

- 5 Кричовская А. А., Лукаш А. И., Кесельман Н. А. Изменение перекисного окисления и содержание фосфолипидов в мозге при гипероксии и защитное действие мочевины // Укр биохим журн — 1976 Т. 48, № 3 — С 120-124
- 6 Кухтина Е. Н., Глушенко П. П. Влияние железа, цинка, меди на процессы перекисного окисления липидов печени in vivo // Биохимия - 1996 - Т. 61, № 6 — С 993-997
- 7 Леус Ю. В., Грубнко В. В. Активность антиоксидантной системы карпа при действии тяжелых металлов // Гидробиол журн 1998 - №2 - С 59-63
- 8 Мартынюк В. Б., Ковальчук С. Н., Тымочко М. Ф., Панасюк Е. Н. Индекс ангиокислительной активности биологического материала // Лаб дело — 1991 -- № 3 - С 12-22
- 9 Ойвинн И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол физиология и эксперим терапия -- 1960 - № 4 - С 76-85
- 10 Осипов А. П., Азизова О. А., Владимиров Ю. А. Активные формы кислорода и их роль в организме — Усп биол химии -М: Наука, 1990 — Т. 31 — С. 180-208
- 11 Столяр О. Б., Зиньковська Н. Г., Грубнко В. В. та ін. Вплив йонів міді і цинку на перекисне окислення липидів і антиоксидантний статус в організмі коропа // Біологія тварин 1999 — Т. 1, № 2 - С 84-89
- 12 Столяр О. Б., Зиньковська Н. Г., Мулра А. Є. та ін. Ангіоксидантно-прооксидантний статус організму коропа при дії сублетальної концентрації міді (II) // Наукові записки Тернопільського національного університету Серія Біологія — 2000 — №3 (10) -С 72-78
- 13 Radl A. A. R., Matkovic B. Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues // Comp Biochem Physiol — 1988 — 90C, N 1 — P 69-72

N.H. Zin'kovs'ka

THE STUDY OF ANTIOXIDANT-PROOXIDANT STATUS OF CARP BLOOD UNDER THE INFLUENCE OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF ZINC IONS ON THE ORGANISM

The influence of exposure to 0,1, 2,0 and 5,0 mg zinc ion/l for up 14 days on the antioxidant-prooxidant status of carp blood has been investigated. The results show that the zinc concentration 0,1 mg/l activates the compounds of antioxidant protection systems: catalase, ceruloplasmin, reduced glutathione. The doses 2,0 and 5,0 mg zinc/l doses provokes the increase of peroxidation activity in the blood (the content of malonic dialdehyd, lipid hydroperoxides, glycosidative hemoglobin) and the decrease of antioxidant activity of blood. Thus the dose of 0,1 mg/l is the most propitious for the stimulation of protection systems in the carp blood.

Надійшла 12.04.2001

УДК 676-008.9-085.272.4/355 — 092.9

Л.С. Фіра¹, Б.Р. Бойчук¹, Д.В. Козак¹, О.І. Кривокульський¹, О.Б. Столяр²

¹Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського

46001 Тернопіль, Майдан Воли, 1

²Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка

46027 Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2

ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТИДИЛХОЛІНОВИХ ЛІПОСОМ З ІНКОРПОРОВАНИМ КРЕЗАЦИНОМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ВИКЛИКАНИХ РЕНТГЕНІВСЬКИМИ ПРОМЕНЯМИ, ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ

ліпосоми з інкорпорованим крезацином, фосфоліпиди, середні молекули, ендокенна інтоксикація, перекисне окислення, бициури, нітрит натрію, тетрахлорметан, рентгенівське опромінення

В останні роки в літературі зустрічаються окремі повідомлення про ліпосоми як носії лікарських речовин з метою їх цілеспрямованого транспорту до певного органу [4]. Доцільним є застосування лікарських ліпосом при хворобах, що супроводжуються порушеннями

фосфоліпідної структури мембран. Фосфоліпіди відіграють важливу роль в процесах обміну та дезінтоксикації, росту і регенерації клітин. Ліпосоми як синтетичні замінники фосфоліпідів можуть проявити лікувальний ефект, проникаючи в пошкоджені клітини організму і модифікувати ліпідний шар їх мембран [12].

