

ДИНАМІКА ЗМІН ПАРАМЕТРІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ЗА УМОВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЇ МІГУ-5

Т.Р. Лучишин

Луганський державний медичний університет, м. Луганськ

РЕЗЮМЕ. Стаття присвячена вивченню впливу координаційної сполуки германію з нікотинамідом та оксіетилідендифосфоновою кислотою (МІГУ-5) на кінетику вільнорадикальних реакцій у щурів із ендотоксикозом на тлі перитоніту. Доведено, що МІГУ-5 володіє високою антирадикальною активністю, яка реалізується пригніченням ланцюгових реакцій в сироватці крові щурів, на що переконливо вказують зміни кінетики всіх параметрів надслабкого світіння у біосубстраті, що досліджувався. На нашу думку, саме антирадикальні властивості даної сполуки можуть зіграти ключову роль у реалізації детоксифікуючої активності МІГУ-5 при ендотоксикозі.

Ключові слова: ендотоксикоз, перитоніт, германійорганічні сполуки, лікування.

РЕЗЮМЕ. Статья посвящена изучению влияния координационного соединения германия с никотинамидом и оксиэтилдифосфоновой кислотой (МИГУ-5) на кинетику свободнорадикальных реакций у крыс с эндотоксикозом на фоне перитонита. Доказано, что МИГУ-5 обладает высокой антирадикальной активностью, которая реализуется угнетением цепных реакций в сыворотке крови крыс, на что убедительно указывают изменения кинетики всех параметров сверхслабого свечения в исследуемом биосубстрате. По нашему мнению, именно антирадикальные свойства данного соединения могут сыграть ключевую роль в реализации детоксицирующей активности МИГУ-5 при эндотоксикозе.

Ключевые слова: эндотоксикоз, перитонит, германийорганические соединения, лечение.

SUMMARY. The article is devoted to the study of influence of coordinative compound of germanium with nicotinamide and oxyethylidendiphosphonic acid on kinetics of free-radical reactions in rats with endotoxycosis on background of peritonitis. It is proved that MIGU-5 possesses high antiradical activity which is manifested in inhibition of chain reactions in the blood serum of rats. It is indicated in the changes of kinetics of all parameters of superweak luminescence in this biosubstrate. Regarding this fact, we think that antiradical properties of the medicine supposed to play a key role in realization of detoxicative activity of MIGU-5 in endotoxycosis.

Key words: endotoxycosis, peritonitis, coordinative compounds of germanium, treatment.

Одним із нагальних питань сучасної клінічної токсикології є оптимізація фармакотерапії синдрому ендогенної інтоксикації, який є невід'ємною складовою патогенезу багатьох невідкладних станів, серед яких найбільш поширеним є перитоніт. Актуальність цієї проблеми полягає в тому, що останнім часом спостерігається тенденція до зростання частоти цього ускладнення захворювань органів черевної порожнини та високої летальності. Клінічна картина перитоніту часто обтяжується множинною дисфункцією органів на фоні прогресування ендогенної інтоксикації за умов надмірної активації процесів вільнорадикального окиснення [1].

Перебіг перитоніту, що є надзвичайно складним у патогенетичному відношенні процесом, супроводжується оксидативним стресом, який обумовлений гіперпродукцією активних форм кисню (АФК). АФК хімічно дуже агресивні: вони пошкоджують білки і ДНК і, головне, викликають переокиснення ліпідів — процес, який неминуче призводить до важкого пошкодження біологічних мембран [2].

Отже, на сучасному етапі розвитку хірургії прогрес у лікуванні перитоніту може бути досягнутий саме за рахунок вирішення проблеми фармакотерапії ендогенної інтоксикації.

Проведеними раніше скринінговими дослідженнями нами встановлено високу лікувально-профілактичну ефективність нової координаційної сполуки на основі германію, нікотинамідів та оксіетилідендифосфонові кислоти (МІГУ-5) при ендотоксемії різного генезу, в тому числі й бактеріального.

Мета даної роботи — вивчення впливу МІГУ-5 на біохеміюмінісценцію (БХЛ) сироватки крові щурів в умовах ендотоксикозу на моделі перитоніту.

Матеріали і методи дослідження Дослідження виконані на білих безпородних щурах масою 180-230 г обох статей в лабораторії кафедри фармакології Луганського державного медичного університету (ЛугДМУ), сертифікованій Державним підприємством "Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України" згідно з методичними рекомендаціями ДП "Держав-

ний експертний центр МОЗ України" [3]. У якості експериментальної моделі перитоніту слугував гострий патологічний процес, що розвивається у тварин після одномоментного введення в порожнину очеревини 10%-ої калової зависі в дозі 300 мг/кг [4, 5].

