

(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, ди-

метилтіосечовина 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 metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial Long Chain 3-Ketoacyl-Coenzyme 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 нітриди [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-



ний гемоглобін, залізо якого легко окиснюється до тривалентного, при цьому активність відновлювальних ферментів (MtHb-редуктази, глутатіон-редуктази та ін.) низька [1; 6].

Значна частина хімічних сполук має властивості токсичної трансформації — отруйна дія їх метаболітів може перевищувати токсичність вихідних речовин у десятки і сотні разів. Значно поширені отруєння MtHb-утворювачами у побуті при випадковому вживанні або із суїцидальною метою пестицидів, лікарських препаратів, що мають властивості окисників, та інших ксенобіотиків-окиснювачів [2; 3; 7]. Метгемоглобінемію можуть викликати фенацетин, сульфаніламід, нітрити та сульфони [6; 8]. Формування ТМ при цьому супроводжується підвищенням у крові рівня MtHb, продуктів вільнорадикального окиснення (ВРО), гіперглікемією, коагулопатіями та розвитком токсичного нефриту [8]. Ускладненнями ТМ при вираженому гемолізі можуть бути шлункові та кишкові кровотечі, ниркова недостатність. Можливий розвиток компенсованого еритроцитозу з підвищенням в'язкості крові та формуванням інфарктів серця, легень, нирок, селезінки [1; 2; 7].

Лікування гострих отруєнь MtHb-утворювачами з середини минулого століття суттєво не змінилося. Воно спрямоване на активацію функціональних і потенційних редуктазних систем пентозо-фосфатного циклу метиленовим синім [1; 2; 9]. В останні роки його застосування значно обмежено у зв'язку з небезпекою ускладнень: появою задишки, болів у ділянці серця, зростанням метгемоглобінемії в осіб з ензимопатіями, дизуричними розладами, розвитком гіпертермії, лейкоцитозу, флебитів. Запровадження альтернативних препаратів — тіоніну та толуїдинового синього — супроводжується значним ризиком розвитку тих же побічних явищ, що і за метиленового синього [3]. Використання прямих відновників MtHb (аскорбінова кислота, глутатіон, піридоксин) також є проблематичним через можливість ускладнення [1; 9].

Дослідження останніх років показують, що основні прояви ТМ — токсичні ефекти, гіпоксія, ниркові порушення — потребують комплексної корекції, у тому числі балансу про- і протизапальних цитокінів. Так, розвиток при ТМ гіпоксії з масивним внутрішньоклітинним надходженням іонів кальцію стимулює активацію фосфоліпаз і протеїназ. При цьому підвищується продукція прозапального інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), який індукує і підтримує запальну реакцію в осередку гіпоксії. У відповідь на експресію ІЛ-1 продукується антагоніст рецепторів ІЛ-1 (АРІЛ-1), який характеризується високим афінитетом до рецепторів ІЛ-1, при взаємодії з якими не виявляє біологічної активності ІЛ-1 [10]. Раніше нами була вивчена антигіпоксична активність АРІЛ-1 на моделі гемічної та гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією у мишей [11].

Метою даної роботи стало вивчення показників антигіпоксичного захисту міокарда в умо-

вах експериментальної метгемоглобінемії та вплив АРІЛ-1 на динаміку цих патологічних змін. Препаратом порівняння обрано тіотріазолін — відомий кардіопротектор метаболічної дії, який широко застосовується при лікуванні різних захворювань у кардіології, неврології та клініці внутрішніх хвороб.

Матеріали та методи дослідження

Антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 отримано в Санкт-Петербурзькому НДІ особливо чистих біопрепаратів шляхом генної трансформації бактерій *E. coli*. Гемічну гіпоксію моделювали підшкірним введенням білим нелінійним щурам масою 160–210 г розчину нітриту натрію дозою 50 мг/кг одноразово [12]. Досліди виконані на 42 тваринах, розділених на 6 груп: 1-ша група — інтактні тварини, 2-га — контрольна патологія (тварини з гемічною гіпоксією, які не отримували лікування). Тваринам 3, 4 і 5-ї груп вводили АРІЛ внутрішньом'язово дозами 1, 5 і 10 мг/кг у лікувально-профілактичному режимі (один раз за 40 хв до введення нітриту натрію та через 30 хв після цього). Препарат порівняння тіотріазолін вводили тваринам 6-ї групи у тому ж режимі в терапевтичній дозі 50 мг/кг.