Відомо, що при Rg-опроміненні та дії на організм ксенобіотиків відбувається деструкція плазматичних та внутрішньоклітинних мембран, як наслідок дії токсичних речовин та утворення активних форм кисню (АФК) [9]. Останні виступають ініціаторами вільнорадикальних реакцій і призводять до утворення ендогенних токсинів [10]. Внаслідок деструкції та зміни проникності мембран велика кількість ендогенних токсинів попадає в кров. Поряд з активацією вільнорадикальних процесів та процесів ліпопероксидації при опроміненні та отруєннях відбуваються зміни в антиоксидантній системі організму [2,3,6]. Тому виникла необхідність використання препарату для зниження перекисного окислення ліпідів та нормалізації антиоксидантної системи.

Останнім часом в літературі з'явилися повідомлення про те, що крезацин-(трис-2-оксиетил)-амоній-о-крезоксацетат здатний активувати анаболічні процеси в гепатоцитах, виявляти антиоксидантний та мембранстабілізуючий ефекти [11].

Метою даної роботи було дослідити можливість корекції за допомогою ліпосом з інкорпорованим крезацином порушень вільнорадикального окислення і системи антиоксидантного захисту у щурів за низькодозового опромінення та гострого ураження тетрахлорметаном і нітридом натрію.

Матеріали і методи досліджень

Дослиди проведені на білих безпородних щурах масою 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. Всіх тварин поділили на 3 групи: І — інтактні, ІІ — одноразово опромінені в дозі 0,5 гр з одночасним одноразовим отруєнням CCl_4 (0,4 мл 50% олійного розчину внутрішньоочеревинно) та $NaNO_2$ в дозі 70 мг/кг внутрішньодушково (за 24 год до еваназії); ІІІ — уражені тварини (аналогічно ІІ груп), які отримували щодня ліпосоми (75 мг ліпідів на кг) з інкорпорованим крезацином (20 мг/кг) внутрішньоочеревинно.

Вшарові ліпосоми отримували методом ультразвукової обробки суспензії ясцюг фосфатидилхоліну і холестерину (мольне співвідношення 9:2) в розчині Хенкса. Інкапсулювання крезацину в ліпосоми проводили як описано в роботі [12].

Евтаназію тварин проводили на 4 та 7 добу після опромінення та введення CCl_4 (за 24 год до еваназії вводили $NaNO_2$). Для досліджень використовували кров, сироватку крові та тканину печінки. Про активність вільнорадикальних реакцій судили за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [1], оксигенну інтоксикацію оцінювали за вмістом середніх молекул (СМ) [4], відсотком ушкодження еритроцитарної мембрани (ЕП) [15]. Характеризуючи стан антиоксидантної системи, визначали активність каталази (КТ) [13], церулоплазміну (ЦП) [17] та вміст відновленого глутатіону (G-SH) [18].

Усі отримані цифрові дані обробляли статистичним методом з використанням критерію Стюдента [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень показали, що одноразове опромінення в поєднанні з отруєнням тварин ксенобіотиками активує процеси вільнорадикального окислення, що проявляється у підвищенні вмісту МДА в сироватці крові (табл. 1) та печінці (табл. 2) в обидва досліджувані строки ($P < 0,05$). Підвищення вмісту МДА протягом 7 днів, очевидно, пов'язане з посиленням утворенням продуктів метаболізму CCl_4 та $NaNO_2$ (CCl_4 та NO) з наступним утворенням АФК під впливом сильної дії рентгенівських променів та вищевказаних токсичних чинників.

Токсичні продукти ліпопероксидації призводять до деструкції клітинних мембран, що зумовлює вихід ендогенних токсинів в кров. Підтвердженням цьому є збільшення вмісту СМ в сироватці крові та печінці дослідних тварин. З літератури відомо, що одним з патогенетичних факторів розвитку ендогенної інтоксикації є нагромадження в біологічних рідинах середньомолекулярних пептидів — проміжних і кінцевих продуктів порушення процесів обміну, деструкції тканин. Вважається що до 80% з них є продуктами порушення білкового

обміну в результаті активації протеїназ в умовах аномального протеолізу при гострих і хронічних захворюваннях [16]

Поряд з підвищенням вмісту СМ в сироватці крові ми відмітили підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації, який вказує на ступінь пошкодження еритроцитарної мембрани під впливом токсичних сполук. Так на 4 та 7 добу дослідження відсоток ушкоджених мембран еритроцитів зріс на 17% в уражених тварин (табл. 1)