Тварин поділили на 5 груп: інтактну, контроль №1, контроль №2, дослідну та референтну групи. Щурам дослідної серії фармакотерапію експериментального перитоніту проводили комбінацією двох препаратів — антибіотиком ванкоміцином (Тева Фармацевтичні Підприємства Лтд. Завод Хуман по виробництву вакцин і лікарських засобів Ко. Лтд., Угорщина) та германійорганічною сполукою МІГУ-5 за умов їх внутрішньоочеревинного введення у такому режимі: через 1 год та через 6 год від моменту введення 10 % калової зависі вводили ванкоміцин у дозі 20 мг/кг у вигляді 0,2 % водного розчину [6] і МІГУ-5 у дозі 120 мг/кг, у вигляді 1% водного розчину. Тварини референтної групи отримували дозу ванкоміцину, що й у дослідній групі, і тіотріазолін — як препарат порівняння із розра-

Вплив МІГУ-5 у комбінації з ванкоміцином на показники БХЛ у динаміці у сироватці крові щурів за умов ендogenousної інтоксикації (n=7)

Група тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (години)		
		18	42	78
Загальна світлосума реакції (S), відн. од.				
Інтактна	M±m	5519,24±1498,54		
Контроль №1	M	100127,54	119469,29	101594,57
	±m	6504,14	10154,09	3116,44
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,01
Контроль №2	M	82907,50	94364,00	91304,64
	±m	5372,82	2899,98	4197,84
	P ₁	<0,01	<0,001	<0,01
Дослідна	M	36153,00	58159,75	37888,25
	±m	3553,40	5137,93	473,25
	P ₁	<0,01	>0,05	<0,001
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₃	<0,001	<0,001	<0,001
Референтна	M	74917,36	88841,00	81067,07
	±m	4242,21	1552,16	3168,34
	P ₁	<0,01	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,05	<0,05	<0,01
Кінцеве значення інтенсивності надслабкого світіння (I_к), імп/с				
Інтактна	M±m	68,43±2,51		
Контроль №1	M ±m	106,60±3,61	106,86±3,87	112,90±4,19
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,001
Контроль №2	M ±m	93,43±1,37	97,43±1,55	90,57±5,88
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,001
Дослідна	M ±m	30,25±2,21	16,00±0,71	9,50±0,50
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₃	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₄	<0,001	<0,001	<0,001
Референтна	M ±m	88,71±2,63	85,14±2,28	72,71±2,09
	P ₁	<0,01	<0,01	>0,05
	P ₂	<0,01	<0,01	<0,001
Час індукції повільного спалаху (τ), с				
Інтактна	M±m	19,00±1,09		
Контроль №1	M ±m	17,00±0,61	16,29±0,44	16,14±0,77
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05
Контроль №2	M ±m	18,29±0,53	16,86±0,43	19,00±1,21
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05
Дослідна	M±m	18,98±0,55	18,67±0,43	19,50±0,45
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,05	<0,01	<0,01
	P ₃	>0,05	<0,05	>0,05
	P ₄	>0,05	>0,05	>0,05
Референтна	M±m	19,86±1,07	19,29±0,53	19,29±0,73
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	<0,01	<0,05

Примітки:

1. P₁ — вірогідно у порівнянні з інтактною групою;
2. P₂ — вірогідно у порівнянні з контролем №1;
3. P₃ — вірогідно у порівнянні з контролем №2;
4. P₄ — вірогідно у порівнянні з референтною групою.

хунку 117 мг/кг у вигляді 2,5 % водного розчину [7], у тому ж режимі дозування. Щури контрольної групи №2 отримували у вищезазначеному режимі дозування ванкоміцин, а контрольної групи №1 — внутрішньоочеревинно еквіоб'ємну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду.

Інтенсивність надслабкого світіння вивчали в сироватці крові в динаміці: через 18, 42 і 78 годин після моделювання патології. У роботі використовували удосконалений співробітниками кафедри фармакології ЛугДМУ метод визначення в тканинах надслабкого світіння, індукованого 3% розчином перексиду водню [8].

БХЛ-аналіз фармакотерапевтичної ефективності МІГУ-5, за умов експерименту, проводили за хемілюмінограмами сироватки крові, які реєстрували протягом 5 хвилин на хемілюмінометрі "Emillite — 1105" спільного австронімецько-російського виробництва у такому режимі: спектральний діапазон 350-390 нм, діапазон вимірів — 10³-10¹⁰ фотон/с. Сироватку крові попередньо інкубували (15 хвилин при 37°C). Фонові значення і спонтанний рівень БХЛ записували протягом 1 хвилини.