Функціональний стан міокарда оцінювали за даними показників електрокардіографії (ЕКГ), які фіксували на 90-й хвилині після моделювання гемічної гіпоксії у II стандартному відведенні, вираженість метаболічних і дистрофічних змін серцевого м'яза — за показником масового коефіцієнта серця (МКС), активністю ферменту аспартатамінотрансферази (АсАТ) та вмісту глікогену в міокарді. Стан інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) й антиоксидантної системи (АОС) серця оцінювали за результатами визначення вмісту в гомогенаті серця ТБК-регентів (ТБК-р), дієнових кон'югатів (ДК) і рівня відновленого глутатіону (ВГ).

Отримані дані були проаналізовані варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Стьюдента (*t*).

Результати дослідження та їх обговорення

У процесі взаємодії нітритів із гемоглобіном (Hb) виділяються активні форми кисню: супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet-}$), перекис водню (H_2O_2), нітратні (NO_3^-) і нітритні (NO_2^-) іони, NO і NO_2 , а також проміжні продукти окиснення гемоглобіну [13].

В організмі у процесі біотрансформації більшості ксенобіотиків-окисників утворюється активний радикал оксид азоту (NO). Разом із метгемоглобінемією утворення NO викликає цитотоксичні ефекти, ушкодження клітинних структур, інтенсивний апоптоз, порушення процесів регуляції гемодинаміки і нейроклітинної сигналізації, які проявляються порушенням функцій серця та інших органів [7].

Механізмів дії нітриту кілька, має значення як нітрит-індуковане окиснення Hb (головним чи-



ном виявляє токсичність нітриту), так і шляхи метаболізму нітриту в організмі, пов'язані з метаболізмом NO, NO₂ та NO₃ [14]. Провідною ланкою токсичності нітриту є його пероксидне окиснення, яке каталізується MtHb з пероксидом водню без проміжного виходу останнього в навколишнє середовище. При цьому сам окисник відновлюється до нітриту або окиснюється до нітрату. В еритроцитах постійно присутні Hb і перекис, які продукують комплекси HbOOH. Вони окиснюють нітрит до NO₂•, який є прямим окисником Hb з утворенням метгемоглобін-перекисного комплексу, а NO₂• відновлюється до нітриту [15–17].

Доведено, що NO легко витісняє кисень з оксигемоглобіну й утворює Hb-NO-комплекси, які

здатні незалежно від джерела утворення NO переносити його на значні відстані. Комплекси Hb-NO беруть участь у регуляції Ca²⁺-мобілізуючої системи та захисту клітин від загибелі в умовах надмірного навантаження, пов'язаного з посиленим споживанням кисню, і при гіпоксичних змінах, наприклад, при ішемії міокарда. У процесі розпаду Hb-NO-комплексів Hb окиснюється в MtHb. Нагромадження Hb-NO-комплексів сприяє прогресуванню гіпоксії, тому що Hb-NO та MtHb не здатні переносити кисень [18; 19].

Навіть незначний вміст MtHb у крові (до 10 %) призводить до функціональних змін в органах і системах організму. Введення в експерименті нітриту натрію призвело до розвитку метгемоглобінемії, яка у тварин групи контрольної патології проявилася різким підвищенням функціональної активності міокарда — розвитком тахікардії (вірогідне збільшення частоти серцевих скорочень (ЧСС) на 64 %; рис. 1). У результаті такого надмірного навантаження кардіоміоцитів на 90-й хвилині гемічної гіпоксії розвинулися дистрофічні зміни міокарда шлуночків, що підтверджується зниженням на 21 % тривалості шлуночкового комплексу QT, збільшенням систолічного показника (СП) і зменшенням на 33 % амплітуди зубця R (рис. 2, 3). Відзначено невідповідність між використанням кисню і потребою в ньому у тварин з контрольною патологією, на що вказує вірогідне зміщення ST від ізолінії. При цьому функціональне перенапруження кардіоміоцитів зумовлює підвищення потреби у забезпеченні енергією та поживними речовинами, вміст глікогену в міокарді тварин із гемічною гіпоксією знижується щодо інтактної групи на 17 % (рис. 4).