Як видно з отриманих даних, однією з первинних реакцій на дію рентгенівських променів в комплексі із ксенобіотиками є розвиток процесів ПОЛ, кінцевими продуктами яких є токсичні речовини. На думку багатьох дослідників [5,8] утворені радіо- та ендегенні токсини впливають на компоненти клітинної мембрани, багаточисельні ферменти та генетичний апарат клітини, сприяють розвитку променевого ураження, а радіочутливість організму і окремих органів визначається вихідним рівнем активних продуктів вільнорадикального окиснення

В організмі людини і тварин є багато механізмів, які підтримують на постійному рівні процеси вільнорадикального окиснення. Велика роль в цих процесах належить антиоксидантам, ферментним системам, таким як глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, каталаза, церулоплазмін, що забезпечують дезактивацію окремих токсичних продуктів

Відомо, що підвищення активності ПОЛ спричиняє надмірне утворення вільнорадикальних продуктів з наступним утворенням АФК та зниженням активності антиоксидантної системи. У зв'язку з цим викликало цікавість порівняння в різних тканинах активності каталази — одного з ферментів антиоксидантної системи. У крові опруєних тварин в 4 рази зросла активність каталази на 4 та 7 добу експерименту. У печінці тих самих шурів активність ферменту також зросла, однак її підвищення не перевищувало норму в 1,5 рази

Таблиця 1

Показники ендегенної інтоксикації, перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові тварин, опруєних тетрахлорметаном, нітритом натрію на фоні низькодозового опромінення та при корекції порушень фосфатиди та тіловими ліпосомами з інкорпорованим крезацином, (M ± m; n = 6)

Група тварин	4 доба						7 доба					
	ІІІ в %	МДХ мкмоль/л	СМ ум. од. /л	ІІІ ІІІ	Ката-лаза, мкат/г білка	SH-групи, ммоль/л	ЕІІ в %	МДА, мкмоль/л	СМ ум. од. /л	ІІІ ІІІ	Ката-лаза мкат/г білка	SH-групи, ммоль/л
Інтактні	65,0 ± 1,4	3,3 ± 0,19	0,17 ± 0,005	0,14 ± 0,005	0,02 ± 0,001	0,74 ± 0,08	65,0 ± 1,4	3,5 ± 0,19	0,17 ± 0,005	0,14 ± 0,005	0,02 ± 0,001	0,74 ± 0,08
Рентген-ССІ, + NaNO ₂ (К)	76,0 ± 0,56*	4,10 ± 0,07*	0,22 ± 0,013*	0,34 ± 0,01*	0,08 ± 0,002*	0,61 ± 0,05	76,0 ± 0,52*	5,10 ± 0,10*	0,26 ± 0,006	0,38 ± 0,006*	0,07 ± 0,001*	0,33 ± 0,04*
Контрольні	77,0 ± 1,2	4,5 ± 0,05	0,22 ± 0,011	0,25 ± 0,011	0,07 ± 0,003	1,0 ± 0,09	77,0 ± 1,1	4,7 ± 0,15	0,20 ± 0,002	0,30 ± 0,005	0,07 ± 0,002	0,87 ± 0,07
Контрольні з крезацином	66,0 ± 0,9	3,4 ± 0,15	0,21 ± 0,012	0,20 ± 0,01	0,05 ± 0,002	0,93 ± 0,07	6,20 ± 0,9	3,4 ± 0,12	0,16 ± 0,003	0,22 ± 0,004	0,13 ± 0,001	0,76 ± 0,05

Примітка К — контрольна група тварин (опруєні та опромінені тварини), * — відмінності між інтактними тваринами та контрольними ** — відмінності між контрольними тваринами та зливаними

Показники ендогенної інтоксикації, перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в печінці тварин, отруєних тетрахлорметаном, нітритом натрію на фоні низькодозового опромінення та при корекції порушень фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином

Групи тварин	4 доба				7 доба			
	МДА, мкмоль/кг	СМ, ум од /кг	Каталаза, мкат/кг	SH-групи, ммоль/кг	МДА, мкмоль/кг	СМ, ум од /кг	Каталаза, мкат/кг	SH-групи, ммоль/кг
Інталетин	2,2 ± 0,18	3,30 ± 0,21	0,11 ± 0,007	3,80 ± 0,21	2,2 ± 0,18	3,30 ± 0,21	0,11 ± 0,007	3,80 ± 0,21
Рентген + CCl ₄ + NaNO ₂ (К)	5,1 ± 0,4*	4,60 ± 0,17*	0,17 ± 0,004	4,10 ± 0,19	2,7 ± 0,06*	4,50 ± 0,19	0,15 ± 0,002	4,40 ± 0,11
К+ліпосоми	5,0 ± 0,2	4,4 ± 0,15	0,16 ± 0,005	3,4 ± 0,15	2,9 ± 0,06	3,8 ± 0,11	0,15 ± 0,005	4,2 ± 0,12
К+ліпосоми з крезацином	4,5 ± 0,3	4,2 ± 0,2	0,14 ± 0,003	3,1 ± 0,12	2,1 ± 0,03	3,3 ± 0,12	0,12 ± 0,003	3,5 ± 0,11