Кінетику надслабкого світіння оцінювали за наступними показниками: амплітуда швидкого спалаху (I₁), амплітуда повільного спалаху (I₂), час індукції повільного спалаху (τ), амплітуда кінцевого значення БХЛ (I_к), а також загальна світлосума реакції (S). Розрахунок досліджуваних параметрів проводили за допомогою комп'ютерної програми, спеціально розробленої на кафедрі фармакології ЛугДМУ.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерію Стьюдента (t) за програмою "Statgraphics".

Результати дослідження та їх обговорення

Показники БХЛ, що характеризують інтенсивність надслабкого світіння у сироватці крові щурів на моделі ендотоксемії, зображені на рис. 1 та 2 та у таблиці 1.

Аналіз величин амплітуди швидкого спалаху, які графічно представлені на рис. 1, дозволяє зазначити істотне підвищення показника I₁ у контролі №1 в усі строки дослідження, у середньому, в 1,4 раза порівня-

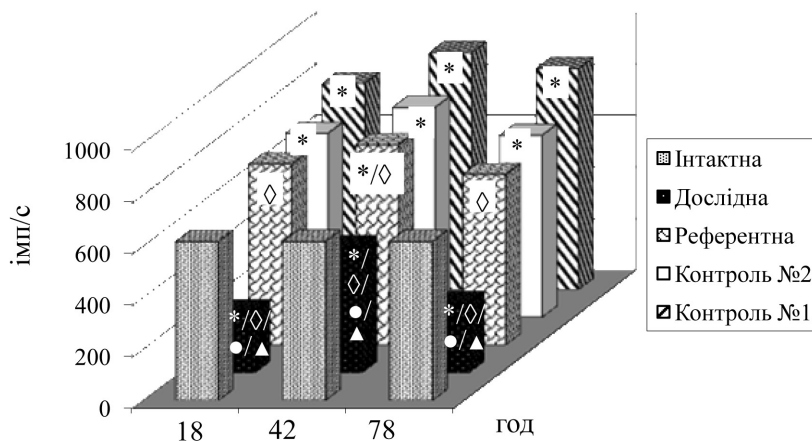


Рис. 1. Вплив МІГУ-5 на амплітуду швидкого спалаху надслабкого світіння у щурів із ендотоксемією (n=7).

- Примітки: 1. * – $P < 0,05-0,001$ – вірогідно у порівнянні з інтактною групою;
 2. \diamond - $P < 0,05-0,001$ – вірогідно у порівнянні з контролем №1;
 3. \bullet – $P < 0,05-0,001$ – вірогідно у порівнянні з контролем №2;
 4. \triangle – $P < 0,05-0,001$ – вірогідно у порівнянні з референтною групою.

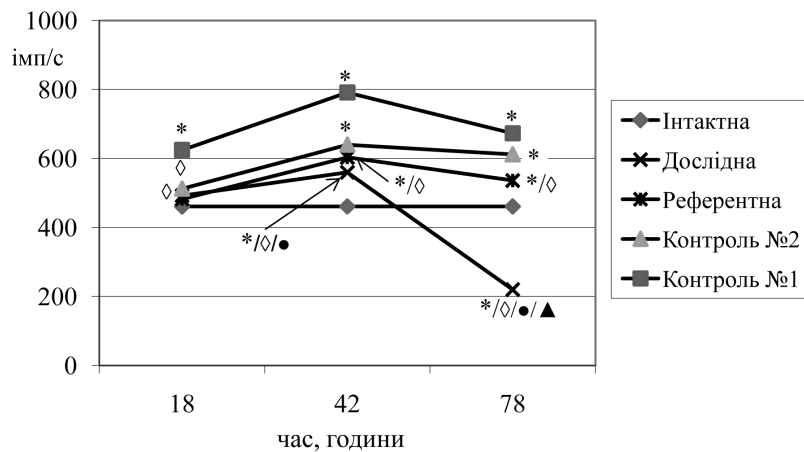


Рис. 1. Вплив МІГУ-5 на амплітуду повільного спалаху надслабкого світіння у щурів із ендотоксемією (n=7). Примітка. див. рис. 1.