В умовах метгемоглобінемії активність процесів окиснювального фосфорилування є недостатньою, мобілізується анаеробний шлях утворення АТФ, однак вираженість гіпоксії міокарда зростає. Розвивається запальна реакція з появою набряку і цитотоксичними змінами кардіальної строми, компенсаторною гіпертрофією

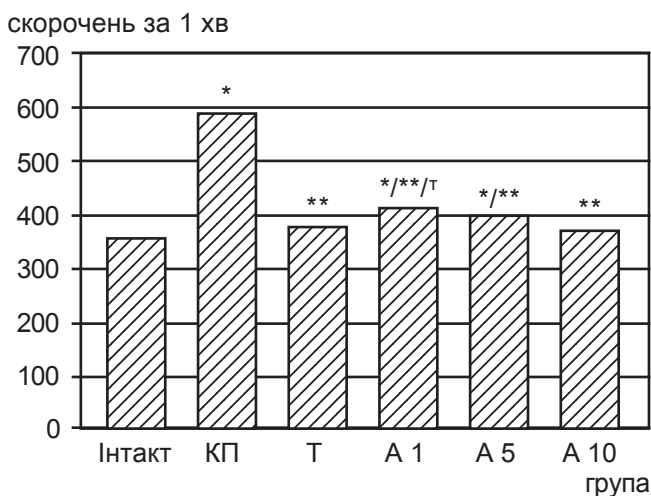


Рис. 1. Частота серцевих скорочень у щурів із гемічною гіпоксією. На рис. 1–8: інтакт — група інтактних тварин; КП — група контрольної патології; Т — група тіотріазоліну; А 1, 5, 10 — групи АРІЛ у дозах 1, 5, 10 мг/кг; * — відхилення вірогідні відносно інтактних тварин; ** — відхилення вірогідні відносно КП; Т — відхилення вірогідні відносно групи тіотріазоліну

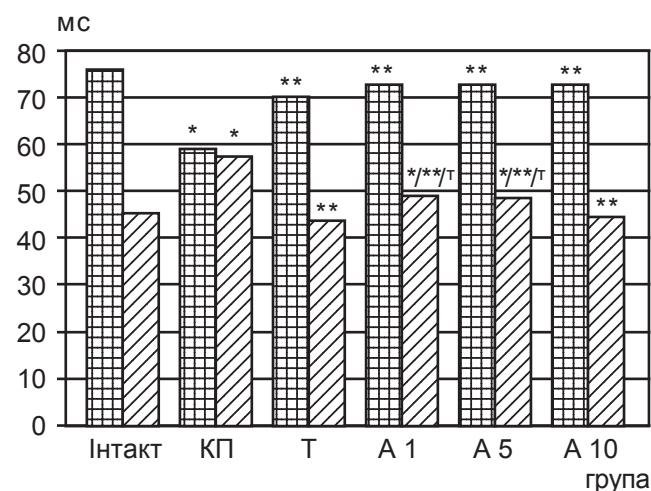


Рис. 2. Тривалість інтервалу QT і значення систолічного показника (СП) у щурів із гемічною гіпоксією: ■ — QT; □ — СП

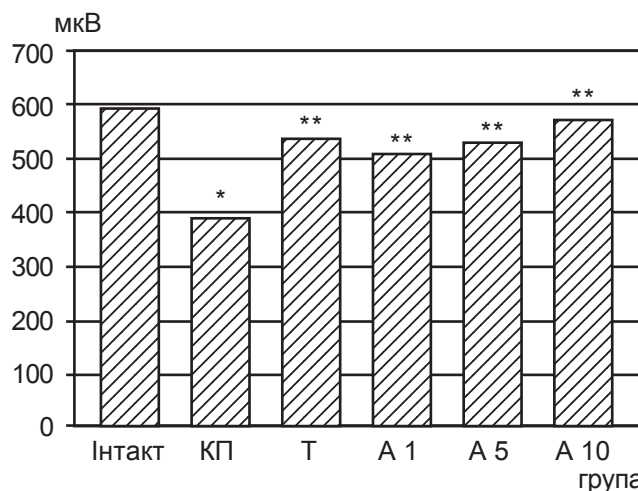


Рис. 3. Амплітуда зубця R у щурів із гемічною гіпоксією



кардіоміоцитів, про що свідчить вірогідне підвищення показника МКС і АсАТ у групі контрольної патології (рис. 5, 6).

Паралельно зі змінами функціональної активності міокарда розвиток експериментальної метгемоглобінемії супроводжується некомпенсованою активацією ПОЛ (підвищення вмісту в гомогенаті серця ТБК-р на 87 % і ДК на 235 %) і виснаженням антиоксидантів (зниження рівня ВГ на 53 %). У цілому досліджені біохімічні й електрокардіографічні показники свідчать про розвиток в умовах експериментальної гемічної гіпоксії виразних кардіоцитотоксичних змін на фоні підвищення функціональної активності міокарда (рис. 7, 8).

