

# ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

© К.О. Алексевич, Л.С. Фіра, А.Л. Штробля, 2015

УДК 599.32+615.9]-092.4

<sup>1</sup>К.О. АЛЕКСЕВИЧ, <sup>1</sup>Л.С. ФІРА, <sup>2</sup>А.Л. ШТРОБЛЯ

<sup>1</sup>Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, факультет післядипломної освіти, кафедра фармації, Тернопіль; <sup>2</sup>Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра фармації, Ужгород

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ, ОДНОЧАСНО УРАЖЕНИХ АДРЕНАЛІНОМ ТА ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Встановлено, що пошкодження міокарда токсичними дозами адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту викликає активацію процесів вільнорадикального окиснення, зокрема ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків та пригнічення системи антиоксидантного захисту, що проявляється зниженням активності каталази та вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові, печінці та серці щурів, а також зниженням вмісту церулоплазміну уже через 3 год після поступлення кардіотоксину в організм.

**Ключові слова:** тетрахлорметан, адреналін, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантна система

**Вступ.** Прогресуюче зростання частоти токсичних впливів на організм людини внаслідок високої хімізації на виробництві і в побуті зумовлює велику поширеність токсичних уражень печінки серед загальної захворюваності населення. Реалізація дії більшості токсичних агентів здійснюється універсальним механізмом – активацією вільнорадикальних процесів. Реакції вільнорадикального окиснення біомолекул відіграють, згідно з сучасними уявленнями, провідну роль у розвитку процесів хімічного ушкодження гепатоцитів за інтоксикації організму ксенобіотиками. Дана патологія часто є супутньою із основними в структурі захворюваності і смертності серцево-судинними хворобами [2, 3, 8, 11].

Кардіотоксичний ефект катехоламінів виявляється незалежно від того, чи вони введені ззовні, чи має місце надмірне продукування їх при збудженні симпато-адреналової системи. Як при токсичних ураженнях печінки, так і при катехоламіновому ураженні міокарда, розвивається оксидативний стрес, за якого генерація активних форм кисню переважає їхню елімінацію ферментними та неферментними системами антиоксидантного захисту клітин [1, 6, 10].

В даному дослідженні ми розглядаємо інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи щурів при токсичному гепатиті у поєднанні із катехоламініндукованим ураженням міокарда.

**Мета дослідження.** Вивчити динаміку показників вільнорадикального окиснення та антиокси-

дантного захисту в умовах поєданого гострого ураження міокарда підвищеними дозами адреналіну та токсичного тетрахлорметанового ураження печінки.

**Матеріали та методи.** Експерименти виконано на 24 нелінійних білих щурах-самцях масою 170-200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Токсичне ураження печінки викликали внутрішньочеревним введенням 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 1,0 мл/кг [3]. Гостре адреналінове пошкодження міокарда спричиняли шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) в дозі 0,5 мг/кг [1]. Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію на 3-ю, 24-у та 48-у годину після введення адреналіну на фоні 7-мої доби гострого токсичного гепатиту. Кров забирали із серця тварин. Досліджували міокард, печінку, кров та сироватку крові дослідних та контрольних тварин (інтактні).

У вищевказаних тканинах визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [8]. Інтенсивність окислювальної модифікації білків (ОМБ) визначали за методом R.Levine в модифікації Е.Е.Дубініної шляхом реєстрації оптичної щільності аліфатичних альдегідо- та кетодінітрофенілгідрозонів основного і нейтрального характеру [4]. Показники ферментативної ланки антиоксидантного захисту визначали за активністю каталази (КТ) [9] та церулоплазміну (ЦП) [14]. Нефермен-

тативну ланку антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом відновленого глутатіону (ВГ) [12].

Усі експерименти виконано із дотриманням загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001) [5, 13]. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [7].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Відомо, що раннім індикатором пошкодження клі-

тин за умов вільнорадикального окислення є окисна модифікація білків. Вважають, що ОМБ відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу і є пусковим механізмом до окислювальної деструкції інших молекул, наприклад, ліпідів і нуклеїнових кислот.

Під час дослідження окисної модифікації білків в організмі щурів нами встановлено, що на 7-у добу гострого тетрахлорметанового гепатиту альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру (ОМБ<sub>370</sub>) у сироватці крові в терміні 3 год зростали у порівнянні з контрольною групою у 2,7 разу (рис. 1).

