

УДК 612.015.348-02-099:547.262 + 546.47/.56]-092.9

**ВПЛИВ КОМБІНАЦІЇ КАРНІТИНУ ХЛОРИДУ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "АЛЬГІГЕЛЬ" НА ПОКАЗНИКИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ БІЛКІВ ТА ЛІПІДІВ У ЩУРІВ ЗА УМОВИ ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРУЄННЯ НА ТЛІ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ****Криницька І.Я., Чорна М.В.***Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра медичної біохімії і клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль*

**РЕЗЮМЕ:** досліджено комплексний вплив етанолу, кадмію хлориду та свинцю ацетату на показники вільнорадикального окиснення у щурів. Встановлено, що в умовах впливу вищевказаних ксенобіотиків спостерігається достовірне збільшення окиснювальної модифікації білків, первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Введення карнітину хлориду та ентеросорбенту "Альгігель" зумовило достовірне покращення показників вільнорадикального окиснення в крові та печінці отруєних тварин.

**Ключові слова:** етанол, важкі метали, вільнорадикальне окиснення, окиснювальна модифікація білків, корекція, карнітин хлорид, ентеросорбент "Альгігель"

**Вступ.** Вільнорадикальне окиснення (ВРО) – важливий і багатогранний біохімічний процес перетворення кисню, ліпідів, нуклеїнових кислот, білків та інших сполук під дією вільних радикалів, а пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків – один з його наслідків [7, 8, 10, 14]. ВРО на всіх етапах перебігу утворює численні продукти, які є результатом взаємодії вільних радикалів між собою й біологічними макромолекулами. Усі продукти ВРО поділяють на дві групи: нестабільні й стабільні [2]. До першої групи відносять усі продукти радикальної природи, до другої – продукти нерадикальної природи, серед яких виділяють: первинні продукти ВРО – гідропероксиди, ліпідні пероксиди, епоксиди, дієнові кон'югати; вторинні продукти ВРО – альдегіди, зокрема малоновий діальдегід (МДА) та газоподібні продукти окиснювальної деградації жирних кислот і білків (етан, пентан, гептан).

Різноманітні продукти ПОЛ за їх надлишку характеризуються вираженою цитотоксичною активністю. Вони пригнічують процеси енергоутворення в клітині, порушують синтез нуклеїнових кислот і білка [15, 18]. Пероксидне окиснення мембранних фосfolіпідів є одним із найбільш розповсюджених механізмів деструкції мембранних структур. Відомо кілька десятків екстремальних станів, які значно посилюють вільнорадикальне окиснення. Не останнє місце в ініціації ВРО займають інтоксикації різної природи, в тому числі і вплив важких металів [1, 13, 16].

Поряд із тим, ініціація окиснювальної модифікації білків (ОМБ) є також небезпечною ланкою токсичного пошкодження клітин через інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних насосів, із наступним запуском різноманітних механізмів руйнування клітин. Крім того, деструкція білків є більш надійним маркером окиснювальних пошкоджень тканин, ніж ПОЛ, оскільки продукти окиснювальної модифікації білків

більш стабільні, порівняно з пероксидним окисненням ліпідів.

На сучасному етапі активно ведеться пошук нових засобів корекції екзогенних токсикозів. Використання в даному випадку традиційної медикаментозної терапії далеко не завжди корисне внаслідок зростання частоти алергічних захворювань та станів, відносної токсичності та їх неефективності при тривалій дії хімічних факторів, у т.ч. і незначної інтенсивності [3].

**Мета дослідження.** Вивчити вплив карнітину хлориду та ентеросорбенту "Альгігель" на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків у щурів з гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю.

**Матеріали та методи.** Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження важкими металами викликали шляхом внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла (0,05 LD<sub>50</sub>) та свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг (0,05 LD<sub>50</sub>) протягом 30 днів [4]. Гостре алкогольне отруєння моделювали шляхом однократного внутрішньочеревного введення етилового спирту, який попередньо розводили в 0,9 % розчині натрію хлориду, з розрахунку 12,5 мл 40 % розчину етанолу на 1 кг маси [19] на 31-ий день експерименту. Інтактним тваринам вводили відповідну кількість 0,9% розчину натрію хлориду.

З метою корекції викликаних порушень внутрішньочеревинно вводили фармакопейний 20 % розчин карнітину хлориду, попередньо розведений у 10 разів ізотонічним розчином натрію хлориду, щодоби в дозі 50 мг/кг у всі дні проведення експерименту [11]. Ентеросорбент "Альгігель" (альгінат натрію) вводили внутрішньошлунково в дозі 400 мг препарату [5] щоденно впродовж усього терміну експерименту.

