

DOI: 10.26693/jmbs03.02.012

УДК 612.354.2-577.125.8:57.084.1

Бардер Е. Г., Дудніченко О. С.

ВМІСТ ТБК-ПРОДУКТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ДЛЯ ОЦІНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ЛІПОСОМАЛЬНИМ ПРЕПАРАТОМ ЛІОЛІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ОКСАЛІПЛАТИНУ

Харківська медична академія післядипломної освіти,
Кафедра онкології та дитячої онкології, Україна

elmirabarder@ukr.net

У статті розглядається питання визначення вмісту ТБК-продуктів у сироватці крові щурів після застосування протипухлинного цитостатичного препарату Оксаліплатин та ліпосомального цитопротектора Ліолів на різних термінах спостереження для оцінки ступеня токсичності, зокрема гепатотоксичності. Дослідження було виконано на білих щурах (n=40), стать – самиці, вік – 2,5–3 місяці, маса тіла – 220–250 г. Було сформовано три дослідних групи щурів (в кожній – по 10 тварин), контрольні групи – дві по 5 щурів. Щурам контрольних груп вводили ізотонічний розчин хлориду натрію, щурам I групи – Оксаліплатин, II групи – спочатку Ліолів, потім Оксаліплатин, III групи – спочатку Оксаліплатин, потім Ліолів. Введення щурам Оксаліплатину в дозі 2,5 мг/кг проводили внутрішньочеревно, Ліоліву – 0,3 мл на щура внутрішньовенно, ізотонічного розчину хлориду натрію – по 0,3 мл внутрішньовенно. Введення препаратів проводили 5 разів кожен 3 день експерименту. Тривалість експерименту – 21 доба. Під час аналізу результатів біохімічних досліджень на 15 добу експерименту було встановлено, що вміст ТБК-продуктів збільшився у 2,8 рази порівняно з контрольною групою тварин. Вміст ТБК-продуктів (малоновий діальдегід) у сироватці крові щурів другої групи не збільшився. В третій групі спостерігалось зростання вмісту ТБК-продуктів в 1,9 рази порівняно з контрольною групою. На 21 добу експерименту вміст ТБК-продуктів у сироватці крові підвищився в 3,2 рази порівняно з контрольною групою, у другій групі – не змінився, у третій – був збільшений вдвічі порівняно з контрольною групою. Таким чином, у тварин першої групи вміст ТБК-продуктів був збільшений на 15 та 21 добу порівняно з контрольною групою. У другій групі тварин вміст ТБК-продуктів був найнижчим на відміну від інших дослідних груп, на 21 добу показник не відрізнявся від контрольної групи. У третій групі на 15 і 21 добу вміст ТБК-продуктів в сироватці крові щурів був менше, ніж у першій, однак залишався підвищеним порівняно з контрольною

групою. Відомо, що високий вміст ТБК-продуктів у сироватці крові свідчить про важку ендogenous інтоксикацію внаслідок токсичної дії на організм малонового діальдегіду – основного продукту перекисного окиснення ліпідів. Зростання ТБК-продуктів у крові свідчить про активізацію вільно-радикальних процесів, яка пов'язана із дестабілізацією клітинних плазматичних мембран та зменшенням антиоксидантного захисту клітин. Таким чином, поступове зниження в сироватці крові тварин другої групи вмісту ТБК-продуктів свідчить про зменшення ендogenous інтоксикації організму внаслідок цитопротекторної дії ліпосомального препарату Ліолів та відновлення метаболізму гепатоцитів, що дозволяє застосовувати даний препарат як препарат вибору для захисту клітин печінки від пошкодження під час проведення хімотерапії онкологічним хворим.

Ключові слова: щури, ТБК-продукти, малоновий діальдегід, гепатопротектори, оксаліплатин, ліолів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках наукової теми кафедри онкології та дитячої онкології Харківської медичної академії післядипломної освіти «Нанотехнології у хімотерапії злоякісних пухлин у дорослих та дітей», № державної реєстрації 0113U000972.