Висока активність каталази є захисною реакцією на посилене утворення пероксиду водню, зростання якого під впливом екзогенних чинників досягає значних величин.

У крові тварин зростала активність ферменту церулоплазми. Причому, на 4 та 7 добу ураження тварин це підвищення було однаковим, майже в 2,5 рази. Ці дані узгоджуються з результатами, наведеними в [2], де показано, що одноразове опромінення в малих дозах викликає компенсаторне підвищення рівня церулоплазми. Додаткове введення нітрису натрію та тетрахлорметану ще більше активізувало захисну здатність організму. Ми вважаємо, що висока активність антиоксидантних ферментів є захисною реакцією на введення в організм іррадіаційних чинників одночасно.

Посилюваний вплив вищевказаних факторів призвів до зменшення вмісту G-SH в плазмі крові, причому на 7 добу воно було дуже значним (більше, ніж у 2 рази). У печінці отруєних тварин G-SH зазнав незначного підвищення, 8% на 4 добу отруєння і 16% на 7 добу. Очевидно, що підвищення вмісту G-SH зв'язане з дестабілізацією мембран гепатоцитів, в першу чергу з порушенням білкових структур мембран, що призводить до окиснювальної модифікації ферментів, звільнення білкових компонентів та підвищення вмісту тиолових груп.

У плазмі крові висока активність токсичних продуктів вільнорадикальних реакцій супроводжує компенсаторне пригнічення активності слугативнової системи, що проявляється у зниженні вмісту відновленої слугатіону.

Отже, під впливом рентгенівських променів відбувається значна активація процесів гіпероксидатії, яка викликає деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран і вихід ендогенних токсинів в кров. Значна кількість токсичних сполук в крові супроводжується змінами в антиоксидантній системі організму (підвищення активності КГ, ЦП та різноспрямовані зміни вмісту G-SH).

Для корекції виявлених порушень ми використали фосфатидилхолінові ліпосоми з інкорпорованим крезацином, який проявляє антиоксидантні властивості.

Враховуючи тропність ліпосом до печінки і той факт, що при токсичному гепатиті страждають фосфоліпідні структури мембран гепатоцитів, ми використали фосфатидилхолінові ліпосоми з метою корекції біомембран за умов посиленої інтоксикації організму NaNO₂ та CCl₄ на фоні рентгенівського опромінення.

Ліпосомаційна терапія призвела до суттєвого пригнічення процесів гіпероксидатії в уражених клітинах печінки (зниження вмісту МДА), зниження вмісту ендогенних токсинів як в крові (табл. 1), так і в печінці (табл. 2) отруєних тварин. Достовірно знизився вміст СМ в досліджуваних тканинах в обидва строки експерименту. Аналогічних змін зазнала система антиоксидантного захисту організму. Під впливом ліпосом з крезацином нормалізувалася

активність КТ, ЦП та вміст G-SH. На 7 добу дослідження вищеперераховані показники практично нормалізувалися

Висновки

На основі вищевказаних фактів можна дійти висновку, що антиоксидантний ефект зумовлений дією крезацину та фосфатидилхолінових ліпосом. Можливо, завдяки наявності в молекулі крезацину трис- (2-оксипетил) — амонієвої групи даний препарат здатний засити вільні радикали і активні форми кисню, блокуючи процеси ліпопероксидації. Можна припустити, що використання фосфатидилхолінових ліпосом як "контейнера" для транспорту трис- (2-оксипетил) амоній ортокрезоксипетату в печінку може бути ефективним методом терапії при гострих отруєннях та радіаційних ураженнях, що здатний нормалізувати активність вільнорадикальних реакцій та анаболічні і катаболічні процеси в гепатоцитах.

