

БІОХІМІЯ

УДК 546.766+615.281.221.1]-06:612.015.11-092.9

Н.І. БУРМАС, Л.С. ФІРА, П.Г. ЛИХАЦЬКИЙ

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

АКТИВНІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ЗА УМОВ ОДНОЧАСНОГО ОТРУЄННЯ ЩУРІВ СПОЛУКАМИ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ, ІЗОНІАЗИДУ ТА РИФАМПІЦИНУ

У дослідженнях на білих щурах встановлено, що при одночасному ураженні ізоніазидом (0,05г/кг), рифампіцином (0,25 г/кг) та сполуками шестивалентного хрому (3мг/кг) відбувається посилення процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків сироватки крові. Це супроводжується порушенням проникності клітинних мембран гепатоцитів, що підтверджується підвищенням активності амінотрансфераз у сироватці крові уражених тварин.

Ключові слова : хром, ізоніазид, рифампіцин, окиснювальні процеси

З публікацій останніх років стає очевидним, що накопичення сполук токсичних металів у навколишньому середовищі [13], викликає у організмі різноманітні функціональні та метаболічні порушення [3], у тому числі пов'язані з розвитком вільнорадикальних процесів.

Доведено, що при надходженні до організму людини і тварин Хром (VI) шкідливо впливає на діяльність різних органів і тканин [8, 9, 12]. Встановлені особливості шкідливої дії Cr (VI) значною мірою опосередковують активні форми оксигену (АФК), які утворюються під час відновлення елемента в організмі та клітинах [4, 5], а також особливу увагу заслуговують встановлені дані про зміну активності ферментів, які каталізують окремі ланки катаболізму моносахаридів (піруваткіназа, лактатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа) у гепатоцитах [8, 9].

Поряд з тим, науковцями продовжується вивчення питання медикаментозного отруєння організму, зокрема токсичної дії ізоніазиду та рифампіцину на печінку [2, 6]. Доведено, що вищевказані протитуберкульозні препарати порушують функціонально-біохімічну структуру печінки, призводять до значних змін окиснювальних процесів в організмі.

Проте, в літературі зовсім немає повідомлень про вплив металів, зокрема сполук шестивалентного хрому, на організм тварин на тлі ізоніазидного та рифампіцинового ураження печінки. У зв'язку із вище зазначеним, доцільним є вивчити активність окиснювальних процесів в організмі тварин за умов поєднаного впливу сполук шестивалентного хрому та туберкулостатиків.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені на білих щурах-самцях старечого віку масою 280—300 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Експериментальне ураження тварин здійснювалось за умов поєднаного застосування ізоніазиду, рифампіцину та сполук шестивалентного хрому. Ізоніазид вводили у дозі 0,05 г /кг маси тіла, рифампіцин – 0,25 г/кг, сполуки шестивалентного хрому (розчин

біхромату калію) – 3 мг/кг щодобово. Названі засоби використовувались інтрагастрально (за допомогою металічного зонда) протягом семи діб. Тварин поділили на чотири групи: три дослідні (по 6 особин у кожній) і одну контрольну (6 особин). Щури першої дослідної групи (Д₁) отримували розчин K₂Cr₂O₇ у зазначеній дозі, тварини другої дослідної групи (Д₂) – рифампіцин і ізоніазид, третьої дослідної групи (Д₃) - розчин K₂Cr₂O₇, ізоніазид, рифампіцин. Щури контрольної групи (К) отримували фізіологічний розчин за такою самою схемою. Через 24 години після останнього введення здійснювали евтаназію щурів усіх дослідних груп під тіопенталовим наркозом. Об'єктом дослідження слугували гомогенат печінки та сироватка крові.

Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [10].

Активність окиснювальних процесів оцінювали за вмістом продуктів окиснювальної модифікації білків (2,4-ДНФГ) [1] та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [7]; проникність плазматичних мембран гепатоцитів – за активністю аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) [14].

Результати досліджень та їх обговорення

У таблиці 1 наведені результати дослідження вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків – 2,4 динітрофенілгідрозонів нейтрального (370 нм) та основного (430 нм) характеру у сироватці крові та печінці старечих щурів після ураження Cr⁶⁺, ізоніазидом та рифампіцином.

Встановлено, що вміст 2,4-ДНФГ₍₃₇₀₎ у сироватці крові найбільшого підвищення зазнав у групі Д₃ і становив 227%, вміст 2,4-ДНФГ₍₄₃₀₎ у цій же групі становив 492%. Найменш чутливими до даного показника виявились тварини, які були уражені тільки Cr⁶⁺. Аналогічна тенденція стосовно названих показників відмічалась у печінці уражених тварин. У групі Д₃ вміст 2,4-ДНФГ₍₃₇₀₎ збільшився на 194% порівняно з контролем, вміст 2,4-ДНФГ₍₄₃₀₎ – на 184%.