Вступ. Проблема зниження та контролю токсичності з метою проведення повноцінних курсів хімотерапії є на сьогодні однією із актуальних проблем в клінічній онкології [1]. Одним з біохімічних критеріїв оцінки ступеню токсичності є ТБК-продукти – малоновий діальдегід, оскільки саме він вступає в реакцію з тіобарбітуровою кислотою та визначається у сироватці крові як маркер посилення перекисного окиснення ліпідів та порушення антиоксидантного захисту тканин [2]. Експериментально і клінічно доведено, що в токсичній дії протипухлинних засобів одна з провідних ролей належить розвитку окисного стресу – дисбалансу в

системі прооксиданти-антиоксиданти. Посилення процесів вільнорадикального окиснення в результаті дії екзогенних факторів або активації ендогенних систем генерування радикалів через недостатність фізіологічної антиоксидантної системи (АОС) призводить до розвитку деструктивних явищ, що викликають загибель клітини. При окислювальному стресі слід очікувати наявності захисної дії у речовин, які мають антиоксидантні властивості [3]. На сучасному ринку лікарських препаратів з'явилися гепатопротектори, що містять ліпосомальні композиції [4]. Ці препарати є ліпосомальними формами, які містять гідрофобні антиоксиданти, і являють собою водорозчинну ін'єкційну форму, яка збільшує їх біодоступність [5–8]. Таким чином, можна вважати актуальним дослідження щодо вмісту ТБК-продуктів як маркерів порушення антиоксидантного захисту організму під час дії цитостатиків та профілактику розвитку токсичності хіміотерапії за допомогою ліпосомальних препаратів.

Мета дослідження – визначити вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів після застосування препаратів Оксаліплатин та Ліолів на різних термінах спостереження для оцінки ступеня токсичності.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводились на базі експериментально-біологічної клініки та відділу лабораторної діагностики та імунології ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (свідоцтво про атестацію № 100–287/2015 від 20.11.2015 р.). Дослідження було виконано на білих щурах ($n = 40$), стать – самиці, вік – 2,5–3 місяці, маса тіла – 220–250 г. Було сформовано три дослідних групи щурів (в кожній – по 10 тварин), контрольні групи – дві по 5 щурів. Щурам контрольних груп вводили ізотонічний розчин натрію хлориду, щурам I групи – Оксаліплатин, II групи – спочатку Ліолів, потім Оксаліплатин, III групи – спочатку Оксаліплатин, потім Ліолів. Введення щурам Оксаліплатину в дозі 2,5 мг/кг проводили внутрішньочеревно, Ліоліву – 0,3 мл на щура внутрішньовенно, ізотонічного розчину – по 0,3 мл внутрішньовенно. Введення препаратів проводили 5 разів кожен 3-й день експерименту. Тривалість експерименту – 21 доба. Через 15 та 21 добу тварини було виведені з експерименту шляхом декапітації під наркозом, після чого було відібрано кров для дослідження. Всі дослідження у роботі виконано із дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986), а також Закону

Таблиця 1 – Вміст ТБК-продуктів в сироватці крові щурів на 15 та 21 добу експерименту, ммоль/л ($M \pm m$)

Доба експерименту	Контрольна група, $n=5$	Дослідні групи		
		I група	II група	III група
15	5,95±0,27	16,37±2,18**	9,11±1,10	11,32±1,07*
21	6,25±0,49	19,80±0,96***	8,48±0,86	12,3±0,29***

Примітки: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ порівняно з контрольною групою.

України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006). Вміст ТБК-продуктів (малоновий діальдегід) в сироватці крові визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [9]. Статистичний аналіз даних був здійснений за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel XP та Statsoft Statistica 6.0. Порівняння груп пацієнтів проводилося за параметричним критерієм Стьюдента із визначенням середнього та його похибки ($M \pm m$) та непараметричним критерієм Вілкоксона із визначенням медіани (Me) та процентилів (%25 – %75), $p < 0,05$ [10].

Результати досліджень та їх обговорення.

