

самцями щурів після опромінення призводить до інгібування транспорту глюкози в тонку кишку їх нащадків та інтактних самиць на 43 % порівняно з інтактною групою та водночас до його стабілізації. Одноразове вживання мелених плодів розторопші самцями щурів після опромінення та щоденне вживання їх самицями протягом лактації призводить до стимуляції глюкозної транспортної системи у їх нащадків утричі, майже не змінюючи стабільності її роботи. Показники транспорту глюкози у нащадків є стабільними в різних групах тварин у різних експериментах.

2. Фітопрепарати на основі розторопші (як водо-, так і жиророзчинні) не змінюють рівня транспорту глюкози в тонку кишку нащадків самців щурів, що вжили плоди розторопші одразу після опромінення, натомість спричинюють його дестабілізацію. На відміну від них сумарні екстракти розто-

ропші та (особливо) календули вірогідно гальмують транспорт глюкози в тонку кишку нащадків до нижньої межі активної компоненти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Huseini H. F. The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial / H. F. Huseini, B. Larijani, R. Heshmat [et al.] // *Phytotherapy Results*. – 2006. – Vol. 20, N 12. – P. 1036–1039.

2. Tamayo C. Review of clinical trials evaluating safety and efficacy of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn.) / C. Tamayo, S. Diamond // *Integrative Cancer Therapies*. – 2007. – N 6. – P. 146–157.

3. Effect of silymarin on kidneys of rats suffering from alloxan-induced diabetes mellitus / C. Soto, J. Pérez, V. García [et al.] // *Phytomedicine*. – 2010. – Vol. 17., N 14. – P. 1090–1094.

4. *Silymarin* and milk thistle extract may prevent the progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats / G. Vessal, M. Akmal, P. Najafi [et al.] // *Ren Fail*. – 2010. – N 32 (6). – P. 733–739.

5. Сторчило О. В. Дослідження радіопротекторної дії плодів розторопші плямистої на транспорт глюкози в тонкій кишці нащадків опромі-

нених щурів / О. В. Сторчило // *Досягнення біології та медицини*. – 2008. – № 2 (12). – С. 33–37.

6. Сторчило О. В. Модифікація жовчю впливу рослинних екстрактів на транспорт вуглеводів у нащадків опромінених тварин / О. В. Сторчило, О. А. Багірова // *Одеський медичний журнал*. – 2008. – Т. 106, № 2. – С. 13–18.

7. Уголев А. М. Аккумулирующий препарат слизистой – новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку / А. М. Уголев, Д. Р. Жигуре, Е. Е. Нуркс // *Физиологический журнал СССР*. – 1970. – Т. 56, № 11. – С. 1638–1641.

8. Пат. 10460 Україна, МПК (2007) А61К35/78. Спосіб корекції функціонального стану транспортних систем тонкої кишки / Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А.; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. – № u2005 04145; заявл. 29.04.05; опубл. 15.11.05, Бюл. № 11.

9. Scott T. A. The determination of hexoses with antrone / T. A. Scott, E. H. Melvin // *Analyt. Chem*. – 1953. – N 25. – P. 1656–1658.

10. Сторчило О. В. Гендерні ефекти закріплення порушень функціональної активності тонкої кишки нащадків опромінених самців щурів та їх фармакокорекція / О. В. Сторчило // *Вісник Одеського національного університету*. – 2010. – Т. 15, вип. 17. Біологія. – С. 112–120.

УДК 615.9:615.281:577.112.382-389

О. Є. Ткаченко, М. О. Карацуба, Л. Б. Бондаренко

ЗМІНИ АМІНОКИСЛОТНОГО ОБМІНУ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ВИСОКИХ ДОЗ ТУБЕРКУЛОСТАТИКА

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», Київ

Вступ

За останні роки знову зростає увага до детального вивчення піразинаміду, який є важливим компонентом сучасної короткотермінової хіміотерапії туберкульозу [1; 2]. Відбувається також переоцінка токсичності даного препарату [2]. Однак при цьому основна увага дослідників зосереджена на вивченні гепатотоксичності піразинаміду, тимчасом як його ефект на легеневу тка-

нину та протікання у ній метаболічних процесів охарактеризовані далеко не повно.