При вивченні даних ЕКГ тварин, які одержували досліджувані препарати, у першу чергу звертає на себе увагу нормалізація ЧСС і СП — практично до рівня інтактних тварин на фоні введення тіотріазоліну і АРІЛ дозою 10 мг/кг. Застосування доз АРІЛ 1 та 5 мг/кг вірогідно знизило ЧСС щодо групи контролю (на 30 і 32 % відповідно), але вона була вищою показників ін-

тактної групи. В умовах експериментальної гіпоксії нормалізація ЧСС на фоні введення досліджуваних препаратів запобігає функціональному перенапруженню кардіоміоцитів, дозволяє стабілізувати процеси енергозабезпечення і рівень глікогену, що особливо виражено у групі АРІЛ 10 мг/кг.

Про стабілізацію електрофізіологічних процесів у серцевому м'язі у тварин, що отримували АРІЛ і тіотріазолін, свідчить нормалізація періоду розповсюдження електричного імпульсу в міокарді шлуночків. Вірогідне збільшення величини інтервалу QT відносно контрольної групи відзначено в усіх експериментальних групах практично рівнозначно — при введенні АРІЛ на 22–23 %, тіотріазоліну — на 18 %. Відновилися показники потенціалу скорочуваності шлуночків — амплітуда зубця R збільшилася відносно контрольної патології при введенні АРІЛ (на 31–44 %) і тіотріазоліну (на 40 %). Відзначена нормалізація процесів реполяризації шлуночків і зменшення виразності процесів гіпоксії в міокарді, які проявилися поверненням сегмента ST на ізоелектричну лінію в усіх експериментальних групах. Також відзначено зменшення вираженості цитотоксичних змін кардіоміоцитів і запальної набряклості строми міокарда. На фоні введення АРІЛ (дозами 5, 10 мг/кг) і тіотріазоліну показники МКС практично зрівнялися з такими у інтактних тварин, рівень АсАТ вірогідно знизився стосовно контролю на 25–41 %.

Застосування досліджуваних препаратів загальмувало надмірну активність процесів СРО та ліпоперекисної деструкції, що підтверджується зниженням щодо контрольної патології показників ТБК-р і ДК у гомогенаті серця під дією АРІЛ, особливо у дозах 5 і 10 мг/кг (ТБК — на 36–44 %, ДК — на 45–48 %), і тіотріазоліну (відповідно на 35 і 59 %). Паралельно спостерігалась активація АОС — вірогідно підвищилися рівні ВГ у гомогенаті серця на фоні прийому АРІЛ у дозах 5 і 10 мг/кг (на 62–85 %) і тіотріазоліну (на 71 %).

