УДК 615.015:542.978:615.03:616.61:599.323.4

О. В. Машевська, О. О. Пентюк

ПРОТЕКТИВНА ДІЯ ІНГІБІТОРІВ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ, БЕТА-ЛІАЗИ, ФЛАВІНВМІСНОЇ МОНООКСИГЕНАЗИ Й АНТИОКСИДАНТІВ ПРИ УРАЖЕННІ НИРОК ЩУРІВ ЦИСПЛАТИНОМ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

Вступ

Нефротоксична дія притаманна значній частині лікарських засобів. За даними літератури, близько 20–30 % зареєстрованих випадків гострої ниркової недостатності та майже третини випадків хронічної ниркової недостатності є наслідком дії хімічних факторів, у тому числі медикаментозного походження [1; 2]. Зокрема, нефротоксичність є головною перешкодою, яка обмежує широке застосування високодозної хіміотерапії цисплатином в онкологічній практиці. Основним шляхом розв'язання цієї проблеми сьогодні є раціональне використання потенційних нефротоксикантів, а також пошук засобів для зменшення або усунення нефротоксичності.

Метою нашої роботи було оцінити нефропротективну активність антиоксидантів геністеїну, триметазидину та диметилтіосечовини, хелатора іонів заліза — десферіоксаміну, інгібіторів глутатіон-S-трансферази — етакринової кислоти, бета-ліази цистеїнових кон'югатів — амінооксиоцтової кислоти і флавінвмісної монооксигенази — метимазолу й альфа-кетоглутарової кислоти (субстрату переамінування) — на нефротоксичність цисплатину для щурів.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на 95 самцях білих щурів. Цисплатин (7 мг/кг) вводили один раз інтраперитонеально (і/п). На 3-тю добу досліду у сироватці крові визначали вміст сечовини, креатиніну та молекул середньої маси (МСМ), а в сечі — активність гамма-глутамілтрансферази (ГГТФ) і вміст білка уніфікованими методами [3]. Рівень негемового заліза у сироватці крові та нирках визначали бета-фенатроліновим методом [3].

Етакринову кислоту вводили перорально дозою 50 мг/кг за 1 та 2 доби до введення цисплатину. Метимазол вводили щурам і/п двічі (перший раз дозою 40 мг/кг за 0,5 год перед введенням цисплатину, вдруге — дозою 20 мг/кг через 12 год після введення цисплатину). Амінооксиоцтову (оксамову) кислоту вводили у сумарній дозі 30 мг/кг під шкіру на 2 прийоми (по 15 мг/кг) за 1 год перед і через 5 год після введення цисплатину дозою 7 мг/кг. Альфа-кетоглутарат натрію вводили дозою 200 мг/кг інтраперитонеально за 0,5 год перед і 3 год після введення цисплатину. Геністеїн, ізофлавоноїд сої (наданий чл.-кор. ААН України, проф. А. П. Левицьким) вводили перорально дозою 0,5 мг/кг протягом 5 днів перед введенням цисплатину та 2 дні після введення препарату. Триметазидин вводили перорально дозою 10 мг/кг у вигляді водної суспензії протягом 5 днів перед введенням цисплатину та ще 2 дні після введення. Диметилтіосечовину щури отримували внутрішньоочеревинно тричі — перший раз дозою 500 мг/кг за 1 год перед введенням цисплатину, а потім дозою 125 мг/кг через 12 та 24 год після введення цисплатину. Десферіоксамін (десферал) вводили внутрішньоочеревинно дозою 100 мг/кг за 1 год перед введенням цисплатину.

Результати дослідження та їх обговорення

Дані таблиці свідчать, що цисплатин спричинював значні порушення функціонального стану нирок, що проявлялося підвищенням рівнів сечовини, креатиніну та МСМ у сироватці крові у 5; 3 та 2 рази відповідно. Водночас вірогідно зростала екскреція з сечею маркерів ушкодження тубулярного апарату нирок — ГГТФ і білка — відповідно у 5 та 4 рази. Введення етакринової кислоти помірно зменшувало токсичну дію цисплатину: вміст сечовини, креатиніну та МСМ підвищувався лише в 4; 3 та 2 рази, відповідно, а екскреція ГГТФ і білка — у 4 та 3 рази. Дещо більшою була захисна дія метимазолу. На фоні його введення рівні сечовини, креатиніну та МСМ перевищували такі в контролі у 4; 2 та 1,9 разу, а екскреція ГГТФ і білка — втричі. Найпомітнішу проективну дію виявила амінооксиоцтова кислота — після введення її щурам цисплатин підвищував вміст сечовини, креатиніну та МСМ лише у 2; 1,6 та 1,7 разу відповідно, а екскреція із сечею ГГТФ і білка зростала в 1,7 та 1,8 ра-

Таблиця

Вплив модуляторів ксенобіотик-метаболізуючих ферментів, антиоксидантів і десферіоксаміну на нефротоксичну дію цисплатину, M±m, n=9–10