Було досліджено вплив даного препарату на вуглеводно-фосфорний обмін у легенях і показано, що при введенні піразинаміду знижується вміст піровиноградної кислоти, АТФ та креатинфосфату при одночасному зростанні лактату, неорганічного й кислоторозчинного фосфору [3]. Такі глибокі зміни обміну речовин можуть негативно впливати на функ-

ціонування органа та перебіг захворювання у ньому.

Слід зазначити, що інтенсивність метаболічних процесів, зокрема енергетичного обміну, біосинтезу та катаболізму амінокислот і білків, здатна суттєво впливати не тільки на розвиток та перебіг патологічних процесів у легенях [4], але і на біологічну дію самого піразинаміду [5]. Це зумовлює необхідність комплексної оцінки стану метаболічних процесів у легеневій тканині при вве-



денні піразинаміду для подальшого пошуку заходів, спрямованих на зниження його токсичної дії та підвищення ефективності. Одним із найбільш чутливих, інформативних і точних показників при проведенні таких досліджень сьогодні вважається пул вільних амінокислот органа [6; 7].

Метою даної роботи було вивчення пулу вільних амінокислот легенів щурів при введенні токсичних доз піразинаміду.

Матеріали та методи дослідження

У дослідженнях використовували самців білих щурів лінії Вістар масою тіла 160–200 г розведення віварію Інституту фармакології та токсикології НАМН України, які утримувалися в стандартних умовах з дотриманням харчового та водного режимів. Після попереднього карантину протягом 10 днів самців розподіляли на дослідні та контрольну групи за методом рандомізації.

Для введення тваринам використовували піразинамід у таблетках по 500 мг діючої речовини в кожній виробництва Борщагівського хіміко-фармацевтичного заводу. Водний розчин піразинаміду в дозах 1000 і 2000 мг/кг маси тіла вводили внутрішньошлунково металевим зондом самцям щурів (відповідно 1-ша та 2-га групи) протягом 60 діб. Контрольній групі щурів внутрішньошлунково вводили дистильовану воду.

Наступного дня після закінчення введення піразинаміду тварин умертвляли методом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом. Видаляли легені, які потім відмивали від крові та гомогенізували в 0,1 М К-фосфатному буфері (рН 7,4) у співвідношенні 1 : 3. Усі процедури виконували з дотриманням холодого режиму (+4 °С). Одержаний гомогенат залишали постійно протягом 30 хв при темпера-

турі +4 °С, після чого до гомогенату додавали однаковий об'єм 3 % сульфосаліцилової кислоти та залишали стояти ще протягом 10 хв при температурі +4 °С. Утворений осад відокремлювали центрифугуванням при 5000 г протягом 10 хв при температурі 4 °С. Супернатант містив пул вільних амінокислот легеневої тканини, вміст яких досліджували на амінокислотному аналізаторі ААА-881 (Чехія).

Одержані дані піддавали статистичній обробці згідно із загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність змін оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, вважаючи різницю вірогідною при значенні $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження впливу різних доз піразинаміду на пул віль-

них амінокислот легенів щурів-самців показало, що найбільша кількість змін даних показників спостерігається за умов введення піразинаміду у дозі 2000 мг/кг. У даному разі вірогідні відмінності від норми відзначалися за вмістом 18 окремих амінокислот і загальною сумою амінокислот (табл. 1).

При меншій дозі препарату (1000 мг/кг) відзначалась і менша кількість вірогідних відмінностей. За даної дози піразинаміду у пулі легенів вірогідно змінювався вміст лише 16 амінокислот. При цьому за вмістом аспарагінової кислоти, глутамінової кислоти та гліцину зі збільшенням дози відмічалась зміна характеру ефекту піразинаміду на вміст даних амінокислот (див. табл. 1).