Всі піддослідні тварини були поділені на такі групи: I – інтактні щури; II – тварини, уражені кадмію хлоридом, свинцю ацетатом та етанолом; III – тварини, уражені кадмію хлоридом, свинцю ацетатом та етанолом, яким проводилась корекція токсикозу карнітину хлоридом та ентеросорбентом "Альгігель". Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [17].

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на третю, п'яту та сьому доби від моменту припинення ураження. Дослідженню підлягали плазма крові і гомогенат печінки.

Для вивчення оксидантного стресу були використані біохімічні методи визначення дієвих кон'югатів (ДК), як первинного продукту перекисного окиснення ліпідів [6]. Вміст ТБК-активних

продуктів як вторинного продукту перекисного окиснення ліпідів визначали за методом Стальної І.Д. [12]. Визначення окиснювальної модифікації білків плазми крові проводили за методом Мешишена І.Ф. [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Нами встановлено, що у щурів з гострим алкогольним отруєнням на тлі 30-денної інтоксикації кадмію хлоридом та свинцю ацетатом спостерігалось лінійне зростання вмісту альдегідо-і кетонпохідних нейтрального та основного характеру протягом всіх днів експерименту. Найвищий вміст досліджуваних показників спостерігався на 7-у добу експерименту, що складало відповідно 188 та 235 % від рівня норми для ОМБ<sub>370</sub> та ОМБ<sub>430</sub> у плазмі крові і аналогічно 147 та 211 % у гомогенаті печінки.

Таблиця 1

Динаміка вмісту альдегідо- та кетонпохідних нейтрального /ОМБ<sub>370нм</sub>/ і основного /ОМБ<sub>430нм</sub>/ характеру у щурів із гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації кадмію хлоридом та свинцю ацетатом та за корекції карнітину хлоридом і ентеросорбентом "Альгігель" (M±m)

Показник	Група тварин						
	Інтактні, n=6	уражені етанолом, кадмію хлоридом та свинцю ацетатом			корекція карнітину хлоридом і ентеросорбентом "Альгігель"		
		3 доба n=6	5 доба n=6	7 доба n=6	3 доба n=6	5 доба n=6	7 доба n=6
Плазма крові, ммоль/(л · год)							
ОМБ <sub>370</sub> , ммоль/г білка	0,77 ± 0,02	1,39 ± 0,08	1,42 ± 0,05	1,45 ± 0,03	0,95 ± 0,08	0,89 ± 0,07	0,86 ± 0,02
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001
ОМБ <sub>430</sub> , ммоль/г білка	0,48 ± 0,04	0,98 ± 0,06	1,07 ± 0,02	1,13 ± 0,05	0,64 ± 0,01	0,58 ± 0,05	0,53 ± 0,04
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001
Гомогенат печінки, ммоль/(кг · год)							
ОМБ <sub>370</sub> , ммоль/г білка	1,39 ± 0,02	1,97 ± 0,07	1,99 ± 0,04	2,04 ± 0,05	1,51 ± 0,04	1,46 ± 0,09	1,43 ± 0,03
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,001
ОМБ <sub>430</sub> , ммоль/г білка	0,74 ± 0,03	1,44 ± 0,04	1,48 ± 0,03	1,56 ± 0,07	0,99 ± 0,02	0,86 ± 0,06	0,80 ± 0,03
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001

Під впливом корегувальних середників показники ОМБ поступово знижувалися і під кінець експерименту наближались до рівня інтактних тварин. Так, на 7-у добу в плазмі крові концентрація похідних нейтрального характеру становила 112 % від рівня норми, що достовірно нижче, ніж в уражених тварин. Концентрація похідних основного характеру у плазмі крові на 7-у добу становила 110 % від рівня інтактних

тварин. Щодо гомогенатів печінки, то показники ОМБ як нейтрального, так і основного характеру, зазнавали там аналогічних змін і були достовірно нижчими впродовж усього експерименту, а на 7-у добу за абсолютною величиною наближались до норми (103 та 108 % відповідно). Одним із ймовірних механізмів зниження інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення білків може бути нормалізація

карнітину хлоридом активності антиоксидантної системи захисту. Крім того, ентеросорбент сприяє зменшенню ступеня токсичної дії ксенобіотиків, в тому числі їх прооксидантного впливу. Ймовірно, "Альгігель" зумовлює мобілізацію антиоксидантних механізмів захисту від вільнорадикального окиснення біомолекул, тим самим підсилюючи дію карнітину хлориду.

Як видно з таблиці 2, рівень ДК у плазмі крові та печінці залишався вірогідно високим про-

тягом усього експерименту. Найбільший вміст ДК як первинних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів було зафіксовано на 3-ю добу, що становило 245 % у плазмі крові, та 255 % у печінці порівняно з контрольними тваринами. У пізніші терміни дослідження спостерігалось незначне зниження концентрації дієнових кон'югатів, вона становила 187 % у плазмі крові та 204 % у печінці на 7-у добу від рівня інтактних тварин.