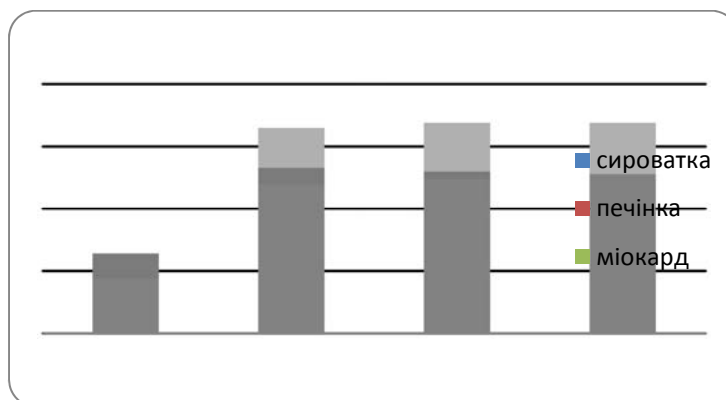


Рис. 1. Динаміка вмісту альдегідо- та кетопохідних нейтрального характеру (ОМБ<sub>370</sub>) у тканинах та сироватці крові щурів, уражених адреналіном та тетрахлорметаном (ммоль/г білка)

В подальшому їх кількість збільшувалася і в терміні 24 і 48 год була більшою у порівнянні з контролем у 2,8 і 2,9 разу відповідно. У гомогенаті міокарда даний показник в терміні 3 год збільшувався в 3,2 разу і залишався вищим в 3,25 разу в терміні 24 і 48 годин.

В тканині печінки концентрація альдегідо- і кетопохідних нейтрального характеру в терміні 3 і 24 години зростала і була більшою від контролю у 2 рази, в терміні 48 годин – незначно зменшувалася, проте залишалася більшою від контролю у 1,9 разу.

Щодо альдегідо- і кетопохідних основного характеру (ОМБ<sub>430</sub>), їх концентрація в сироват-

ці значно зростала і була більшою від контролю в 7 разів у терміні 3 години, в 7,3 разу – в терміні 24 години, надалі в терміні 48 годин дещо зменшилася, проте залишалася більшою від контролю в 6 разів (рис.2). У міокарді даний показник збільшився в 3,7 разу на 3-ю годину дослідження, на 24 і 48 годину зменшився, але залишався більшим від контролю в 3,4 і 2,3 разу відповідно. У печінці концентрація альдегідо- і кетопохідних основного характеру постійно зростала і була більшою від контролю в 2,7, 2,9 і 4 рази у відповідні терміни дослідження.

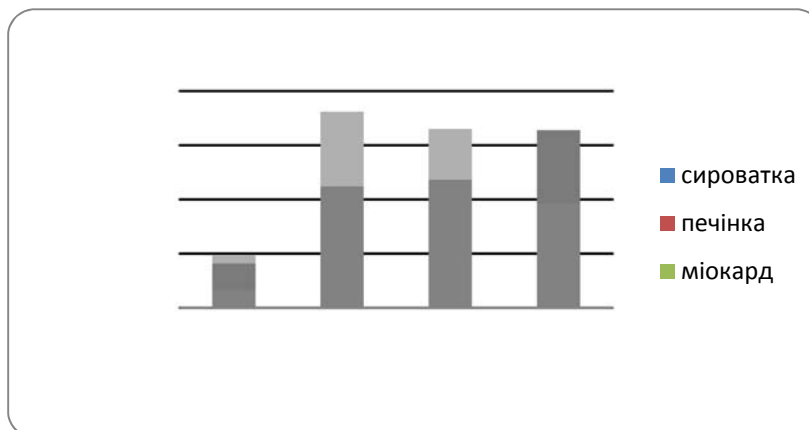


Рис. 2. Динаміка вмісту альдегідо- та кетопохідних основного характеру (ОМБ<sub>430</sub>) у тканинах та сироватці крові щурів, уражених адреналіном та тетрахлорметаном (ммоль/г білка)

Одночасне ураження тварин тетрахлорметаном та адреналіном приводить до активації вільнорадикальних процесів, внаслідок чого в організмі накопичуються вторинні продукти перекисного окиснення ліпідів. Це підтверджується при визначенні вмісту ТБК-АП (табл. 1). При одночасній дії вказаних чинників у сироватці крові вміст ТБК-АП зростав на 3-ю, 24-у та 48-у години дослідження і був більшим на 143 %, 365 % і 263 % відповідно у

порівнянні із тваринами контрольної групи. Подібну, проте менш виражену, тенденцію до зростання цього показника відзначено в серці і у печінці уражених тварин. Вміст ТБК-АП у печінці був на 35 % більшим на 3-ю, на 59 % на 24-у і на 37 % на 48-у год експерименту відносно контролю. У серці даний показник був вищим у порівнянні із контролем на 34 %, 21 % і 16 % відповідно на 3-ю, 24-у і 48-у год дослідження.

