



М.І. Корпан<sup>2</sup>, О.А. Бур'янов<sup>1</sup>, І.С. Чекман<sup>1</sup>, В.А. Стежка<sup>1</sup>, Ю.Л. Соболевський<sup>1</sup>, Т.М. Омельченко<sup>1</sup>

## ЗАСТОСУВАННЯ ТІОТРИАЗОЛІНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОСТЕОАРТРОЗІ

<sup>1</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ, Україна,

<sup>2</sup>Віденський медичний університет, Австрія

**Ключові слова:** остеоартроз, експеримент, вільнорадикальне окислення ліпідів, тиотриазолін.

**Ключевые слова:** остеоартроз, эксперимент, свободнорадикальное окисление липидов, тиотриазолин.

**Key words:** osteoarthritis, experiment, free radical oxidation of lipids, thiotriazolin.

Мета роботи полягала в дослідженні ефективності використання тиотриазоліну для профілактики й лікування порушень окислювального гомеостазу у кролів з експериментальним остеоартрозом колінного суглоба. Аналіз результатів експерименту довів, що в патогенезі остеоартрозу велике значення має дисбаланс у системі вільнорадикального окислення ліпідів, який має місце при цій патології, і показав високу ефективність тиотриазоліну для нормалізації прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у кролів з експериментальним остеоартрозом колінного суглоба.

Целью работы было исследование эффективности использования тиотриазолина для профилактики и лечения нарушений окислительного гомеостаза у кролей с экспериментальным остеоартрозом коленного сустава. Анализ результатов эксперимента доказал, что в патогенезе остеоартроза большое значение имеет присутствующий при этой патологии дисбаланс в системе свободнорадикального окисления липидов, и показал высокую эффективность тиотриазолина для нормализации прооксидантно-антиоксидантного равновесия у кролей с экспериментальным остеоартрозом коленного сустава.

The aim of the work was to study the effectiveness of thiotriazolin for prophylaxis and treatment of disorders of oxidative homeostasis in rabbits with experimental osteoarthritis of the knee joint. The analysis of the experimental results showed that imbalance in the system of free radical oxidation of lipids played significant role in the pathogenesis of osteoarthritis. High efficacy of Thiotriazolin in normalization of prooxidant-antioxidant balance in rabbits with experimental osteoarthritis of the knee joint was shown.

Остеоартроз (ОА) – одна з поширених форм дегенеративно-дистрофічних уражень (ДДУ) апарата руху й опори (АРО), що характеризується первинним ураженням хряща й подальшим втягненням у патологічний процес епімітафізарних відділів кісткової тканини й м'якотканних елементів суглоба. Раніше проведеними дослідженнями [1] показано, що в гострий період після експериментального ушкодження колінного суглоба з метою моделювання остеоартрозу (через 2 тижні) у плазмі крові кролів спостерігалась більш значна активація системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів (ВРПОЛ), ніж через 6 тижнів (підгострий період). Але в обидва терміни експерименту активація цієї системи зумовлювалась наявністю інтегральної антиоксидантної недостатності в організмі тварин. Це засвідчувало доцільність застосування у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом (ЕПОА) у ранні терміни експерименту лікарських засобів з антиоксидантним типом фармакологічної дії для профілактики розвитку ушкоджень, які пов'язані з активацією системи ВРПОЛ і накопиченням у біологічних середовищах організму, в тому числі й у синовіальній рідині пошкодженого колінного суглоба, токсичних продуктів ліпопероксидації.

### МЕТА РОБОТИ

Дослідити ефективність тиотриазоліну для профілактики й лікування порушень окислювального гомеостазу у кролів з експериментальним остеоартрозом.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

*Оперативні процедури і структура експерименту.*

Дослідження проведено на 23 кролях шиншила масою 3–4 кг у період квітня–червня, який характеризується високою сезонною нестабільністю окислювального гомеостазу, що пов'язана зі зростанням температури зовнішнього середовища, збільшенням тривалості світлої частини доби тощо [3]. Протягом експерименту кролів утримували в умовах клініки для експериментальних тварин на стандартному харчовому раціоні в умовах вільного доступу до їжі й води.