Таблиця 2

Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів у щурів із гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації кадмію хлоридом та свинцю ацетатом та за корекції карнітину хлоридом і "Альгігелем" (M±m)

Показник	Група тварин						
	Інтактні, n=6	уражені етанолом, кадмію хлоридом та свинцю ацетатом			корекція карнітину хлоридом і ентеросорбентом "Альгігель"		
		3 доба n=6	5 доба n=6	7 доба n=6	3 доба n=6	5 доба n=6	7 доба n=6
Плазма крові							
ДК, ум. од./л	1,39 ± 0,05	3,44± 0,14	2,98± 0,11	2,60± 0,10	2,08± 0,12	1,88± 0,05	1,63± 0,10
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01
ТБК АП, мкмоль/л	2,8± 0,16	4,02± 0,12	4,28± 0,14	3,77± 0,15	3,12± 0,18	3,67± 0,20	3,21± 0,12
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,05	p <sub>2</sub> <0,05
Гомогенат печінки							
ДК, ум. од./кг	7,24± 0,26	18,5± 0,45	16,11± 0,40	14,81± 0,32	14,8± 0,82	12,4± 0,30	9,04± 0,21
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001
ТБК АП, мкмоль/кг	3,94± 0,20	8,16± 0,51	9,98± 0,30	8,02± 0,36	5,28± 0,20	6,09± 0,16	4,60± 0,10
		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>2</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,001

Найвищий вміст ТБК АП було зафіксовано на 5-у добу від моменту ураження, що становило 153 % від рівня інтактних тварин у плазмі крові та 256 % у печінці. У пізніші терміни експерименту спостерігалася тенденція до зниження концентрації ТБК АП, і на 7-у добу їх рівень становив 132 % у плазмі крові та 204 % у печінці уражених щурів.

Застосування комбінації карнітину хлориду та ентеросорбенту "Альгігель" достовірно зменшувало вміст продуктів ліпопероксидації протягом всього експерименту у тварин з гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю.

Так, вже на 3-ю добу дослідження, вміст ДК був вірогідно нижчий на 40 % (p<sub>2</sub><0,001) у плазмі

крові та на 20 % (p<sub>2</sub><0,001) у печінці коригованих щурів порівняно з рівнем уражених тварин. На 5-у добу зміни мали аналогічний характер як у плазмі крові, так і в печінці, де вміст ДК був на 37 % і 23 % меншим відповідно. Але цей показник і в плазмі крові, і в печінці коригованих тварин залишався вищим на 17 % і 25 % відповідно від рівня інтактних щурів.

Вміст ТБК АП у плазмі крові також вірогідно знижувався і на 7-у добу експерименту становив 86,5 % порівняно з тваринами, які не отримували коригувальної терапії. В печінці щурів відбувалися подібні зміни, але вони були більш результативними. Так, на 7-у добу експерименту рівень ТБК-активних продуктів

становив на 44 %, ніж рівень уражених тварин. Однак порівняно з інтактними тваринами, показники вмісту ТБК-активних продуктів усе ще залишались вірогідно вищими, переважаючи вміст у інтактних тварин на 14 ( $p < 0,001$ ) та 18 % ( $p < 0,001$ ) у плазмі крові та печінці щурів.

Подальші дослідження впливу карнітину хлориду та ентеросорбенту "Альгігель" на показники окиснювальної модифікації білків та перекисного окиснення ліпідів можна продовжувати з метою впровадження в клінічну практику для покращення корекції патологічних станів, обумовлених

токсичним впливом етанолу та солей важких металів.