но з інтактними тваринами. На думку ряду дослідників [9, 10], природа швидкого спалаху (I_1) пов'язана як з розкладанням гідропероксидів, так і з утворенням та зникненням радикалів води. Передбачається, що збільшення амплітуди швидкого спалаху свідчить про накопичення в крові перекисних продуктів і, в першу чергу, гідропероксидів ліпідів, що і відбувається у контрольній групі тварин.

У дослідній же групі протягом усього експерименту значення I_1 вірогідно нижчі за такі, що реєструються у тварин контролю №1 та контролю №2 ($P < 0,05-0,001$) із максимальною різницею на 18-ти годинній відмітці досліді у 3,3 та 3,0 рази, відповідно. Порівнюючи отримані дані з контролем №2, слід відзначити вагомий внесок саме МІГУ-5 у ефективність фармако-

рапії перитоніту, адже ця сполука володіє вираженою здатністю зменшувати генерацію вільних радикалів в організмі тварин із формою ендогенної інтоксикації, що моделюється, наближаючи величини I_1 до таких, що зафіксовані у інтактних щурів. Крім того, значення I_1 вірогідно нижчі за показники, що реєструються у референтній групі тварин, тобто які отримували у тому ж режимі тіотріазолін.

Амплітуда повільного спалаху надслабкого світіння відображає максимальну інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, що протікає за участю Fe^{2+} , вказуючи на швидкість витрачання цих іонів у системі. Тому очевидним є значне збільшення швидкості утилізації Fe^{2+} , що відбивається на амплітуді повільного спалаху у тварин контролю №1 (див. рис. 2), оскільки отримані значення у цій

групі в усі строки дослідження вірогідно ($P < 0,001$) вищі на 35-70%, ніж у інтактних тварин.

При використанні МІГУ-5 за умов форми ендогенної інтоксикації, що моделюється крива БХЛ значно змінюється, адже амплітуда повільного спалаху в сироватці крові тварин знижується втричі у порівнянні з контролем №1 та у 2,8 раза — з контролем №2 на останній відмітці досліді (78 год), попереджуючи таким чином бурхливий розвиток оксидативного стресу та захищаючи біомембрани від згубної дії вільних радикалів. Більш того, за 78 годин формування ендотоксемії значення I_2 значно нижчі за результати, що зафіксовані в інтактній та референтній групах ($P < 0,001$).

Комплексна оцінка всіх параметрів надслабкого світіння є свідченням значної модифікації БХЛ-кривої загалом, а також площі під хемілюмінесцентною кривою, тобто світлосуми БХЛ-реакції (S), що висвітлено у табл. 1. Зокрема, у контролі №1 значення S у сироватці крові протягом усього експерименту у середньому в 1,9 раза вище за аналогічні в інтактних тварин.

При лікувально-профілактичному застосуванні МІГУ-5 у всі терміни дослідження значення S у сироватці тварин вірогідно нижчі, ніж у контрольних серіях №1 та №2 ($P < 0,001$). Причому величина S у дослідній групі у 2,8; 2,05 та 2,7 раза нижча за цей показник у контрольній групі №1 на 18, 42 та 78 годинах досліді, відповідно. Слід наголосити, що у фармакотерапію перитоніту вагомим є внесок саме германійорганічної сполуки, адже різниця між показниками дослідної групи та тварин, які отримували монотерапію ванкоміцином, становить 50 %. Крім того, МІГУ-5 у всі терміни дослідження має вірогідно менші значення загальної світлосуми реакції, ніж у тварин, що отримували тіотріазолін ($P < 0,001$).

Інтерпретуючи отримані результати, можна стверджувати, що зниження загальної світлосуми БХЛ-реакції свідчить про підвищення спроможності фосfolіпідів протистояти вільнорадикальному окисленню, а, отже, МІГУ-5 володіє виразними мембранопротекторними властивостями, в основі яких лежить антирадикальна активність. Крім того, на нашу думку, значення

інтегрального показника БХЛ, що обговорюються, свідчать не тільки про мембранопротекторну дію МІГУ-5, а й про її здатність сприяти збереженню фонду ендogenous антиоксидантів, що є ключовим чинником у зменшенні розгалуження ланцюгів вільнорадикальних реакцій при формі синдрому ендogenous інтоксикації, що моделюється.

Досить інформативним показником, який характеризує стан антиоксидантного профілю та вказує на рівень антиокислювальної активності фосфоліпідів, є величина τ , згідно з якою можна судити про співвідношення у системі про- та антиоксидантів. У контролі №1 значення часу індукції повільного спалаху надслабкого світіння у сироватці крові знижується протягом усього експерименту та не має тенденції до відновлення, що вказує на надмірну активність прооксидантів за умов синдрому ендogenous інтоксикації бактеріального походження (див. табл. 1).