У 20 кролів моделювали ЕПОА. Для цього хірургічно завдавали трансхондральне пошкодження діаметром 2 мм і глибиною 1 см на медіальному виростку правої стегнової кістки у напрямку медулярного каналу. Рану обробляли антибіотиком широкого спектру дії (цефтріаксон) і потім зашивали. Оперовану кінцівку не іммобілізували. Операцію проводили під масковим ефірним наркозом. Через 1 місяць у кролів розвивалися дегенеративно-деструктивні зміни, які відповідали післятравматичному ОА у людей [4]. Подібна експериментальна модель ЕПОА використовувалась і досліджена [5].

Оперованих кролів розподілено на чотири групи. Перша складалась з 5 кролів, які з профілактичною метою протягом 40 діб після операції щоденно внутрішньом'язово отримували розчин тиотриазоліну (ТТАЗ) на фізіологічному розчині у дозі 0,24 г/кг маси тіла. Друга – 5 кролів, які отримували у ті ж строки експерименту аналогічну за об'ємом дозу фізіологічного розчину (плацебо). Третя і четверта групи кролів (по 5 у кожній) отримували внутрішньом'язово, відповідно, аналогічну дозу ТТАЗ і фізіологічний розчин з лікувальною метою, починаючи з 40-го дня після операції протягом 24 днів. 3 кролі на весь термін експерименту



склали контрольну інтактну (неоперовану) групу.

Проби крові для дослідження відбирали під внутрішньом'язовим кетамін-кілокаїновим наркозом (0,4 мл/кг) з крайової вени вуха у вихідному до операції стані й у відповідні терміни експерименту після моделювання ЕПОА й застосування ТТАЗ і плацебо.

*Визначення активності системи ВРПОЛ.* Функціональний стан системи ВРПОЛ досліджували у плазмі крові кролів. Для цього користувалися методом реєстрації спонтанного (СХЛ) і  $Fe^{2+}$ -індукованого (ІХЛ) надслабкого її світіння (хемілюмінесценції) за допомогою хемілюмінометра ХЛМІЦ-01 [6,7]. На основі отриманої хемілюмінограми визначали наступні показники ІХЛ:

1. Амплітуду швидкого спалаху світіння ( $h$ , імп./с), яка відображає вміст у плазмі гідроперекисів ліпідів;

2. Максимальну амплітуду повільного спалаху надслабкого світіння плазми ( $n$ , імп./с) і його амплітуду на 6-й хвилині реєстрації ІХЛ ( $i_6$ , імп./с), які характеризують інтенсивність перебігу у ній процесу ВРПОЛ.

3. Величину  $\angle A$  нахилу зростання повільного спалаху ІХЛ плазми, яка свідчить про швидкість перекисного окислення її ліпідів (ПОЛ).

4. Латентний період реакції після ініціації ХЛ – час від моменту внесення до плазми стандартної дози  $Fe^{2+}$  до початку розвитку повільного спалаху ІХЛ ( $t_1$ , с) і час виходу кривої ІХЛ на плато ( $t_2$ , с), які характеризують співвідношення у ній прооксидантів й антиоксидантів.

За показами хемілюмінометра отримували світлосуму ІХЛ за 6 хвилин реєстрації ( $s_1$ , імп./6 хв), яка відображає вміст перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій у плазмі крові, що накопичились у ній внаслідок ініціювання ВРПОЛ іонами  $Fe^{2+}$ . Розраховували показник резистентності ліпідів плазми крові до переокислення ( $s_2$ , імп./6 хв), який являє собою різницю між  $s_1$  і сумою величини рівня СХЛ за 6 хвилин реєстрації ІХЛ. Оцінку функціонального стану системи ВРПОЛ проведено з використанням загальновідомих методів [6,7].

*Визначення активності ферментів системи антиоксидантного захисту організму (АОЗ) і вмісту низькомолекулярних маркерів оксидативного стресу.* Проводили пряме визначення активності антиперекисного ферменту каталази (КТ) у еритроцитах крові й сироваткового антиоксиданту – ферменту церулоплазмін (ЦП). У сироватці крові визначали також активність секретійного органоспецифічного (печінкового) ферменту холінестерази (ХЕ) по Хестрину [8–10]. Додатково визначали вміст низькомолекулярних продуктів процесу ПОЛ, які характеризують наявність оксидативного стресу й розгалуження процесу ліпопероксидації – дієнових кон'югатів (ДК) у плазмі крові й сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКАС) в еритроцитах крові [11].