Таблиця 1

Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові та тканинах щурів, одночасно уражених токсичними дозами адреналіну та тетрахлорметану (M±m; n=24)

Об'єкт дослідження	Інтактний контроль	CCL <sub>4</sub> 7-а доба + адреналін, 3 год	CCL <sub>4</sub> 7-а доба+ адреналін, 24 год	CCL <sub>4</sub> 7-а доба+ адреналін, 48 год
Сироватка крові	2,81±0,15*	6,32±0,60*	12,11±1,25*	9,44±0,44*
Міокард	19,9±0,83*	26,57±0,28*	24,08±0,24*	23,18±0,82*
Печінка	18,02±0,53*	24,32±0,16*	28,57±1,37*	24,67±0,72*

Примітка: \* – вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими адреналіном та тетрахлорметаном

Особливе місце в протирадикальній захисній системі посідає відновлений глутатіон, який відіграє важливу роль у функціонуванні ланок системи детоксикації та захисті клітин від окиснювального стресу. У ході нашого дослідження простежувалося зниження цього показника у всі терміни. У сироватці крові вміст ВГ знижувався в порівнянні з контролем в 3,3 разу на 3-ю годину дослідження, на 24-й та 48-й годинах дослідження показник зростав та залишався нижчим від контролю в 2,4 і 2,3 разу. У печінці вміст відновленого глу-

татіону знижувався в 2,9 разу, 2,7 та 2,3 разу у відповідні терміни. У серці визначалась така ж тенденція і даний показник був нижчим від контролю в 2,8 разу, 1,9 та 1,6 разу відповідно.

У ході експерименту встановлено зниження вмісту церулоплазміну в сироватці крові у всі терміни дослідження (рис. 3). Так, на 3-ю годину після введення адреналіну даний показник знижувався на 29 % у порівнянні з контролем, в термін 24 і 48 год він дещо зростав, але залишався нижчим від контролю на 17% та 15% відповідно.

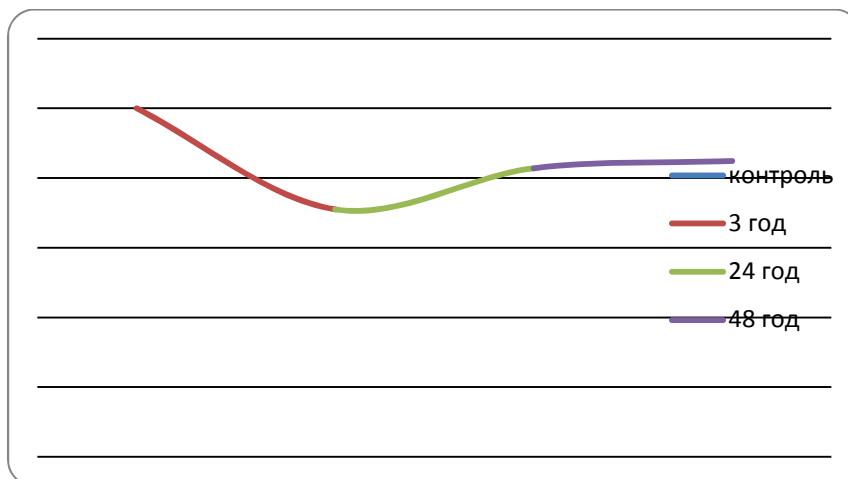


Рис. 3. Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові щурів, одночасно уражених адреналіном та тетрахлорметаном, %

Також нами було визначено активність ще одного ферменту антиоксидантного захисту, що відповідає за нейтралізацію пероксиду водню – каталази. У сироватці крові даний показник зменшувався в 2 рази через 3 год після введення адреналіну, надалі дещо підвищувався, але був нижчий від контролю у 1,5 і 1,4 разу в терміні 24 і 48 год (рис. 4).

Подібна динаміка активності каталази відзначалася і у досліджуваних тканинах. У печінці вона була меншою від контролю в 2,1 разу на 3-ю год і в 1,6 та 1,4 разу на 24-у і 48-у год дослідження. У серці утримувалась така ж тенденція і даний показник був менший за контроль в 1,5, 1,3 та 1,2 разу у відповідні терміни дослідження.