Під час аналізу результатів біохімічних досліджень на 15 добу експерименту було встановлено, що вміст ТБК-продуктів збільшився у 2,8 рази порівняно з контрольною групою тварин. Вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів другої групи не збільшився. В третій групі спостерігалось зростання вмісту ТБК-продуктів в 1,9 рази порівняно з контрольною групою. На 21 добу експерименту вміст ТБК-продуктів у сироватці крові підвищився в 3,2 рази порівняно з контрольною групою, у другій групі – не змінився, у третій – був збільшений вдвічі порівняно з контрольною групою (**табл. 1**).

Таким чином, у тварин першої групи вміст ТБК-продуктів був збільшений на 15 та 21 добу порівняно з контрольною групою. У другій групі тварин вміст ТБК-продуктів був найнижчим на відміну від інших дослідних груп, на 21 добу показник не

Таблиця 2 – Динаміка вмісту ТБК-продуктів у сироватці крові щурів під час застосування Оксаліплатину та Ліоліву (Me , %25–%75)

Групи тварин	15 доба	21 доба
I група, $n=5$	17,44 * 12,05 – 20,15	19,38 * 17,85 – 21,97
II група, $n=5$	9,23 *◇ 6,67 – 11,49	8,43 ◇ 6,92 – 10,06
III група, $n=5$	11,79 * 8,87 – 13,54	12,60 * 11,66 – 12,81
Контрольна група, $n=5$	6,05 5,35 – 6,52	6,54 5,16 – 7,21

Примітки: * – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з показником контрольної групи; ◇ – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з показником на 15 добу.

відрізнявся від контрольної групи. У третій групі на 15 і 21 добу вміст ТБК-продуктів в сироватці крові щурів був менше, ніж у першій, однак залишався підвищеним порівняно з контрольною групою. Відомо, що високий вміст ТБК-продуктів у сироватці крові свідчить про важку ендогенну інтоксикацію внаслідок токсичної дії на організм малонагоного діальдегіду – основного продукту перекисного окиснення ліпідів (табл. 2).

Зростання ТБК-продуктів у крові свідчить про активізацію вільно-радикальних процесів, що пов'язано із дестабілізацією клітинних плазматичних мембран та зменшенням антиоксидантного захисту клітин. Тому зниження вмісту ТБК-продуктів у крові щурів другої групи на 21 добу експерименту вказує на покращення оксидантного статусу організму тварин, очевидно, внаслідок дії стабілізуючого плазматичні мембрани клітин ліпосомального препарату Ліолів, який застосовували перед введенням Оксалиплатину.

Висновки

1. Вміст ТБК-продуктів в сироватці крові щурів під час застосування цитостатиків віддзеркалював ступінь ендогенної інтоксикації організму та дозволив оцінити стан антиоксидантного захисту під час застосування протипухлинного цитостатику Оксалиплатин.
2. Поступове зниження в сироватці крові тварин другої групи вмісту ТБК-продуктів свідчить про зменшення рівня ендогенної інтоксикації організму тварин внаслідок цитопротекторної дії ліпосомального препарату Ліолів та відновлення метаболізму гепатоцитів, що дозволяє рекомендувати даний препарат, як препарат вибору для захисту клітин печінки від пошкодження під час проведення хіміотерапії в онкології.

Перспективи подальших досліджень. Планується визначення біохімічних маркерів функціонального стану печінки у щурів для оцінки ефективності ліпосомального гепатопротектору Ліолів на фоні протипухлинної терапії оксалиплатином.