Група тварин	Сироватка крові			Сеча	
	Сечовина, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	МСМ, од. опт. щіл.	ГГТФ/креатинін	Білок, мг за добу
Контроль	4,67±0,35	110,0±7,3	0,14±0,01	2,54±0,22	5,37±0,35
Цисплатин	27,50±1,68*	358,0±20,5*	0,44±0,03*	13,10±0,88*	23,30±1,65*
Цисплатин +:					
етакринова кислота	21,70±1,53*	282,0±16,6*	0,34±0,02*	8,58±0,65*	17,30±1,42*
метимазол	17,00±1,11*	223,0±17,2*	0,27±0,02*	5,87±0,41*	12,80±1,06*
амінооксіоцтова кислота	13,40±1,00*	193,0±13,4*	0,23±0,02*	4,63±0,34*	9,40±0,81*
альфа-кетоглутарат натрію	32,60±1,57*	418,0±14,4*	0,52±0,02*	15,80±0,74*	27,90±1,33*
триметазидин	13,40±1,00*	255,0±18,7*	0,32±0,02*	5,54±0,58*	11,30±1,07*
геністеїн	22,30±1,51*	319,0±19,5*	0,39±0,02*	7,28±0,50*	14,90±1,05*
диметилтіосечовина	13,10±0,96*	203,0±12,6*	0,25±0,02*	4,02±0,32*	8,62±0,56*
десферіоксамін	12,70±1,12*	205,0±11,8*	0,26±0,02*	4,09±0,37*	8,47±0,67*

Примітка. * — вірогідні відмінності щодо контролю.

зу. Застосування альфа-кетоглутарату натрію, навпаки, посилювало нефротоксичну дію цисплатину: вміст сечовини, креатиніну та МСМ збільшувався в 6; 4 та 4,2 разу, а екскреція ГГТФ і білка — у 6 і 5 разів відповідно.

Застосовані нами антиоксиданти також виявляли помітну захисну дію за умов цисплатинового ушкодження нирок. Найменш ефективним виявився геністеїн, дещо більша захисна дія була притаманна триметазидину — рівні сечовини, креатиніну та МСМ перевищували такі в контролі відповідно на 187; 132 та 129 %, а екскреція ГГТФ і білка — на 118 і 110 %. Найбільше протидіяли токсичним ефектам цисплатину диметилтіосечовина та десферіоксамін. У тварин, що отримували диметилтіосечовину, вміст сечовини, креатиніну та МСМ після введення цисплатину перевищував такий у контролі лише на 181; 84,5 та 78,6 %, а екскреція ГГТФ і білка — на 58,3 та 60,5 %. У щурів, яким вводили десферіоксамін, вміст сечовини, креатиніну та МСМ був вищим від контролю на 172; 86,4 та 85,7 %, а екскреція ГГТФ і білка — на 61,0 та 57,5 % відповідно.

Протективна дія модуляторів метаболізуючих ферментів пояснюється особливостями біотрансформації цисплатину, який неферментативно і за участі глутатіон-S-трансфераз активно кон'югується з глутатіоном [4]. Однак подальший метаболізм глутатіонових кон'югатів супроводжується появою нефротоксичних метаболітів (ще не ідентифікованих) і розвитком тубулярних уражень [5]. Можна припустити, що в реакціях метаболічної активації глутатіонових кон'югатів у нирках беруть участь ферменти метаболізму меркаптурових кислот і, зокрема, флавінвмісна моноксигеназа та бета-ліаза цистеїнових кон'югатів, а можливо, і ферменти переамінування. Ця гіпотеза підтверджується тим, що введення щурам етакринової кислоти чи метимазолу, а особливо амінооксиоцтової кислоти, приводить до зменшення нефротоксичності цисплатину. З другого боку, застосування альфа-кетоглутарової кислоти (активатор амінотрансфераз і бета-ліази) спричинює підвищення токсичності цисплатину, адже глутамінтрансаміназа К й аспартамінотрансфераза, як і бета-ліаза, здатні розщеплювати цистеїнові кон'югати ксенобіотиків до токсичних інтермедіатів [4; 6].

Здатність триметазидину, геністеїну, диметилтіосечовини та десферіоксаміну послаблювати нефротоксичну дію підтверджує думку про провідну роль оксидативного стресу в патогенезі ушкоджень нирок цисплатином. Дія триметазидину, очевидно, реалізується за рахунок наявності у нього антиоксидантних властивостей і здатності посилювати синтез АТФ [7], ізофлавоноїд геністеїн має значну антиоксидантну дію [8], а диметилтіосечовина є перехоплювачем гідроксильних радикалів [9].

Висока протективна активність десферіоксаміну свідчить про те, що вивільнення каталітично активних іонів заліза є важливою ланкою патогенезу індукованого цисплатином оксидативного стресу в нирках. Відомо, що саме вільне, каталітично активне залізо, а не залізо у складі гему чи білкових комплексів, є джерелом активних форм кисню та головним каталізатором пероксидації ліпідів [9].