Результати досліджень обраховані статистично з використанням  $t$ -критерію Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Застосування ТТАЗ у кролів з ЕПОА протягом перших 3 тижнів нормалізувало антиоксидантну недостатність

у плазмі крові й гальмувало накопичення у ній перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій і кінцевих продуктів процесу ПОЛ (ТБКАС) у еритроцитах, а також підвищувало резистентність ліпідів плазми до переокислення. При цьому, активність ферментів АОЗ організму не змінювалася відносно контролю, а печінкового ферменту ХЕ у сироватці крові знижувалася. У сукупності ці результати складають підставу для визначення надлишкового антиоксидантного ефекту у ТТАЗ у цей строк експерименту. Застосування плацебо не впливало на наявну антиоксидантну недостатність у плазмі крові, спричиняло накопичення у ній первинних продуктів ПОЛ (гідроперекисів ліпідів) і гальмувало накопичення кінцевих продуктів процесу ПОЛ (ТБКАС) у еритроцитах, підвищувало резистентність ліпідів до переокислення й знижувало активність печінкового ферменту ХЕ у сироватці крові. Це дає підстави класифікувати дію плацебо у ці терміни експерименту як прооксидантний вплив на організм кролів.

Через 40 днів застосування ТТАЗ з профілактичною метою у оперованих кролів, у порівнянні з інтактними, виявлявся тільки підвищений вміст у плазмі крові гідроперекисів ліпідів (на 33,9%,  $p < 0,01$ ), що було характерним і для кролів з ЕПОА (на 34,8,  $p < 0,01$ ). Крім цього, у групі оперованих кролів, які отримували ТТАЗ, дещо підвищеною була інтенсивність перебігу процесу ПОЛ, у порівнянні як з кролями з ЕПОА (на 20,4%,  $p < 0,1$ ), так і з інтактними неоперованими тваринами (на 27,7%,  $p < 0,1$ ). Інші показники хемілюмінограми плазми крові, які характеризують активність системи ВРПОЛ, реєструвалися на рівні у контрольній групі неоперованих кролів. Однак, у оперованих кролів, що отримували протягом 40 днів плацебо, у плазмі плацебо крові реєструвалася підвищена активність системи ВРПОЛ, у порівнянні з оперованими кролями, які отримували ТТАЗ. Про це свідчили підвищений рівень її СХЛ (на 15,3%,  $p = 0,2$ ), накопичення перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій (на 80,2%,  $p < 0,01$ ) і зниження резистентності ліпідів плазми крові до переокислення (збільшення показника  $S_2$ ). Активність системи ВРПОЛ у оперованих кролів, які отримували плацебо, була вищою й у порівнянні з інтактними контрольними кролями. Це виявлялось підвищеним вмістом у плазмі крові гідроперекисів ліпідів (на 30,4%,  $p < 0,02$ ), перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій (на 35,4%,  $p < 0,2$ ) і зниженням резистентності ліпідів до переокислення (у 2,3 рази).

Зіставляючи виявлені особливості впливу ТТАЗ і плацебо на активність системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОА й систему АОЗ організму в динаміці 40 днів їхнього застосування, можна констатувати наявність слабкого надлишкового антиоксидантного ефекту у ТТАЗ і прооксидантного впливу у плацебо.

## ВИСНОВКИ

Отже, за результатами досліджень ефективності застосування ТТАЗ для профілактики й лікування порушень окислювального гомеостазу у кролів з ЕПОА слід констатувати наступне:

1. У патогенетичному механізмі формування ЕПОА у кролів протягом перших 40 днів експерименту важлива роль належить системній активації ВРПОЛ. Про це свідчить зростання активності цієї системи у плазмі крові



в динаміці формування патологічного процесу, яке розвивалось внаслідок інтегральної антиоксидантної недостатності в ранні строки експерименту (3 тижні) і зберігалось до 40-го дня. Виходячи з цього, для профілактики розвитку вільнорадикального патологічного процесу при ЕПОА й підвищення ефективності його лікування доцільно використовувати лікарські засоби з антиоксидантним типом фармакологічної дії.

2. Плацебо у динаміці 24-денного застосування для лікування порушень у прооксидантно-антиоксидантній рівновазі організму у кролів на фоні ЕПОА, що вже сформувався, поглиблювало їх за рахунок свого вірогідного прооксидантного впливу на організм, що призводило до зміни ліпідного складу плазми крові й токсичного ураження тканини печінки. Застосування у кролів з ЕПОА у цей строк експерименту ТТАЗ у дозі 0,24 г/кг внутрішньом'язово супроводжувалося реалізацією його значного надлишкового антиоксидантного ефекту, внаслідок чого виявлялось пригнічення активності системи ВРПОЛ у плазмі крові.