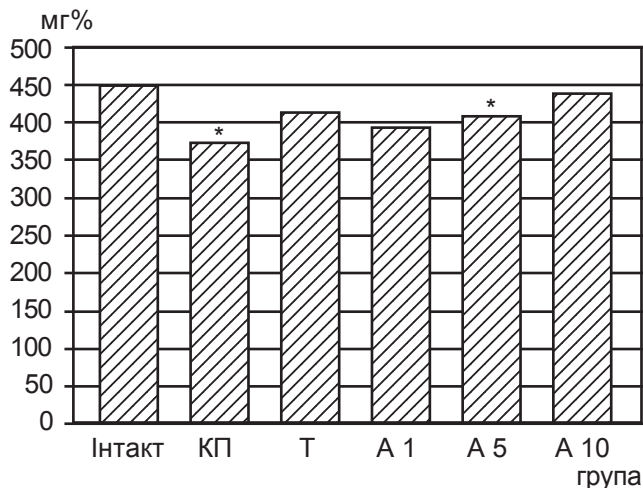


Рис. 4. Вміст глікогену в міокарді щурів із гемічною гіпоксією

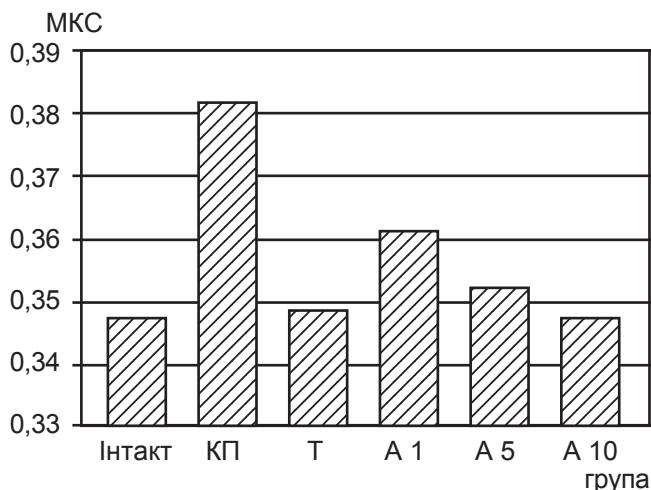


Рис. 5. Масовий коефіцієнт серця щурів із гемічною гіпоксією

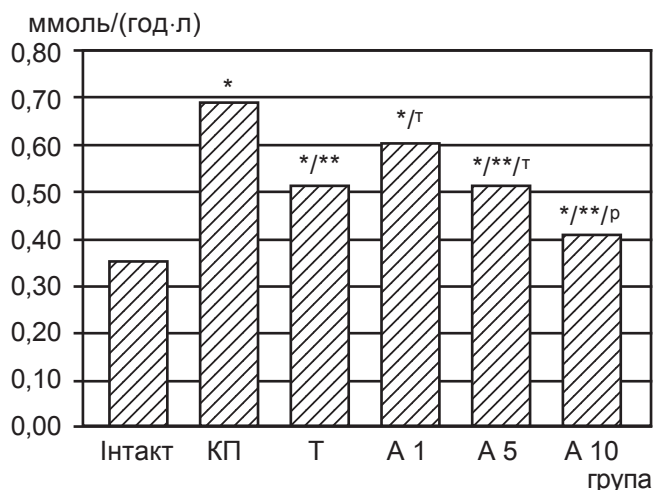


Рис. 6. Показники АсАТ у міокарді щурів із гемічною гіпоксією



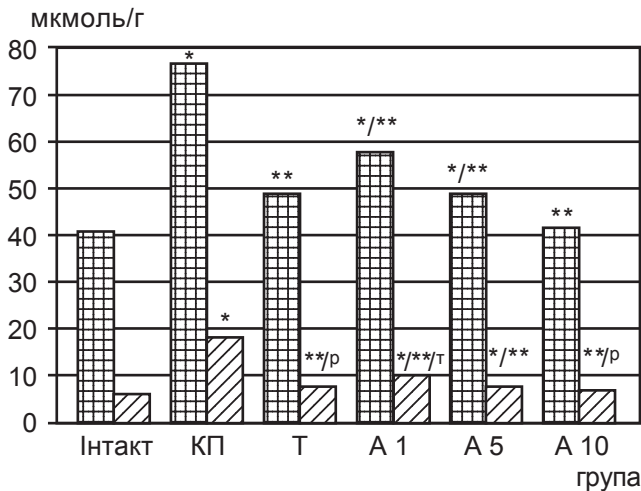


Рис. 7. Рівні ТБК-р і дієвих кон'югатів у міокарді щурів із гемічною гіпоксією: ▨ — ТБК-р; ▩ — ДК