Таблиця 1

Вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у сироватці крові та печінці щурів, уражених туберкулозистатиками та сполуками Cr⁶⁺, ммоль/г·білка (M ± m; n = 6)

Матеріал дослідження	370 нм				430 нм			
	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃
Сироватка крові	0,120± 0,004	0,180± 0,003*	0,202± 0,003*	0,272± 0,004*	0,053± 0,002	0,121± 0,004*	0,153± 0,005*	0,261± 0,005*
Печінка	0,124± 0,006	0,248± 0,005*	0,280± 0,007*	0,364± 0,005*	0,094± 0,006	0,184± 0,004*	0,205± 0,004*	0,267± 0,003*

Примітка: * - вірогідні зміни між інтактними тваринами та ураженими ксенобіотиками

Таку тенденцію до зростання окиснювальних процесів в організмі можна пояснити тим, що при одночасному ураженні ізоніазидом, рифампіцином та розчином біхромату калію в організмі посилено утворюються АФК. Останні взаємодіють із клітинними біополімерами, беручи участь у реакціях пероксидного окиснення та пошкодження біомолекул.

Таблиця 2

Вміст ТБК–активних продуктів у сироватці крові щурів, уражених туберкулозистатиками та сполуками Cr⁶⁺, мкмоль/л (M ± m; n = 6)

Матеріал дослідження	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃
Сироватка крові	0,62±0,02	2,50±0,11*	2,91±0,12*	3,60±0,14*

Поряд із вивченням кінцевих процесів ОМБ нами досліджено активність процесів ліпопероксидації, одним із проміжних продуктів якої є ТБК-АП. Із таблиці 2 видно, що при потраплянні до організму сполук Cr⁶⁺ та туберкулозистатиків у сироватці крові активуються

процеси ПОЛ, причому найбільш виражені вони у тварин, яких одночасно отруювали усіма названими ксенобіотиками.

Так на 7-ий день після ураження вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів групи Д₁ збільшився у 4 рази, Д₂ – у 4,7 рази, Д₃ – у 5,8 рази.

Отже, при поєднаному ураженні сполуками шестивалентного хрому та протитуберкульозними препаратами відбувається значне посилення процесів вільнорадикального окиснення в біомембранах. Встановлено, що при надмірному накопиченні продуктів ПОЛ в організмі розвивається синдром ліпідної пероксидації, який включає такі патологічні компоненти як пошкодження мембранних ліпідів, ліпопротеїдів і білків, інактивацію ферментів, порушення клітинного поділу та фагоцитозу [11]. Це призводить до змін структурно-функціональної організації мембран та їх проникності.

Нами вивчена активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів різних груп після ураження їх ксенобіотиками. Відомо, що АлАТ є маркерним ферментом цитолізу гепатоцитів і збільшення його активності у сироватці крові свідчить про тропність використаних нами токсикантів саме до печінки.

Ми відмітили зростання активності АлАТ (таб. 3) у всіх групах тварин, причому найвищою вона була у групі Д₃ і у 2,5 рази перевищувала таку у контрольній групі.

Найменш чутливими виявились тварини, які уражались сполуками шестивалентного хрому (група Д₁), активність АлАТ у них перевищувала норму у 1,6 рази.

Таблиця 3

Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів, уражених туберкулостатиками та сполуками Cr⁶⁺, мкмоль/л·год (m ± m; n = 6)

Показник	К	Д ₁	Д ₂	Д ₃
АлАТ	2,34±0,15	3,75±0,36*	4,44±0,32*	5,87±0,30*
АсАТ	1,05±0,20	2,04±0,14*	2,61±0,09*	3,22±0,14*

Аналогічні зміни характерні і для активності АсАТ, зростання якої було найвищим у групі Д₃ (у 3,1 рази). У групі Д₁ та Д₂ активність АсАТ збільшилась у 1,9 та 2,5 рази відповідно при порівнянні з контрольною групою.

Встановлене нами підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові є підтвердженням токсичної дії Cr⁶⁺ та туберкулостатиків на печінку, що супроводжується порушенням проникності плазматичних мембран гепатоцитів і зумовлює потрапляння значної кількості ензимів у кров.

Висновки

Отримані експериментальні дані дають можливість стверджувати, що ураження тварин сполуками шестивалентного хрому та туберкулостатиками супроводжується значною активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків, внаслідок чого підвищується проникність плазматичних мембран гепатоцитів. Відмічено потенціуючий вплив ксенобіотиків на печінку при одночасному їх застосуванні в порівнянні з окремим поступленням до організму. Проведені дослідження спонукають до пошуку коригуючих чинників, які б змогли усунути виявлені порушення в організмі щурів, уражених сполуками Cr⁶⁺ та туберкулостатиками, що і стане метою нашої подальшої роботи.