Нами отримані докази, що нефротоксична дія цисплатину реалізується на фоні значного зростання концентрації негемового заліза, а захисна дія десферіоксаміну реалізується через зв'язування іонів заліза. Зокрема, у сироватці крові рівень негемового заліза зростав у 2,4 разу (до (64,20±2,66) мкмоль/л при

(26,90±1,80) мкмоль/л у контролі), а в нирках — у 2,2 разу (до (1,76±0,10) мкмоль/л при (0,79± ±0,05) мкмоль/г у контролі). У тварин, що отримували десферіоксамін, рівень негемового заліза наближався до контрольних значень і становив, зокрема у сироватці крові, (38,10± ±2,38) мкмоль/л, а в нирках — (1,02±0,05) мкмоль/г.

Таким чином, отримані чіткі докази, що у патогенезі цисплатинової нефропатії провідну роль відіграє утворення в нирках токсичних метаболітів та ініціювання оксидативного стресу. Цілеспрямований вплив на ці процеси може бути перспективним шляхом подолання несприятливої дії цисплатину на нирки і в клінічних умовах. Найбільшу протективну дію мають амінооксиоцтова кислота, диметилтіосечовина та десферіоксамін.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Куценко С. А.* Основы токсикологии. Глава 7.7. Нефротоксичность / С. А. Куценко // Российский биомедицинский журнал. — 2003. — Т. 4. — 119 с.

2. *Zhang L.* Acute renal failure in chronic kidney disease — clinical and pathological analysis of 104 cases / L. Zhang, M. Wang, H. Wang // Clin. Nephrol. — 2005. — Vol. 6, N 5. — P. 346-350.

3. *Лабораторные* методы исследования в клинике : справочник / под ред. В. В. Меньшикова. — М. : Медицина, 1987. — 368 с.

4. *Anders M. W.* Chemical toxicology of reactive intermediates formed by the glutathione-dependent bioactivation of halogen-containing compounds / M. W. Anders // Chem. Res. Toxicol. — 2008. — Vol. 21, N 1. — P. 145-159.

5. *Townsend D. M.* Metabolism of Cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells / D. M. Townsend // J. Am. Soc. Nephrol. — 2003. — Vol. 14, N 1. — P. 1-10.

6. *Cooper A. J.* Substrate specificity of human glutamine transaminase K as an aminotransferase and as a cysteine S-conjugate beta-lyase / A. J. Cooper // Arch. Biochem. Biophys. — 2008. — Vol. 474, N 1. — P. 72-81.

7. *The antianginal* drug trimetazidine shifts cardiac energy methabolism from fatty acid oxydation to glucose oxydation by inhibiting mitochondrial Long Chain 3-Ketoacyl-Coenzym A Thiolase / P. E. Kantor, A. Lucien, R. Kozak, G. D. Lopashuk // Circ. Res. — 2000. — Vol. 86. — P. 580-588.

8. *Левицкий А. П.* Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине) / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. И. Сукманский. — Одесса : Ин-т стоматологии АМН Украины, 2002. — 96 с.

9. *Zager R. A.* Effects of inorganic iron and myoglobin on in vitro proximal tubular lipid peroxidation and cytotoxicity / R. A. Zager, C. A. Foerder // J. Clin. Invest. — 1992. — Vol. 89, N 3. — P. 989-995.

УДК 615.21:616:831-005.4

Е. В. Супрун

ОСОБЛИВОСТІ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА МОДЕЛІ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Національний фармацевтичний університет, Харків

Велика кількість хімічних продуктів, які широко застосовуються в різних сферах діяльності людини, здатна викликати метгемоглобінемію. До них належать важкі метали, поліхлоровані діоксинами та дибензофуранами, нітрати і нітрити [1]. Значна кількість цих хімікатів може досягти водоносних горизонтів, змінити якість води і стати причиною погіршення стану здоров'я людей і розвитку отруєнь. Це можливо внаслідок різних причин — екстремальних (катастрофи, ліквідація речовин військового призначення, пожежа, аварія хімічна або при транспортуванні), залежних від діяльності людини (порушення правил зберігання, технології використання чи вимог техніки безпеки), природних (зливи) тощо [2; 3]. При цьому розвиваються токсичні метгемоглобінемії (ТМ), основним проявом яких є надмірне нагромадження в еритроцитах крові метгемоглобіну (MtHb) під впливом зазначених метгемоглобіноутворювачів [3].

Так, описані екозалежні ТМ при використанні питної води в результаті надходження нітратів і нітритів через дефект водогінних систем бойлерів [4]. Деякі автори відзначають зв'язок можливих отруєнь з інтенсивною хімізацією народного господарства та недостатньою ефективністю методів очищення питної води, що зумовлює зростаючий ризик забруднення нітратами та нітритами овочів, інших продуктів харчування, питної води [3; 5]. При цьому кулінарна обробка продуктів майже не впливає на рівень нітратів і нітритів у них.

Групою ризику щодо розвитку нітратно-нітритних ТМ є діти. Так, нітрати можуть негативно впливати на перебіг вагітності, стан плода і новонародженої дитини. Вивчається роль у розвитку таких інтоксикацій екскреції нітратів із материнським молоком та їх трансплацентарного переносу. У новонароджених і дітей перших трьох місяців життя в еритроцитах міститься феталь-