

ЕНДОГЕННА ІНТОКСИКАЦІЯ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО ВПЛИВУ ІЗОНІАЗИДУ, РИФАМПІЦИНУ ТА СПОЛУК ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ

©Н.І. Бурмас, Л.С. Фіра

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. У дослідженнях на білих щурах встановлено, що при поєднаному впливі ізоніазиду (0,05 г/кг), рифампіцину (0,25 г/кг) і сполук шестивалентного хрому (3 мг/кг) відбувається посилення процесів ПОЛ та окиснювальної модифікації білків. Це супроводжується порушенням проникності клітинних мембран гепатоцитів та поглибленням ендогенної інтоксикації організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сполуки шестивалентного хрому, ізоніазид, рифампіцин, ендогенна інтоксикація.

Вступ. Великого значення у сучасній медицині надається вивченню ендогенної інтоксикації, або ендотоксикозу, під яким розуміють накопичення в тканинах і біологічних рідинах організму надлишку продуктів порушеного обміну речовин і клітинного реагування [1]. Часто доводиться зустрічатися з інтоксикацією, яка обумовлена медикаментозними препаратами, зокрема туберкулостатиками. Одним з важливих питань є вивчення ізоніазидного та рифампіцинового ураження печінки [2, 3]. Доведено, що вищевказані протитуберкульозні препарати порушують функціонально-біохімічну структуру печінки, призводять до значних змін окислювальних процесів в організмі.

Проблема інтоксикації організму важкими металами є однією з актуальних у сучасній біології та медицині. З публікацій останніх років стає очевидним, що накопичення важких металів та їх сполук в навколишньому середовищі [4, 5] викликає різноманітні функціональні та метаболічні порушення [6], у тому числі пов'язані з розвитком вільнорадикальних процесів.

Достатньо ґрунтовно доведено, що при надходженні до організму людини і тварин хром (VI) шкідливо впливає на діяльність різних органів і тканин. Багатьма авторами показано, що особливу небезпеку становлять мутагенні, канцерогенні й тератогенні ефекти Cr^{6+} [7, 8, 9]. Встановлені особливості шкідливої дії Cr (VI) значною мірою опосередковують активні форми кисню (АФО), які утворюються під час відновлення елемента в організмі та клітинах [10, 11], а також особливої уваги заслуговують встановлені нові дані про зміну активності ферментів, які каталізують окремі ланки катаболізму моносахаридів (піруваткіназа, лактатдегідрогеназа, глюкозо-6- фосфатдегідрогеназа) в гепатоцитах [7, 8].

Проте в літературі зовсім немає повідомлень про вплив солей важких металів, зокрема сполук шестивалентного хрому, на організм тварин

на тлі ізоніазидно-рифампіцинового ураження печінки. У зв'язку із вищезазначеним, доцільним є вивчити вплив туберкулостатичної інтоксикації в організмі тварин за умов поєднаного впливу зі сполуками шестивалентного хрому.

Мета дослідження – дослідити ендогенну інтоксикацію в організмі тварин за умов поєднаного впливу ізоніазиду, рифампіцину та сполук шестивалентного хрому, вивчити процеси перекисного окиснення ліпідів та гепатотоксичні ефекти в організмі щурів.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведено на білих щурах-самцях старечого віку масою 220–250 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Експериментальне ураження тварин здійснювалось за умов поєднаного введення ізоніазиду, рифампіцину і сполук шестивалентного хрому. Ізоніазид застосовували у дозі 0,05 г на 1 кг маси тіла, рифампіцин – 0,25 г/кг, сполуки шестивалентного хрому (розчин біхромату калію) – 3 мг/кг щодобовим внутрішньошлунковим введенням (за допомогою металічного зонда) протягом семи діб. Тварин поділили на чотири групи: три дослідні (по 5 особин у кожній) і одну контрольну (5 особин). Щури першої дослідної групи (D_1) отримували розчин $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ у зазначеній дозі, тварини другої дослідної групи (D_2) – рифампіцин і ізоніазид, третьої дослідної групи (D_3) – розчин $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, ізоніазид і рифампіцин одночасно. Щури контрольної групи (К) отримували фізіологічний розчин за такою самою схемою. Через 24 години здійснювали евтаназію щурів усіх дослідних груп під тіопенталовим наркозом. Об'єктом дослідження служили гомогенат печінки і сироватка крові.