1. Арчаков А.И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А.И. Арчаков, Михосоев И.М. // Биохимия. — 1998. — Т. 54, № 2. — С. 179—186.
2. Куничан А.Д. Действия изониазида и рифампицина на клеточные элиенты культуры интоктной легочной ткани экспериментальных животных / А.Д. Куничан, М.Н. Шапатова, Г.Б. Соколова // Пробл. туберкулеза. — 1991, № 2. — С. 9—12.
3. Кухарчук О.Л. Неонатальный гипотиреоз і ліпопероксидація: патогенетична роль важких металів / О.Л. Кухарчук, Н.К. Зальцман // Медична хімія. — 2001. — Т. 3, № 4. — С. 22—25.
4. Матюшин Б.Н. Антиоксидантные энзимы печени при ее хроническом поражении / Б.Н. Матюшин, А.С. Логинов, В.Д. Ткачев // Пат физиол. и эксперим. тер. — 1992, № 2. — С. 41—42.

5. *Осипов А.Н.* Активные формы кислорода и их роль в организме / А.Н. Осипов, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров // Успехи биол. химии. — 1990. — Т. 31. — С. 180—208.
6. *Скакун Н.П.* Сравнительное действие изониазида, рифампицина и этамбутола на функциональное состояние печени / Н.П. Скакун, О.Е. Табачук // Эксперим. и клинич. фармакология. — 1992. — Т. 55, № 2. — С. 45—47.
7. *Сологуб Л.І.* Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти / Л.І. Сологуб, Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич. — Львів: Євросвіт, 2007. — 127 с.
8. *Стальная И.Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // В кн.: Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66—68.
9. *Chromosome aberration and lipid peroxidation in chromium-exposed workers / S. H. Maeng, H. W. Chung, K. J. Kim [et al.] // Biomarkers. — 2004. — Vol. 9, N 6. — P. 418—434.*
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Council of Europe. Strasbourg. — 1986. — № 123. — 52 p.
11. *Harman D.* Free radicals, aging and degenerative disease / D. Harman. — N. Y.: Liss, 1986. — 150 p.
12. *Hexavalent chromium ingestion: biological markers of nephrotoxicity and genotoxicity / P. Hantson, O. Van Caenegem, I. Decordier [et al.] // Clin. toxicol. (Phila). — 2005. — Vol. 43, № 2. — P. 111—112.*
13. *Makin A. J.* 7-years experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987—1993) / A. J. Makin, J. Wendon, R. A. Williams // Gastroenterology. — 1995. — V. 109. — P. 1907—1916.
14. *Reitman S.* Definition of biochemical indicators of the toxicity of liver / S. Reitman, S. Frankel // Amer. j. clin. path. — 1957. — Vol. 28, № 1. — P. 56—60.

Н.И. Бурмас, Л.С. Фира, П.Г. Лихацкий

Тернопольской государственной медицинской университет им. И. Я. Горбачевского

АКТИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В УСЛОВИЯХ ОДНОВРЕМЕННОГО ОТРАВЛЕНИЯ КРЫС СОЕДИНЕНИЯМИ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА, ИЗОНИАЗИДА И РИФАМПИЦИНА

В исследованиях на белых крысах установлено, что при одновременном поражении изониазидом (0,05 г / кг), рифампицином (0,25 г / кг) и соединениями шестивалентного хрома (3мг/кг) происходит усиление процессов липопероксидации и окислительной модификации белков. Это сопровождается нарушением проницаемости клеточных мембран гепатоцитов, что подтверждается увеличением активности аминотрансфераз в сыворотке крови пораженных животных.

Ключевые слова: хром, изониазид, рифампицин, окислительные процессы

N.I. Burmas, L.S. Fira, P.G. Lihackiy

Ternopil I.Ya. Horbachevskiy State Medical University, Ukraine

THE ACTIVITY OF OXIDATIVE PROCESSES THE CONDITIONS OF SIMULTANEOUS POISONING OF RATS BY THE HEXAVALENT CHROMIUM COMPOUNDS, ISONIAZID AND RIFAMPICIN

In the experiments on white rats showed that when simultaneous affection of isoniazid (0.05 g/kg), rifampicin (0.25 g/kg) and hexavalent chromium compounds (3mg/kg) are the strengthening processes of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins. It is violating the permeability of the cell membranes of hepatocytes, as evidenced by increased the activity of aminotransferases in a blood serum of affected animals.

Key words: chromium, isoniazid, rifampicin, oxidative processes

Рекомендує до друку

Надійшла 15.03.2013

О.Б. Столяр