**Висновки.** 1. У тварин із гострим алкогольним отруєнням на тлі інтоксикації солями важких металів спостерігається виражена активація процесів вільно-радикального окиснення білків та ліпідів. 2. Ентеросорбент "Альгігель" та карнітину хлорид позитивно впливають на показники вільнорадикального окиснення білків та ліпідів. Зважаючи на їх однонаправлений вплив на досліджувані показники, можна вважати, що для них характерний механізм потенціювання фармакологічних ефектів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Балан У.В. Показники ліпопероксидації, ендотоксемії, цитокинового профілю та рівня мікроелементів у крові хворих на хронічний некалькульозний холецистит під впливом лікування глютаргіном, урсохолом та роксилідом / У.В. Балан // Буковинський медичний вісник. — 2009. — Т.13, №1. — С. 18 — 22.
2. Беленічев І.Ф. Продукти вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І.Ф. Беленічев, С.Л. Левицький, С.І. Коваленко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. — 2002. — №4. — С. 9 — 13.
3. Боднарчук Л.І., Кожура І.М., Якименко Д.М. Використання комплексних апіфітопродуктів у харчуванні людей, що проживають в умовах тривалого опромінення малими дозами радіації / Л.І. Боднарчук // Продукти бджільництва в біології і медицині: Матер. І установчого з'їзду апітерапевтів України. — К., 1998. — С. 43 — 56.
4. Герасименко Т.И. Оценка комбинированного действия бинарных смесей свинец—медь и свинец—цинк / Т.И. Герасименко, С.Г. Домнин, О.Ф. Рослый, А.А. Федорук // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 8. — С. 36 — 39.
5. Дмитруха Н.М. Влияние альгинату кальция на стан неспецифічної резистентності організму білих щурів при свинцевій інтоксикації / Н.М. Дмитруха // Сучасні проблеми токсикології. — 2004. — №4. — С. 15 — 17.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико—биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. — М.: МЕДпресс—информ, 2004. — 911 с.
7. Клес О.В. Порівняльна характеристика параметрів вільнорадикального гомеостазу тканин серця, печінки та крові щурів за дії різних рівнів іонізуючого випромінювання / О.В. Клес, М.Р. Гжегоцький // Буковинський медичний вісник. — 2007. — Т.11, №4. — С. 101 — 104.
8. Матасова Л.В. Влияние совместного приема аскорбата и железа на интенсивность свободнорадикальных процессов в тканях желудка и кишечника крыс / Л.В. Матасова, А.В. Семенихина, Т.Н. Попова // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. — 2005. — №2. — С. 9 — 13.
9. Мецишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми крові / І.Ф. Мецишен // Буковинський медичний вісник. — 1998. — Т.2, №1. — С. 156 — 158.
10. Попов С. С. Клиническая эффективность мелатонина и его воздействие на свободнорадикальный гомеостаз при токсическом поражении печени: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед наук: спец. 14.00.05 «Внутренние болезни» / С. С. Попов. — Воронеж, 2008. — 24 с.
11. Сидоряк Н.Г. Влияние L—карнитина на перекисное окисление липидов и липидный состав сыворотки крови при гемической гипоксии / Н.Г. Сидоряк, Д.В. Волгин // Укр. биохим. журн. — 1996. — Т. 68, № 5. — С. 54 — 58.
12. Стальная И.Д. Метод определения малонового 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.
13. Шевченко О.С. Перекисне окиснення ліпідів та білків мембран клітин у формуванні кальцієзалежного пошкодження міокарда на етапах декомпенсації хронічної серцевої недостатності / О.С. Шевченко // Медична хімія. — 2005. — Т.7, №2. — С. 31 — 35.
14. Шепелев А.П. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А.П. Шепелев, И.В. Корниенко, А.В. Шестопалов, А.Ю. Антипов // Вопросы медицинской химии. — 2000. — №2. — С. 8 — 25.
15. Al—Delaimy W.K. Reliability of biomarkers of iron status, blood lipids, oxidative stress, vitamin D, C—reactive protein and fructosamine in two Dutch cohorts / W. K. Al—Delaimy, E.N. Jansen // Biomarkers — 2006. — Vol. 11(4). — P. 370 — 382.
16. Daniel S. Through metal binding, curcumin protects against lead and cadmium—induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead—induced tissue damage in rat brain / S. Daniel, J.L. Limson, A. Dairam et al // J. Inorg Biochem. — 2004. — Vol. 98 — P. 75 — 86.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Council of Europe. Strasbourg. — 1986. — № 123. — 52 p.
18. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury / H. Jaeschke // J. Gastroenterol. Hepatol. — 2000. — Vol. 15. — P. 718 — 724.

19. Panchenko L.F. Effect of chronic ethanol treatment on peroxisomal acyl — CoA oxidase activity and lipid peroxidation in rat liver and heart / L.F. Panchenko, S.V. Pirozhkov, S.V. Popova, V.D. Antonenkov // *Experientia*. — 1987. — Vol. 43, № 5. — P. 580 — 581.

**SUMMARY**

THE EFFECT OF CARNITINE CHLORIDE AND ENTEROSORBENT “ALGIGEL” ACTION ON INDICES OF FREE RADICAL OXIDATION OF PROTEINS AND LIPIDS IN RATS WITH ACUTE ETHANOL ADMINISTRATION COMBINED WITH CADMIUM AND LEAD SALTS POISONING

**Krynytska I.Ya., Chorna M.V.**

Combined administration of ethanol, cadmium chloride and lead acetate on the free radical oxidation indices in rats has been studied. It was determined, that combined damage with ethanol, cadmium chloride and lead acetate is accompanied by reliable increasing of blood oxidative modified proteins, primary and secondary products of lipid peroxidation. Administration of carnitine chloride and enterosorbent “Algigel” caused the improvement of free radical oxidation indices in blood and liver of poisoned animals.

**Key words:** ethanol, heavy metals, free radical oxidation, oxidative modification of proteins, correction, carnitine chloride, enterosorbent “Algigel”