфаном+карболайн | | |
|----------------------------|------------------------|---|---------------|---------------|
| | | 30 діб (n=10) | 60 діб (n=10) | 90 діб (n=10) |
| МСМ ₁ , ум. од. | 351,3±14,5 | 413,8±5,4** | 441,1±6,8*** | 503,7±7,6*** |
| МСМ ₂ , ум. од. | 204,3±11,2 | 257,2±9,6* | 301,8±4,8*** | 327,2±8,7*** |
| ЕІІ, % | 30,9±0,8 | 34,2±1,2* | 37,4±1,0*** | 39,4±1,1*** |
| ЦІК | 104,3±3,9 | 158,5±2,1*** | 176,5±2,7*** | 184,3±2,2*** |
| МДА, мкмоль/л | 5,61±0,32 | 7,13±0,41* | 8,32±0,38*** | 9,19±0,26*** |

зу за умов введення циклофосфану при корекції ентеросорбентом "Карболайн" (табл. 3). Як свідчать наведені результати, вміст МСМ₁ у тварин, яким проводили корекцію на 30-ту добу експерименту, становив (413±5,4) ум. од., що в 1,18 раза вище від норми, і показував тенденцію до збільшення протягом усіх термінів експерименту, але приріст був не таким суттєвим і на 90-ту добу складав 143 %. Дещо більший показник зафіксовано стосовно МСМ₂: на 30-ту добу він перевищував норму в 1,26 раза, однак був достовірно нижчим за рівень у тварин, яким корекцію не проводили. До 90-ї доби цей показник досягнув рівня (327,2±8,7) ум. од., що в 1,60 раза більше, ніж у контрольній групі.

Достовірно знижувався, порівняно з тваринами, яким вводили циклофосфан, і ЕП, який на 30-ту добу зменшувався на 7,5 %, а на 90-ту – на 8,0 %.

Дещо менший вплив спричиняв ентеросорбент на рівень ЦІК. На 30-ту добу він пере-

вищував норму в 1,52 раза. У наступні терміни концентрація їх зростала до 90-ї доби і становила 177 % від норми, що, відповідно, на 10 та 12 % менше порівняно з тваринами, яким вводили циклофосфан.

МДА на 30-ту добу дослідження перевищував дані контролю в 1,27 раза, на 60-ту добу – в 1,48 раза, на 90-ту добу – досягнув рівня 163 %, що достовірно менше від рівня тварин, яким вводили тільки циклофосфан.

ВИСНОВОК. Ентеросорбент "Карболайн", застосований з метою корекції порушень метаболізму, викликаних дією циклофосфану, зменшує рівень показників ендогенної інтоксикації. Можна вважати, що в основі цього феномена лежать відновлення рівноваги між анаболічними і катаболічними процесами, поновлення структури і функцій мембранних утворів за рахунок активації метаболічних процесів, зниження концентрації субстратів вільнорадикальних реакцій, сорбції екзо- і ендогенних токсинів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белозеров Е. С. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у больных вирусным гепатитом В / Е. С. Белозеров, Т. А. Макарова // Лаб. дело. – 1982. – № 12. – С. 37-39.
2. Ваврух П. О. Гістостереометрична характеристика міокардіопатії, індукованої цитостатичними препаратами / П. О. Ваврух, Я. Я. Боднар // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2012. – № 1. – С. 20–22.
3. Гриневич Ю. А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю. А. Гриневич, А. М. Алферов // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493-495.
4. Ендотоксикоз в клінічній онкології / В. І. Дрижак, М. І. Домбрович, М. О. Загурська, Г. І. Корицький. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1999. – 128 с.
5. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников / А. И. Кобзарь. – М. : Физматлит, 2006. – 816 с.
6. Новочадов В. В. Моделирование хронического эндотоксикоза в экспериментальной патологии / В. В. Новочадов // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2005. – № 1. – С. 32–33.
7. Новочадов В. В. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология / В. В. Новочадов, В. Б. Писарев. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
8. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : метод. реком. / [Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев и др]. – М., 1985. – 18 с.
9. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
10. "Средние молекулы" – образование и способы определения / В. В. Николаичик, В. В. Кировский, В. М. Маин [и др.] // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31–33.
11. Стальная И. Д. Метод определения маломолекулы диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили ; под ред. В. Н. Ореховича // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
12. Этические принципы при работе с лабораторными животными / В. Е. Чадаев, О. А. Кузьмина, И. Ю. Кузьмина [и др.] // Эксперим. і кліні. медицина. – 2008. – № 3. – С. 162–164.

ДИНАМИКА ИНТЕГРАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ ЦИТОСТАТИКОВ

Резюме

Определены интегральные маркеры эндогенной интоксикации у экспериментальных животных с эндогенной интоксикацией, смоделированной путем сочетанного введения тетрахлорметана и бактериального липополисахарида, а также введения циклофосфана, и при коррекции карболайном. Выяснено, что энтеросорбент "Карболайн" уменьшает биохимические показатели эндогенной интоксикации. Можно полагать, что в основе этого феномена лежат восстановление равновесия между анаболическими и катаболическими процессами, обновление структуры и функций мембранных образований за счет активации метаболических процессов, снижение концентрации субстратов свободнорадикальных реакций, сорбции экзо- и эндогенных токсинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: маркеры эндогенной интоксикации, цитостатики, тетрахлорметан, циклофосфан.

P. O. Vavrukh, Ya. Ya. Bodnar, H. P. Vavrukh
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF INTEGRAL MARKERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION CAUSED BY INTRODUCTION OF CYTOSTATICS

Summary

There were determined integral markers of endogenous intoxication in experimental animals in case of endogenous intoxication by the combined injection carbon tetrachloride and bacterial polysaccharide and injection of cyclophosphamide and its correction by "Karbolyayn". It was found out that the enterosorbent "Karbolyayn" decreases the biochemical indicators of endogenous intoxication. It can be considered that in the basis of this phenomenon is the restoration of the balance between anabolic and catabolic processes, update the structure and function of membrane structures due to the activation of metabolic processes, reducing the concentration of substrate free radical reactions, absorption of exogenous and endogenous toxins.

KEY WORDS: markers of endogenous intoxication, cytostatics, carbon tetrachloride, cyclophosphamide.

Отримано 01.04.13

Адреса для листування: П. О. Ваврух, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.