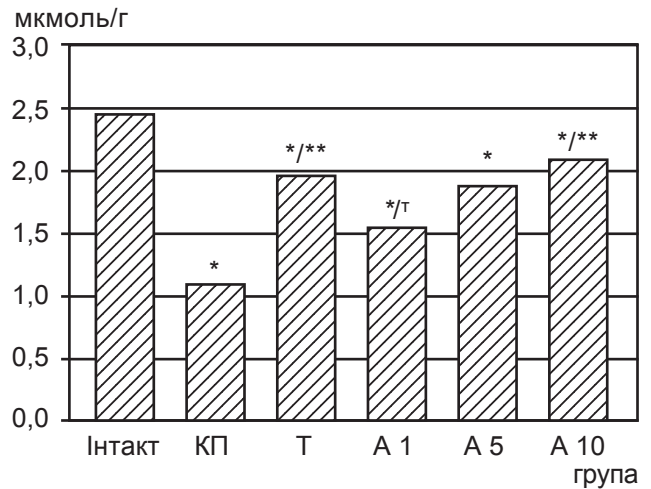


Рис. 8. Рівні відновленого глутатіону у міокарді щурів із гемічною гіпоксією

Результати проведених досліджень підтверджують наявність в АРІЛ у дозах 1–10 мг/кг кардіопротекторного ефекту, а саме активацію антигіпоксичного захисту міокарда в умовах експериментальної нітритної гемічної гіпоксії. Доведено відновлення функціональної активності кардіоміоцитів (за показниками ЕКГ), зниження виразності цитотоксичних і запальних процесів, оптимізацію енергозабезпечення (за даними АсАТ, МКС, глікогену), нормалізацію АОС і ПОЛ (за рівнями ВГ, ДК і ТБК-р). Отримані дані дозволяють зробити висновок про необхідність вивчення ефективності застосування АРІЛ для профілактики і лікування деяких захворювань внутрішніх органів, пусковою ланкою яких є гіпоксичні порушення.

ЛІТЕРАТУРА

- Price D. Methemoglobinemia / D. Price // Joldfrank's Toxicologi Emergencies. — 5 th ed. — 1994. — P. 1669-1680.
- Василенко Н. М. Действие ксенобиотиков на систему крови. Общая токсикология / Н. М. Василенко ; под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филатова. — М. : Медицина, 2002. — С. 258-289.
- Мембрано-токсичні властивості метгемоглобінотворюючих отрут / В. В. Храпак, З. П. Омеляненко, І. Л. Сопіна [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. — 2003. — № 4. — С. 28-34.
- Shin R. D. The boiler room blues: two separate epidemics of methemoglobinemia due to contamination of potable water from bilier additives / R. D. Shin, S. M. Marcus, C. A. Jenese // J. Toxicol. Clin. Toxicol. — 1995. — N 3. — P. 507-508.
- Острое групповое отравление гербицидом диканит-600 на основе 2,4-дихлоруксусной кислоты и меры профилактики / Г. М. Балан, С. Г. Сергеев, Т. В. Мырненко [и др.] // Современные проблемы токсикологии. — 2003. — № 4. — С. 52-58.
- Панигев К. В. Отравления метгемоглобинообразователями у детей / К. В. Панигев, В. Г. Середняк, М. В. Коржан // Анестезиология и реаниматология. — 2000. — № 1. — С. 56-59.
- David C. L. Methemoglobinemia / C. L. David // Crit. Care Med. — 2000. — Vol. 4 (28). — P. 958-996.

- Dunn R. J. Massive sulfasalazine and paracetamol ingestion causing acidosis, hyperglycemia, coagulopathy and methemoglobinemia / R. J. Dunn // J. Toxicol. Clin. Toxicol. — 1998. — Vol. 36, N 3. — P. 239-242.

- Wright R. O. Methemoglobinemia: Ethiology, Pharmacology and Clinical Management / R. O. Wright, W. I. Lewander, A. D. Wolf // Ann. Emerg. Med. — 1999. — Vol. 5 (34). — P. 646-656.

- Симбирцев А. С. Цитокины : классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 16-22.

- Супрун Е. В. Дослідження антигіпоксичної дії АРІЛ-1 / Е. В. Супрун // Экспериментальная и клиническая медицина. — 2008. — № 2. — С. 56-58.

- Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К. : Авіценна, 2001. — 528 с.

- Шугалей И. В. Окисление гемоглобина нитритом натрия и методы защиты белка от окислительного повреждения / И. В. Шугалей, И. В. Целинский // Журнал общей химии. — 1995. — Т. 65, № 11. — С. 1889-1892.

- Титов В. Ю. Предполагаемый механизм развития нитрит-индуцированной метгемоглобинемии / В. Ю. Титов, Ю. М. Петренко // Биохимия. — 2005. — Т. 70, № 4. — С. 575-587.

- Проданчук Г. Н. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации / Г. Н. Проданчук, Г. М. Балан // Современные проблемы токсикологии. — 2007. — № 1. — С. 37-45.

- Comparizon of methylene blue, riboflavin and N-acetylcysteine for the reduction of nitric oxide-induced methemoglobinemia / I. M. Dotsch, S. M. Demiraksa, M. M. Kratz, R. M. Repp // Crit. Care Med. — 2000. — Vol. 28 (4). — P. 958-961.

- Булаева Н. И. Биохимические и структурно-функциональные изменения эритроцитов при остром отравлении нитритами и их коррекция перфтораном : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н. И. Булаева. — М., 2005. — 36 с.

- Викторов И. В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга / И. В. Викторов // Вестник Российской АМН. — 2000. — № 4. — С. 5-11.

- Реутов В. П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В. П. Реутов // Там же. — С. 35-41.