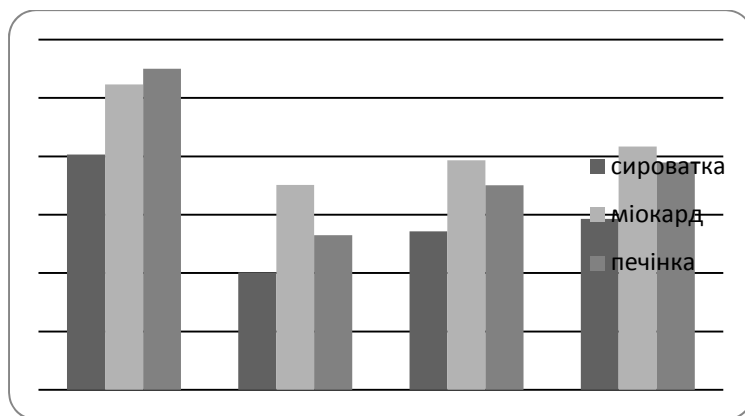


Рис. 4. Динаміка активності каталази в сироватці крові та тканинах щурів, уражених адреналіном та тетрахлорметаном, мкат/г білка

**Висновки.** У ході експериментів встановлено, що пошкодження міокарда підвищеними дозами адреналіну на тлі токсичного тетрахлорметанового гепатиту викликає активацію окиснювальних процесів в організмі щурів. Це підтверджується підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів та продуктів окиснювальної модифікації білків, максимум яких припадає на 24 год після ураження міокарда адреналіном. Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення

зумовлює пригнічення системи антиоксидантного захисту. Через 3 год після застосування адреналіну на тлі 7-денного ураження печінки тетрахлорметаном вірогідно знижується активність каталази та вміст відновленого глутатіону у сироватці крові, печінці та міокарді щурів, а також вміст церулоплазміну у сироватці крові. Отримані дані підтверджують потенціуючий токсичний вплив адреналіну у розвитку тетрахлорметанового гепатиту.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бизенкова М.Н. О роли активации процессов липопероксидации в механизмах ишемического повреждения миокарда / М.Н. Бизенкова, Н.П. Чеснокова, М.Г. Романцов // Современные наукоемкие технологии. — 2006. — № 2. — С. 26—31.
2. Губський Ю. І. Біохімічні та молекулярно-біологічні механізми хімічної загибелі клітин за ураження високотоксичними ксенобіотиками / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, О. В. Задорин [та ін.] // Буков. мед. вісн. — 2005. — № 2. — С. 76—77.
3. Губський Ю.І. Коррекция химического поражения печени. — К.: Здоров'я, 1989. — 168 с.
4. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод её определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов [и др.] // Вопросы мед. химии. —1995. — №1. — С. 24—26.
5. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. — 2003. — № 2. — С. 108—109.
6. Кушаковский М.С. Метаболические болезни сердца. — СПб: Фолиан, 2000. — 128 с.
7. Лапач С.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
8. Лісничук Н. Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки / Н. Є. Лісничук // Вісник проблем біології і медицини. — 2007. — № 2. — С. 83—88.
9. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.М. Майорова, В.Э. Токарев // Лабораторное дело. — 1988. — №1. — С. 16—19.
10. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З Ланкин, Н.К. Зенков [и др.]. — М.: Фирма «Слово», 2006. — 556 с.
11. Муравлева Л.Е. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л.Е. Муравлева // Фундаментальные исследования. — 2010. — №1. — С. 74—78.
12. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L.Ellman// Arch.Biochem.Biophys. — 1959. — Vol. 82, № 1. — P. 70—77.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experiment and other scientific purposes. — Council of Europe, Strasbourg, 1986. — 56 p.
14. Fox P.L., Ceruloplasmin and cardiovascular disease / P.L. Fox, B. Mazumder, E. Ehrenwald // Free Radic Biol Med. — 2000. — Vol.28, № 12. — P. 735—744.

<sup>1</sup>K.O. ALEKSEVYCH, <sup>1</sup>L.S. FIRA, <sup>2</sup>A.L. SHTROBLIA

<sup>1</sup>*Ternopil State Medical University by I.Y. Horbachevski Faculty of Continuing Education Department of Pharmacy, Ternopil;* <sup>2</sup>*Uzhhorod National University, Department of Pharmacy, Uzhhorod*

INTENSITY OF FREE RADICAL OXIDATION PROCESSES AND ANTIOXIDANT SYSTEM CONDITION OF RATS SIMULTANEOUSLY INJURED WITH ADRENALINE AND CARBON TETRACHLORIDE

It is established that myocardial damage by toxic doses of adrenaline on the background carbone tetrachloride hepatitis induces activation of free radical oxidation processes, including lipid peroxidation and oxidative modification of proteins and inhibition of antioxidant defense system, which is manifested by decreased activity of catalase and glutathione content in blood serum, liver and heart of rats as well as reducing the amount of ceruloplasmin within 3 hours after admission cardiotoxins to the body.

**Key words:** carbone tetrachloride, adrenaline, free radical oxidation, antioxidant system

**Стаття надійшла до редакції: 17.09.2014 р.**