Зростання сумарних кількостей амінокислот як речовин, що належать до сполук із низькою та середньою моле-

Таблиця 1

Вміст вільних амінокислот легенів щурів-самців у нормі та при введенні різних доз піразинаміду, $M \pm m$, $n=5$, мг/100 г вологої тканини

Амінокислота	Норма	Піразинамід	
		1000 мг/кг	2000 мг/кг
Лізин	5,30±1,10	17,50±1,95*	10,70±0,74*
Гістидин	1,10±0,43	8,10±0,83*	4,80±0,43*
Аргінін	2,00±0,63	9,00±1,75*	8,40±1,27*
Орнітин	0,70±0,11	3,30±0,76*	3,90±0,37*
Аспарагінова кислота	17,40±1,27	20,10±1,24	9,90±0,94*
Треонін	4,40±0,58	9,60±1,77*	7,70±0,66*
Серин	4,60±0,71	12,70±2,77*	9,10±0,57*
Глутамінова кислота	45,60±0,57	78,80±2,02*	35,60±1,60*
Пролін	3,30±1,11	12,40±0,71	7,90±0,86
Гліцин	20,80±2,95	36,50±2,74*	11,70±0,58*
Аланін	10,50±0,43	20,20±4,56	14,50±1,38*
Цистеїн	0,80±0,14	6,00±1,50*	2,80±0,31*
Валін	1,80±0,53	8,80±1,75*	12,00±1,16*
Метіонін	0,60±0,21	4,70±0,75*	5,30±0,57*
Ізолейцин	1,30±0,24	5,10±1,14*	7,60±0,96*
Лейцин	3,50±0,56	12,80±3,42*	13,50±1,27*
Тирозин	3,10±1,08	10,80±1,30*	6,40±0,61*
Фенілаланін	1,90±0,35	11,50±1,00*	6,70±0,57*
Глутамін	19,20±6,60	5,00±1,00	3,70±0,66
Сума амінокислот	148,10±6,34	255,50±30,96*	162,20±14,36

Примітка. * — $p < 0,05$ по відношенню до норми.



кулярною масою, є одним із головних показників розвитку процесів ендотоксикозу [8], ступінь виявлення якого визначає і ступінь патологічних змін (запалення, деструкція) тканин організму [9].

Дозозалежно змінювалося співвідношення незамінних амінокислот до замінних: у нормі — 0,174, при дозі 1000 мг/кг — 0,423, а при дозі 2000 мг/кг — 0,727. Це зростання відбувалось як внаслідок збільшення вмісту усіх незамінних амінокислот, так і за рахунок зменшення вмісту замінних. Такі значні зміни свідчать про серйозні зрушення у процесах біосинтезу амінокислот і протеїнів саме у легенях. Крім того, тут, можливо, також відбувається і порушення транспорту незамінних амінокислот [10].

За умов уведення обох доз піразинаміду спостерігалися вірогідні зміни вмісту усіх амінокислот, крім аспарагінової кислоти, аланіну та глутаміну. В першу чергу, характер спостережуваних змін окремих амінокислот вказує на суттєві порушення енергетичного обміну як на стадії гліколізу (зміни вмісту серину, гліцину, цистеїну), так і на стадії циклу Кребса (зміни вмісту глутамінової кислоти, проліну, аргініну, орнітину, гістидину, лейцину, тирозину, валіну, метіоніну, треоніну, ізолейцину) [10].

Окрім змін у циклі Кребса та процесах гліколізу, зниження вмісту аланіну та глутаміну свідчить про порушення процесів транспорту амонійних угруповань [10], що узгоджується із даними інших авторів, які відзначали порушення обміну і транспорту азотистих сполук під впливом піразинаміду та його похідних [11; 12].

На особливу увагу зміни вмісту глутамінової кислоти, цистеїну та гліцину заслуговують ще й тому, що саме дані амінокислотні залишки вхо-

дять до складу глутатіону, утворення якого пригнічується під впливом піразинаміду [13; 14]. Глутатіон, вбудований у клітинну мембрану, здійснює через неї транспорт амінокислот [10]. Тому зміни його вмісту та складових, необхідних для його постійного біосинтезу, можуть позначитися на вмісті вільних амінокислот, особливо незамінних [10].