Стан ендогенної інтоксикації оцінювали за зміною окислювальних процесів в організмі тварин – визначенням окислювальної модифікації білків [12], концентрацією ТБК-активних продуктів [20], вмістом молекул середньої маси (МСМ) [13,

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, короткі повідомлення, події, хроніка, дати

18, 19]; активність антиоксидантної системи – за активністю каталази [14]; проникність плазматичних мембран гепатоцитів – за активністю аланін-аспартатамінотрансфераз (АЛАТ, АсАТ) [16].

Результати й обговорення. Як видно із даних, наведених у таблиці 1, в щурів третьої дослідної групи спостерігається підвищення

процесів окислювальної модифікації білків у сироватці крові на 10 % у порівнянні із першою дослідною групою. Така ж сама тенденція спостерігається і у печінці уражених тварин. При порівнянні дослідних груп із контрольною встановлено, що окисні процеси в сироватці крові зросли у D_1 на 33, 5 %, D_2 на 37,5 % і D_3 на 39 %.

Таблиця 1. Показники окислювальної модифікації білків (ммоль/г білка, 7 доба); $n = 5$; $M \pm m$

Матеріал дослідження	370 нм				430 нм			
	К	D_1	D_2	D_3	К	D_1	D_2	D_3
Сироватка крові	0,60± 0,02	3,95± 0,17*	4,35± 0,13*	4,35± 0,13*	0,26± 0,01	1,803± 0,07*	1,86± 0,05*	1,88± 0,07*
Печінка	0,83± 0,06	3,95± 0,14*	4,29± 0,14*	4,35± 0,13*	0,47± 0,03	1,75± 0,06*	1,95± 0,04*	2,05± 0,02*

Примітка. * – вірогідні зміни між інтактними тваринами та ураженими ксенобіотиками.

Таку тенденцію до зростання активності окисних процесів в організмі можна пояснити тим, що посилюється токсичний вплив, який зумовлений поєднаною дією ізоніазиду, рифампіцину та розчину біхромату калію на утворення в організмі великої кількості активних форм кисню (АФО). Останні взаємодіють із клітинними біополімерами, беручи участь у реакціях пероксидного окиснення та пошкодження біомолекул.

Згідно з нашими даними, вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові у D_3 на 27 % збільшився в порівнянні із D_1 , з D_2 на – 3, 5%, що вказує на посилення токсичної дії сполук шестивалентного хрому в поєднанні з рифампіцином та ізоніазидом (табл. 2).

З літератури відомо, що при надмірному накопиченні продуктів ПОЛ в організмі розвивається синдром ліпідної пероксидації, який включає такі патологічні компоненти, як пошкодження мембранних ліпідів, ліпопротеїдів і білків, інактивіацію ферментів, порушення клітинного поділу і фагоцитозу, що призводить до змін структурно-

функціональної організації мембран та їх проникності [11].

Проведені дослідження з визначення вмісту молекул середньої маси, як маркерів ендогенної інтоксикації, у сироватці крові показали, що у тварин групи D_1 на 46 % збільшився їх вміст у порівнянні із К, D_2 – на 50 % (табл. 3). У печінці спостерігаємо зменшення вмісту МСМ у всіх дослідних групах, що пов'язане із накопиченням їх у сироватці крові.

Нами вивчено активність каталази (одного із могутніх ендогенних антиоксидантів) в сироватці крові та печінці тварин після їх ураження досліджуваними ксенобіотиками.

Із таблиці 4 випливає, що активність каталази в печінці уражених тварин знизилась на 11 % у D_1 порівняно з контролем, у сироватці крові на 7 % у D_3 , що свідчить про зниження захисно-компенсаторних механізмів організму щурів після ураження.