Доцільно провести додаткові аналогічні дослідження з використанням менших доз ТТАЗ для лікування порушень у прооксидантно-антиоксидантній рівновазі організму у кролів з ЕПОА й з обов'язковим тестуванням їхнього впливу на інтактних (не оперованих) кролів.

3. Застосування ТТАЗ у дозі 0,24 г/кг внутрішньом'язово протягом 40 днів для профілактики порушень окислювального гомеостазу у кролів після моделювання ЕПОА супроводжувалося суттєвою нормалізацією прооксидантно-антиоксидантної рівноваги й підвищеної активності системи ВРПОЛ у плазмі крові, у порівнянні з тваринами, які його не отримували. Аналогічний ефект ТТАЗ виявлявся й у порівнянні з кролями з ЕПОА, що отримували плацебо, яке здійснювало прооксидантний вплив. Зіставляючи виявлені особливості впливу ТТАЗ і плацебо на активність системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОА й систему АОЗ організму в динаміці 40 днів їхнього застосування, можна констатувати наявність слабого надлишкового антиоксидантного ефекту у ТТАЗ і прооксидантного впливу у плацебо.

УДК: 616.72-002-08-039.71-085

*О.В. Клименко<sup>1</sup>, І.С. Чекман<sup>1</sup>, Н.О. Горчакова<sup>1</sup>, Л.І. Кучеренко<sup>2</sup>, І.А. Мазур<sup>2</sup>, С.В. Павлов<sup>2</sup>, Н.В. Бухтіярова<sup>2</sup>*

### **ВПЛИВ КАРДІОТРИЛУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТУ НА МЕТАБОЛІЗМ ОКСИДУ АЗОТУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ**

<sup>1</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ,

<sup>2</sup>Запорізький державний медичний університет,

НПО «Фарматрон», м. Запоріжжя

**Ключові слова:** кардіотрил, АТФ-лонг, NO, міокард, гемічна гіпоксія.

**Ключевые слова:** кардиотрил, АТФ-лонг, NO, миокард, гемическая гипоксия.

**Key words:** Cardiotryl, ATP-long, NO, myocardium, haemic hypoxia.

Встановлено вплив кардіотрилу та його метаболіту на метаболізм NO в міокарді щурів за умов гемічної гіпоксії.

Установлено влияние кардиотрила и его метаболита на метаболизм NO в миокарде крыс при условии гемической гипоксии.

In the work influence of Cardiotryl and its metabolite on the nitric oxide in rats' myocardium under the condition of haemic hypoxia was determined.

Гіпоксія є основним або супутнім патологічним процесом у патогенезі багатьох захворювань. Цей стан виникає в умовах дефіциту кисню в зовнішньому середовищі й внаслідок різноманітних патологічних процесів, пов'язаних з порушенням дихальної, серцево-судинної систем, транспортної функції крові, обміну речовин. У сучасних умовах зростає розповсюдженість ішемічних уражень серця, артеріальної гіпертензії, що потребують лікування у стаціонарі й подальшої реабілітації. У структурі загальної летальності рівень смертності від захворювань серцево-судинної системи посідає перші місця [2,5,8].

При гіпоксії транспорт кисню до тканин або його утилізація знижуються до рівня, недостатнього для підтримки метаболізму, структури й функції клітин. Це зумовлює необхідність пошуку засобів з антигіпоксичною

дією для профілактики й патогенетичної терапії при загальній або локальній гіпоксії та ішемії.

Одна із форм гіпоксії (немічна) пов'язана з токсичною метгемоглобінемією – утворенням в еритроцитах метгемоглобіну (MtHb) під впливом метгемоглобінутворювачів, таких як нітрати й нітрити. Кількість нітратно-нітритних токсичних метгемоглобінемій зростає з різних причин: екстремальних (катастрофи, аварія хімічна або при транспортуванні), залежних від діяльності людини (порушення правил зберігання, технології використання чи вимог техніки безпеки, нерациональний прийом медикаментів), природних (зливи) тощо.

Серед метаболітних сполук, що вивчаються з метою зменшення токсичного впливу нітритів і нітратів, – похідні 1,2,4-триазолу і препарати аденілових нуклеотидів. Одним із представників таких органічних сполук є кардіотрил