ЛІТЕРАТУРА

- 1 Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело -- 1988 — № 11. — С 41-43.
- 2 Барабой В. А., Олійник С. А., Хмелевський Ю. В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр біохім журн. — 1994 — Т. 66. № 4. — С 3-30
- 3 Верхогляд И. Н., Дулзевич Б. А. Активность ферментов антиоксидантной системы и содержание продуктов перекисного окисления липидов в печени и тимусе крыс на ранних этапах лучевого воздействия/ Радиобиол. — 1992. Т. 32, № 3 — С 412-417
- 4 Використання ліпосом у клінічній медицині / М. М. Корда, С. В. Бродів, Я. С. Стравський та ін. // Ліки. — 1997. — № 5. — С 67-72
- 5 Влияние ионизирующего излучения на перекисное окисление липидов в крови крыс / Г. Г. Гацко, Л. М. Мажуль, О. В. Шабалинская и др. // Радиобиол. — 1990. Т. 30, № 3. — С. 1413-1415.
- 6 Григор'єва Н. П., Чремій І. М., Мовчан І. Ф. Окислювальна модифікація білків та активність деяких антиоксидантних ферментів крові щурів за умов опромінення та дії настоячки арники гірської // Мед хімія. — 2000. — Т. 2, № 1. — С 70-77
- 7 Гублер Л. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов — Л. Медицина 1978. — 294 с.
- 8 Динамика показателей перекисного окисления липидов в крови и радиочувствительных органах крыс при тотальном и локальном рентгеновском воздействии / В.А.Барабой, Н.Н.Дзятковская, Т.В.Клименко и др // Радиобиол. — 1990 — Т. 30 - Вып 6 — С 735-739
- 9 Динаміка перекисного окислення ліпідів в органах щурів при опроміненні та антиоксидантний ефект суфтану / І. Чокмач, Н. Горчакова, М. Середенко та ін. // Галицький лікар вісник — 2000 — Т. 7 № 2. — С 85-88
- 10 Канапанкая Н. А., Зырянова Л. Н., Лаврова В. М. Показатели пероксидного окисления липидов в митохондриях печени крыс после введения им некоторых ксенобиотиков и действия радиации в малой дозе // Укр біохім. журн. - 1998. Т. 70, № 6 — С. 113-118
- 11 Корда М. М. Трис-(2-оксипетил)-амоній ортокрезоксипетат інгібує окислювальну модифікацію ліпопротеїнів низької щільності // Эксперим. и клин. фармакол. - 1997. - Т. 60, № 6 — С 37-39
12. Корекція фосфатидилхоліновими ліпосомами з інкорпорованим крезацином метаболічних порушень у печінці при інтоксикації D-галактозаміном / М. М. Корда, С. В. Бродів, Я. І. Гонський та ін. // Ліки. — 1997. — № 3. — С 24-27.
13. Метод определения активности каталазы / М. А. Корошок, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лаб. дело. - 1988 — № 1 — С. 16-19
14. Нагоев Ы. С., Сабрилович М. И. Значения определения средних молекул в плазме крови при инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии / Клин. лаб. диагностика — 2000. — № 1. — С 9-11.
15. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Ринук и др. // Лаб. дело. - 1988. — № 9. — С 22-24
16. Среднемолекулярные пептиды сыворотки крови крыс при остром повреждении печени и введении йодированного масла / И. М. Гуряница, Л. М. Росток, Т. М. Федорович и др // Укр біохім журн. — 1991 - Т. 63, № 2 — С 102-105

17. Гарасов Н. И., Серегин С. П., Волчегорский И. А. О роли определения церулоплазмينا в лабораторной диагностике хронического простатита / Клин. лаб. диагностика — 1998 — № 1 — С. 19-20
18. Ellman G. S. Issue sulfydryl groups// Arch. Biochem. — 1959 - Vol. 82. P. 70-77

L. S. Fira, B. R. Boychuk, D. Vol. Kozak, O. I. Krivokulskiy, O. B. Stolyar

THE USING OF PHOSPHATYDILCHOLINE LIPOSOMES WITH INCORPORATED CRESACIN FOR THE CORRECTION OF DISODERS IN THE ORGANISM OF RATS CAUSED BY X-RAY IRRADIATION, TETRACHLORMETHANE AND SODIUM NITRITE

Combination of X-Ray irradiation with CCl_4 and $NaNO_2$ results in the activation of free radical oxidation processes and development of the endogenic intoxication (increase of the MM and EI content) / The disorders of antioxidant system were also found. Liposomes alone and liposomes with incorporated cresacin were used for the correction of revealed disorders. The treatment by liposomes with included cresacin was normalize researched indexes more effective.

Прийнята 16 04 2001