При обох дозах піразинаміду може відбуватися також порушення біосинтезу S-аденозилгомоцистеїну (зміни вмісту метіоніну, гліцину та серину) [10], метаболізму гомоцистеїну та метіоніну. Це, у свою чергу, може призвести до порушень стану судин, нормального протікання процесів газообміну у легенях та уражень клітин судин, адже підвищення концентрації гомоцистеїну є причиною нагромадження гідроперекисних радикалів, що здатні ушкоджувати клітини ендотелію [15]. Ці результати цілком узгоджуються із даними інших авторів, що відзначали інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів під впливом піразинаміду [3]. Метіонін, крім того, є попередником поліамінів (стимуляторів і регуляторів проліферативних процесів), таурину (сильного антиоксиданта і стабілізатора мембран), а також сам здатний функціонувати в організмі як антиоксидант та імуномодулятор [16]. Під впливом піразинаміду відбувається дозозалежне зростання вмісту вільного метіоніну в тканині легенів, що може розглядатися як стимуляція адаптивних систем організму за рахунок перерозподілу біогенних адаптогенів та імуномодуляторів [16].

За даними деяких авторів, зміни концентрацій цистеїну та метіоніну можуть бути і раннім проявом порушень глибинних процесів репарації ДНК на рівні реакцій з її метилування [15].

Найбільші зміни за фенілаланіном і тирозином у пулі легень були виявлені при дозі 1000 мг/кг піразинаміду. При цій же дозі було найбільш підвищене і співвідношення Фен/Тир, що відображає інтенсивність процесів гідроксилування фенілаланіну до тирозину. У нормі цей показник у пулі легенів становив 0,612, при дозі 1000 мг/кг — 1,065, а при дозі 2000 мг/кг — 1,047, що може свідчити про значне інгібування фенілаланін-гідроксилазної активності за умов введення піразинаміду. Вірогідне зростання вмісту тирозину може серйозно модифікувати ефект піразинаміду, адже вільний тирозин здатний зв'язуватись із даною сполукою, знижуючи таким чином її біодоступність і сповільнюючи біотрансформацію [5].

На особливу увагу заслуговують зміни вмісту аргініну, серину, проліну та тирозину, адже дані амінокислоти здатні відігравати роль депо NO. Останній не лише відповідає за релаксацію судин, але й реагує з атомами заліза (у складі гемі та у вільному стані), з супероксиданіонами, молекулами кисню, пероксидом водню, органічними пероксидами та пероксидними радикалами [17]. Здатність піразинаміду змінювати вміст NO у тканинах організму показана і у роботах інших авторів [18].

Отже, спостережувані нами зміни вмісту даних амінокислот при введенні обох доз піразинаміду можуть позначитися на стані процесів перекисного окиснення у сурфактанті легенів, функціонуванні їх судинної системи, інтенсивності взаємодії молекул гемоглобіну із киснем, що узгоджується і з даними інших авторів щодо ефекту піразинаміду на легеневу тканину [3]. Аргінін, крім того, сам здатний виступати у ролі антиоксиданта і потужного імуномодулятора



[16], а також попередника біосинтезу поліамінів, що регулюють процеси проліферації клітин в організмі. Зростання вмісту аргініну під впливом піразинаміду приводить до стимуляції імунної та адаптивних систем організму.

Таким чином, введення піразинаміду, з одного боку, може спричинити зростання вмісту антиоксидантів, адаптогенів та імуномодуляторів у тканині легенів, з другого — посилювати процеси розвитку ендотоксикозу і порушення в енергетичному, білковому та нуклеотидному обміні. Зі зростанням дози препарату адаптивні можливості організму послаблюються, а токсичний ефект зростає. Більший вияв ефекту меншої дози препарату на вміст амінокислот можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на зміни метаболічних процесів під впливом піразинаміду.

Висновки

Таким чином, вивчення змін вмісту вільних амінокислот легенів щурів при введенні різних доз піразинаміду дозволило провести комплексну оцінку впливу даної сполуки на процеси метаболізму у цьому органі, особливо на обміни амінокислот, протеїнів, нуклеотидів та енергетичний обмін. Результати вивчення у легенях вмісту вільних амінокислот вказують на серйозні зміни енергетичного обміну, метаболізмів амінокислот та інших азотовмісних сполук, процесів газообміну та взаємодії гемоглобіну з молекулами кисню, процесів перекисного окиснення та метилювання біологічних макромолекул. Піразинамід також сприяє зростанню у легенях вмісту амінокислот-адаптогенів та імуномодуляторів. При введенні 1000 мг/кг піразинаміду зміни вмісту більшості амінокислот найбільш яскраво виражені.