Значна модифікація БХЛ-кривої відбувається на тлі застосування МІГУ-5, коли протягом всього експерименту не реєструється вірогідних відмінностей із інтакт-

ною групою на фоні підвищення значення τ у порівнянні з контролем №1 ($P < 0,05-0,01$) та з контролем №2 на 42 відмітці досліду ($P < 0,05$). Все це може бути свідченням сумарного підвищення вмісту екзогенних та ендogenous антиоксидантів, а також ще одним підтвердженням здатності МІГУ-5 зберігати пул компонентів антиоксидантної системи захисту організму при формі ендотоксемії, що досліджується.

І останнім, що не зменшує значимість цього інтегрального показника, доцільно проаналізувати кінцеве значення інтенсивності БХЛ-реакції (I_k), що вказує на швидкість згасання надслабкого світіння, а отже, і стан антиокислювальної системи біосубстрату (у даному випадку сироватки крові). Доведено, що за умов ендogenous інтоксикації є очевидним зміщення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги у бік перекисних процесів за рахунок гіперпродукції вільних радикалів (див. табл. 1). Це підтверджується підвищенням значень I_k у контролі №1 упродовж всього експерименту в середньому на 58 % у порівнянні з інтактною групою ($P < 0,001$).

При застосуванні ж МІГУ-5 показники I_k є вірогідно нижчими впродовж всього спостереження як відносно контролів №1 та №2, так і відносно референтної групи ($P < 0,001$) (див. табл. 1). Все це, врешті-решт, свідчить, що потенційний детоксикант МІГУ-5 має виразні антирадикальні властивості, які вірогідно обумовлені наявністю в його хімічній структурі атома германію, здатного виступати в якості скавенджера вільних радикалів, які бурхливо утворюються за умов ендотоксемії при перитоніті.

Таким чином, нормалізація процесів генерації мембранотоксичних вільних радикалів у сироватці крові щурів координаційною сполукою германію з нікотинамідом та оксетилідендифосфоною кислотою на тлі ендотоксикозу, що формується при перитоніті, вельми переконливо свідчить про наявність у МІГУ-5 антирадикальних, а отже, і детоксикаційних властивостей. Цей факт є надто важливим у плані доцільності включення МІГУ-5 у комбіновану фармакотерапію даного невідкладного стану.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лук'ячук В.Д. Стан компонентів антиоксидантної системи захисту організму у щурів з каловим перитонітом на тлі фармакологічної корекції корвітином / В.Д. Лук'ячук, В.В. Деркачевська // Журнал Екстремальної медицини ім. Г.О. Можалева. — №1. — 2009. — С. 55 — 61.
2. Redox control of cell death / S. Ueda, H. Masutani, H. Nakamura [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2002. — Vol. 4, № 3. — P. 405-414.
3. Доклинические исследования лекарственных средств : [метод. рекоменд. / под ред. член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова]. — К., 2002. — 567 с.
4. Ременник С. С. К вопросу о создании экспериментальной модели перитонита / С. С. Ременник // *Здравоохранение Туркменистана.* — 1965. — № 7. — С. 21-25.
5. Деркачевська В. В. Експериментальна оцінка детоксикуючої активності корвітину при каловому перитоніті : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 14.03.05 "Фармакологія" / В. В. Деркачевська. — Національний фармацевтичний університет. — Харків, 2010. — 20 с.
6. Образование интерферона при экспериментальном гнойно-септическом перитоните в процессе лечения / В. А. Деев, С. Л. Рыбалко, С. Т. Дядюн [и др.] // *Лабораторная диагностика.* — 2004. — № 1. — С. 51 — 53.
7. Лук'ячук В. Д. Разработка оптимального режима дозирования тизотриазолина при синдроме длительного раздавливания / В. Д. Лук'ячук, Д. М. Болгов, Д. С. Кравец // *Буковинський медичний вісник.* — 2002. — Т. 6, № 3. — С. 177-181.
8. Биохимиллюминесцентный анализ фармакодинамики лекарственных средств : [метод. рекомендации] / В. Д. Лук'ячук, Д. С. Кравец, Н.В. Витохина [и др.]. — Киев, 2010. — 42 с.
9. Владимирюв Ю. А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимирюв // *Биохимия.* — 2004. — Т.69, № 1. — С. 5-7.
10. Тимочко М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобильська // *Мед. хімія.* — 1999. — Т. 1, № 1. — С. 19-23.

Надійшла до редакції 22.03.2011