References

1. Nerodo GA, Ushakova ND, Mkrtychyan ET, Menshenina AP. Vozmozhnost snizheniya opukholevoy intoksikatsii u bolnykh rakom yaichnikov III–IV stadiy. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; 4: 118. [Russian].
2. Lifshits VM, Sidelnikova VI. *Meditsinskie laboratornye analizy*. M: «Triada-X», 2003. 312 s. [Russian].
3. Potapova AA, Dorkina EG, Sergeeva EO, Sadzhaya LA. Vliyaniye sukhnogo ekstrakta iz korney shlemnika baykalskogo (*scutellaria baicalensis georgi*) na razvitiye oksidatelnogo stressa, vyzvannogo tsiklofosfanom. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; 6. Available from: URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11672> [Russian].
4. Shakhmaev AE, Krasnopolskiy YuM. Poluchenie liposomalnykh form gidrofobnykh antioksidantov. *Vestnik Nats tekhn un-ta "KhPI": sb. nauch tr. Temat vyp. Novye resheniya v sovremennykh tekhnologiyakh*. Kharkov: NTU "KhPI". 2012; 66: 141–57. [Russian].
5. Krasnopolskiy YuM, Stepanov AE, Shvets VI. Lipidnaya tekhnologicheskaya platforma dlya sozdaniya novykh lekarstvennykh form i transporta farmatsevticheskikh substantsiy. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal*. 2011; 2: 10–8. [Russian].
6. Krasnopolskiy YuM, Dudnichenko AS, Shvets VI. *Farmatsevticheskaya biotekhnologiya: bionanotekhnologiya v farmatsii i meditsine*. Kharkov: izdatelskiy tsentr NTU «KhPI», 2011. 227 s. [Russian].
7. Popova NA, Kaledin VI, Nikolin VP, Bogdanova LA, Morozkova TS, Tornuev YuV. Different efficiency of liposomal forms with hydrophilic and hydrophobic antitumor agents in relation to solid transplants of mouse tumor and its metastases in the liver. *Bull Exp Biol Med*. 2016 Oct; 161 (6): 811–5. PMID 27783294. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3518-8>.
8. Blaha M, Martinkova J, Lanska M, Filip S, Malakova J, Kubecek O, Bezouska J, Spacek J. Plasma filtration for the controlled removal of liposomal therapeutics – from the apheretic site of view. *Atherosclerosis Suppl*. 2017 Nov; 30: 286–93. PMID: 29096853. doi: 10.1016/j.atherosclerossup.2017.05.022.
9. Adzhiev DD. Issledovanie produktov perekisnogo okisleniya lipidov, nefermentativnoy i fermentativnoy antioksidantnoy sistemy v vozrastnoy dinamike samtsov krolikov. *Informatsionnyy vestnik VOGiS*. 2010; 14 (4): 674–84. [Russian].
10. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika: Per s angl*. M: Praktika, 1998. 459 s. [Russian].

УДК 612.354.2-577.125.8: 57.084.1

СОДЕРЖАНИЕ ТБК-ПРОДУКТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ДЛЯ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ЛИПОСОМАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТОМ ЛИОЛИВ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОКСАЛИПЛАТИНА

Бардер Э. Г., Дудниченко А. С.

Резюме. В статье рассматривается вопрос определения содержания ТБК-продуктов в сыворотке крови крыс после применения противоопухолевого цитостатика Оксалиплатин и липосомального препарата Лиолив при разных сроках наблюдения для оценки степени интоксикации. Исследование было выполнено на белых крысах (n = 40), пол – самки, возраст – 2,5–3 месяца, масса тела – 220–250 г. Было сформировано три опытных группы крыс (в каждой – по 10 животных), контрольные группы – две по 5 крыс. Крысам контрольных групп вводили изотонический раствор хлорида натрия, крысам I группы – оксалиплатин, II группы – сначала лиолив, затем оксалиплатин, III группы – сначала оксалиплатин, затем лиолив. Введение крысам оксалиплатина в дозе 2,5 мг/кг проводили внутривенно, лиолива – 0,3 мл на крысу внутривенно, изотонического раствора натрия хлорида – по 0,3 мл внутривенно. Введение препаратов проводили 5 раз каждый 3 день эксперимента. Продолжительность эксперимента – 21 сутки. При