Зростання дози піразинаміду до 2000 мг/кг веде до ослаблення адаптаційних можливостей організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Сливка Ю. И. Особенности гепатотоксического действия пиразинамида и его влияние на перекисное окисление липидов / Ю. И. Сливка // Проблемы туберкулеза. – 1988. – № 10. – С. 47–50.

2. Barry C. E. New horizons in the treatment of tuberculosis / C. E. Barry // Biochem. Pharmacol. – 1997. – Vol. 54, N 11. – P. 1165–1172.

3. Характер Ж. З. Углеводно-фосфорный обмен в печени и легких здоровых животных после введения туберкулостатических препаратов / Ж. З. Характер // Вопросы медицинской химии. – 1967. – Т. 13, № 6. – С. 611–615.

4. Serum amino acids in relation to nutritional status, lung function and energy intake in patients with advanced pulmonary disease / L. Forli, J. I. Pedersen, V. Bjortuft [et al.] // Respir. Med. – 2000. – Vol. 94, N 9. – P. 868–874.

5. Herman R. P. Isoniazid interaction with tyrosine as a possible mode of action of the drug in mycobacteria / R. P. Herman, M. M. Weber // Antimicrob Agents Chemoter. – 1980. – Vol. 17, N 2. – P. 17–178.

6. Fau D. Imbalance through lysine excess and correction by a threonine supplement, as a function of nutritional status / D. Fau // Ann. Nutr. Aliment. – 1975. – Vol. 29, N 4. – P. 321–335.

7. Li J. Y. Sequential changes of free amino acid pool in burned rabbits / J. Y. Li // Zhonghua Zh. – 1991. – Vol. 7, N 3. – P. 208–211.

8. Ерюхин И. А. Эндотоксикоз в хирургической клинике / И. А. Ерюхин, Б. В. Шашков. – СПб. : Логос, 1995. – 304 с.

9. Дунтау А. П. Механизмы эндотоксикоза при туберкулезе легких / А. П. Дунтау, А. В. Ефремов, В. В. Бакаев // Проблемы туберкулеза. – 2000. – № 1. – С. 37–39.

10. Marks D. B. Biochemistry / D. B. Marks ; ed. Williams & Wilkins. – Baltimore, 1994. – P. 234–249.

11. Mechanism of increases in L-kinurenine and quinolinic acid in renal insufficiency / K. Saito, S. Fujigaki, M. P. Heyes [et al.] // Am. J. Renal Physiol. – 2000. – Vol. 279, N 3. – P. F565–F572.

12. Kawabe K. A case of uric acid renal stone with hypouricemia caused

by tubular resorptive defect of uric acid / K. Kawabe, T. Murayama, I. Akaoka // J. Urol. – 1976. – Vol. 116, N 6. – P. 690–692.

13. Dhuley J. N. Hepatoprotective effect of rhinax on antitubercular drug-induced hepatotoxicity in rats / J. N. Dhuley // Hind. Antibiot. Bull. – 2002. – Vol. 44, N 1/4. – P. 53–59.

14. Ashok K. N. Antioxidant action of Moringa oleifera Lam (drumstick) against antitubercular drugs induced lipid peroxidation in rats / K. N. Ashok, L. Pari // J. Med. Food. – 2003. – Vol. 6, N 3. – P. 255–259.

15. Estrogen and homocysteine / C. R. Dimitrova, K. DeGroot, A. K. Myers, Y. D. Kim // Cardiovascular Res. – 2002. – Vol. 53. – P. 577–588.

16. Павлов В. А. Влияние микробактерий на адаптивную перестройку в организме морских свинок при длительном воздействии на них ПАУ-содержащих веществ / В. А. Павлов // Проблемы туберкулеза. – 1998. – № 1. – С. 51–53.

17. Степуро И. И. Роль аминокислот и белков в обмене оксида азота / И. И. Степуро // Аминокислоты и их производные в биологии и медицине : матер. конф. – Гродно, 2001. – С. 104.

18. Antitubercular therapy decreases nitric oxide production in HIV/TB coinfecting patients / A. Wanchu, A. Bhatnagar, M. Khullar [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2002. – Vol. 2, N 1. – P. 15–16.