Нами встановлено значне порушення метаболічних процесів у печінці, особливо при по-

Таблиця 2. Вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові уражених тварин (мкмоль·л⁻¹, 7 доба) $n = 5$; $M \pm m$

Матеріал дослідження	К	D_1	D_2	D_3
Сироватка крові	6,62± 0,566	6,85±0,60	8,22±0,88	9,60±0,32*

Таблиця 3. Показники вмісту МСМ (екстинція проб, 7 доба); $n = 5$; $M \pm m$

Матеріал дослідження	254 нм				280 нм			
	К	D_1	D_2	D_3	К	D_1	D_2	D_3
Сироватка крові	0,06± 0,002	0,13± 0,01*	0,15± 0,01*	0,14± 0,004*	0,04± 0,0004	0,13± 0,01*	0,15± 0,01*	0,15± 0,01*
Печінка	0,03± 0,001	0,15± 0,01*	0,12± 0,009*	0,10± 0,008*	0,03± 0,001	0,15± 0,01*	0,12± 0,008*	0,10± 0,009*

єднаному впливі ізоніазиду, рифампіцину і сполук шестивалентного хрому. Гепатотоксичні ефекти за умов поєднаного впливу ізоніазиду та рифампіцину зумовлені тим, що метаболізм препаратів відбувається переважно у печінці, це призводить до білкової (зернистої) та жирової дистрофій гепатоцитів і їх ліпоїдної інфільтрації [3].

Встановлено, що значний токсичний вплив на печінку чинить шестивалентний хром в поєднанні з протитуберкульозними препаратами. Про це свідчить збільшення у 7 разів активності АлАТ в сироватці крові на 7-му добу дослідження у даній групі тварин (табл. 5). Це підтверджується тим, що в гепатоцитах відбувається акумуляція важких металів, які надходять до організму тварин із навколишнього середовища [4, 17, 21]. У групі тварин Д₁ збільшилася активність АлАТ у порівнянні із Д₂ на 15 %. Анало-

гічна тенденція до збільшення активності в сироватці крові відмічена і для АсАТ.

Висновки. Встановлено, що ендогенна інтоксикація, яка була зумовлена сполуками шестивалентного хрому та протитуберкульозними препаратами, супроводжується активацією процесів перекисного окиснення ліпідів, зростанням вмісту молекул середньої маси та окиснювальної модифікації білків, внаслідок чого відбувається зміна проникності клітинних мембран. Доведено, що поєднана дія вищевказаних токсинів проявляє більш виражений вплив, ніж кожен з ксенобіотиків окремо.

Перспективи подальших досліджень. Підвищення активності АлАТ підтверджує гепатотоксичний ефект сполук хрому та туберкулоstaticів, що дозволить провести наступні дослідження з вивчення процесів жовчоутворення та знайти ефективні методи корекції виявлених порушень.

Таблиця 4. Активність каталази (мкмоль/с · мг білка, 7 доба); n = 5; M ± m

Матеріал дослідження	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃
Сироватка крові	120,00±0,30	120,00±1,01	122,00±1,09	112,00±1,71*
Печінка	121,70±0,30	107,80±1,67*	118,00±1,96	121,30±1,39

Таблиця 5. Показники активності аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази у сироватці крові уражених тварин (мкмоль/л · год, 7 доба); n = 5; M ± m

Показник	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃
АлАТ	0,12±0,01	0,452±0,04*	0,38±0,02*	0,93±0,03*
АсАТ	0,13±0,01	0,54±0,01*	0,53±0,02*	0,51±0,02*

ЛІТЕРАТУРА

1. Митрохин Н.М., Жигачева И.В., Чаморовская Л.Т. Активация перекисного окисления липидов в митохондриях печени и острая токсичность химических соединений // Гигиена и санитария. – 1991. – № 1. – С. 49–51.
2. Куничан А.Д., Шапатов М.Н., Соколова Г.Б. Действия изониазида и рифампицина на клеточные элементы культуры интактной легочной ткани экспериментальных животных // Пробл. туберкулеза. – 1991. – № 2. – С. 9–12.
3. Скакун Н.П., Табачук О.Е. Сравнительное действие изониазида, рифампицина и этамбутола на функциональное состояние печени // Эксперим. и клин. фармакология. – 1992. – Т. 55, № 2. – С. 45–47.
4. Экспериментальне вивчення впливу важких металів на організм тварин різних вікових груп / І.М. Трахтенберг, Т.К. Короленко, М.М. Коршун та ін. // Гигиена труда: Сборник 35. – 2004. – С. 158–170.
5. Makin A.J., Wendon J., Williams R. A 7-years experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987–1993) // Gastroenterology. – 1995. – V. 109. – P. 1907–1916.
6. Кухарчук О.Л., Зальцман Н.К. Неонатальний гіпотиреоз і ліпопероксидація: патогенетична роль важ-

ких металів // Медична хімія. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 22–25.

7. Сологуб Л.І., Антопяк Г.Л., Бабич Н.О. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. – Львів: Євросвіт, 2007. – 127 с.

8. Chromosome aberration and lipid peroxidation in chromium-exposed workers / S.H. Maeng, H.W. Chung, K.J. Kim et al. // Biomarkers. – 2004. – Vol. 9, N 6. – P. 418–434.

9. Hexavalent chromium ingestion: biological markers of nephrotoxicity and genotoxicity / P. Hantson, O. Van Caenegem, I. Decordier et al. // Clin. Toxicol. (Phila). – 2005. – Vol. 43, N 2. – P. 111–112.

10. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Антиоксидантные ферменты печени при ее хроническом поражении // Пат физиол. и эксперим. тер. – 1992. – № 2. – С. 41–42.

11. Процеси ліпідної пероксидації при хронічних ураженнях печінки / О.О. Абрагамович, О.І. Грабовська, О.І. Терлецька та ін. // Медична хімія. – 2000. – Т. 2, № 1. – С.5–8.

12. Арчаков А. И., Михосоев И. М. Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. – 1998. – 54, № 2. – С. 179–186.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, короткі повідомлення, події, хроніка, дати

13. "Средние молекулы" – образования и способы определения / В.В. Николайчик, В.В. Кирковський, В.М. Маин и др. // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31–33.
14. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
15. Reitman S., Frankel S. // Amer. J. clin. Path. – 1957. – Vol. 28, № 1. – P. 56–60.
16. Harman D. Free radicals, aging and degenerative disease. – N.Y.: Liss, 1986. – 150 p.
17. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и их роль в организме // Успехи биол. химии. – 1990. – Т. 31. – С. 180–208.
18. Громашевская Л.Л. Средние молекулы как один из показателей метаболической интоксикации в организме // Лабораторная диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11–16.
19. Корякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (Обзор литературы) // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
20. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
21. Cadmium- and chromium-induced oxidative stress, DNA damage, and apoptotic cell death in cultured human chronic myelogenous leukemic K562 cells, promyelocytic leukemic HL-60 cells, and normal human peripheral blood mononuclear cells / D. Bagchi, S. S. Joshi, M. Bagchi et al. // J Biochem. Mol. Toxicol. – 2000. – Vol.14, N 1. – P. 33–41.

THE ENDOGENOUS INTOXICATION IN THE BODY OF ANIMALS IN CONDITIONS OF COMBINED INFLUENCE OF ISONIAZID, RIFAMPICIN AND THE COMPOUNDS OF HEXAVALENT CHROMIUM

N.I. Burmas, L.S. Fira

Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky

SUMMARY. In the experiments on white rats has been shown that combined influence of isoniazid (0.05 g / kg), rifampicin (0.25 g / kg) and the compounds of hexavalent chromium (3 mg/kg) are strengthening the processes of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins. It is violating the permeability of the cell membranes of hepatocytes and make deepening the endogenous intoxication of an organism.

KEY WORDS: compounds of hexavalent chromium, isoniazid, rifampicin, endogenous intoxication.