анализе результатов биохимических исследований на 15 сутки эксперимента было установлено, что содержание ТБК-продуктов увеличилось в 2,8 раза по сравнению с контрольной группой животных. Содержание ТБК-продуктов (малонового диальдегида) в сыворотке крови крыс второй группы не увеличилось. В третьей группе наблюдался рост содержания ТБК-продуктов в 1,9 раза по сравнению с контрольной группой. На 21 сутки эксперимента содержание ТБК-продуктов в сыворотке крови повысилось в 3,2 раза по сравнению с контрольной группой, во второй группе – не изменилось, в третьей – было увеличено вдвое по сравнению с контрольной группой. Таким образом, у животных первой группы содержание ТБК-продуктов было увеличено на 15 и 21 сутки по сравнению с контрольной группой. Во второй группе животных содержание ТБК-продуктов было самым низким в отличие от других опытных групп, а на 21 сутки показатель не отличался от контрольной группы. В третьей группе на 15 и 21 сутки содержание ТБК-продуктов в сыворотке крови крыс было меньше, чем в первой, однако оставалось повышенным по сравнению с контрольной группой. Известно, что высокое содержание ТБК-продуктов в сыворотке крови свидетельствует о тяжелой эндогенной интоксикации вследствие токсического действия на организм малонового диальдегида – основного продукта перекисного окисления липидов. Рост ТБК-продуктов в крови свидетельствует об активизации свободно-радикальных процессов, которая связана с дестабилизацией клеточных мембран и уменьшением антиоксидантной защиты клеток. Таким образом, постепенное снижение в сыворотке крови животных второй группы содержания ТБК-продуктов свидетельствует об уменьшении интоксикации организма в результате цитопротекторного действия липосомального препарата Лиолив и восстановления метаболизма гепатоцитов. Это позволяет использовать данный препарат как препарат выбора для защиты клеток печени от повреждения во время проведения химиотерапии онкологическим больным.

Ключевые слова: крысы, ТБК-продукты, малоновый диальдегид, гепатопротекторы, оксалиплатин, лиолив.

UDC 612.354.2-577.125.8: 57.084.1

The Content of TBA Products in the Blood Serum of Rats for Evaluation of the Antioxidant Defense of the Body by the Liposomal Drug Lioliv after the Application of Oxaliplatin

Barder E. G., Dudnichenko A. S.

Abstract. The article considers the question of determining the content of TBA products in the blood serum of rats after the use of the antitumor cytotoxic Oxaliplatin and the liposomal preparation Lioliv at different observation times for assessing the degree of intoxication.

Materials and Methods. The study was performed on white rats (n = 40), females, age 2.5–3 months, body weight 220–250 g. Three experimental groups of rats (10 animals each) were formed, control groups – two groups, 5 rats in each. The rats of the control groups were injected with physiological saline, rats and Oxaliplatin groups, group II – first Lioliv, then Oxaliplatin, group III – Oxaliplatin first, then Lioliv. Administration of Oxaliplatin was performed to rats intraperitoneally at a dose of 2.5 mg/kg, Lioliv – 0.3 ml per rat intravenously, isotonic sodium chloride solution – 0.3 ml intravenously. The administration of the drugs was carried out 5 times every 3 day of the experiment. The duration of the experiment was 21 days.

Results and Discussion. When analyzing the results of biochemical studies on the 15th day of the experiment, it was found out that the content of TBA products increased 2.8 times in comparison with the control group of animals. The content of TBA products (malonic dialdehyde) in the blood serum of the rats of the second group did not increase. In the third group, the content of TBA products was 1.9 times higher than in the control group. On the 21st day of the experiment, the content of TBA products in the blood serum increased 3.2 times in comparison with the control group, in the second group it did not change, in the third group it was doubled in comparison with the control group. Thus, in animals of the first group, the content of TBA products was increased by 15 and 21 days compared to the control group. In the second group of animals, the content of TBA products was the lowest in contrast to other experimental groups, and on the 21st day the index did not differ from the control group. In the third group, on days 15 and 21, the content of TBA products in the blood serum of rats was less than in the first, but remained elevated compared to the control group. It is known that a high content of TBA products in the serum indicates a severe endogenous intoxication due to the toxic effect on the body of malonic dialdehyde, the main product of lipid peroxidation. The growth of TBC products in the blood indicates the activation of free radical processes, which is associated with the destabilization of cell membranes and the reduction of antioxidant protection of cells.

Conclusions. Thus, the gradual decrease of TBA level in the blood serum indicates a decrease in the body's intoxication in the second group as a result of the cytoprotective action of the liposomal drug Lioliv and the restoration of the metabolism of hepatocytes. The study results make using this drug as a drug of choice possible to protect liver cells from damage during chemotherapy by an oncological patient.

Keywords: rats, TBA-products, malonic dialdehyde, hepatoprotectors, Oxaliplatin, Lioliv.

Стаття надійшла 15.12.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування