

ВПЛИВ СУБХРОНІЧНОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ ЕСТРАЗИНУ НА ПЕРЕБІГ ПРО- І АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ ТА РОЗВИТОК МЕТАБОЛІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ

Н.В. Мельниківська, к.біол.н.

Державна установа "Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України", м. Харків

РЕЗЮМЕ. Досліджено вплив субхронічної епікутанної і пероральної експозиції естразину — нового засобу з антиандрогенною дією, що призначений для лікування раку передміхурової залози — на процеси перекисного окиснення ліпідів, стан системи антиоксидантного захисту та розвиток метаболічної інтоксикації в організмі щурів. Доведено, що за умов проведених експериментів естразин викликає дисбаланс про- і антиоксидантної системи та сприяє зростанню концентрації середньомолекулярних пептидів в плазмі крові, за рахунок чого порушується цілісність мембран еритроцитів піддослідних тварин.

Ключові слова: естразин, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, середньомолекулярні пептиди.

РЕЗЮМЕ. Исследовано влияние субхронической эпикутанной и пероральной экспозиции эстразина — нового средства с антиандрогенным действием, предназначенного для лечения рака предстательной железы — на процессы перекисного окисления липидов, состояние системы антиоксидантной защиты и развития метаболической интоксикации в организме крыс. Доказано, что при всех условиях проведения экспериментов эстразин вызывает дисбаланс про- и антиоксидантной системы и способствует повышению концентрации среднимолекулярных пептидов в плазме крови, за счет чего нарушается целостность мембран эритроцитов подопытных животных.

Ключевые слова: эстразин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, среднимолекулярные пептиды.

SUMMARY. It has been studied the effect of subchronic subcutaneous and oral exposure for estrasin a new product with antiandrogenous action, designed to treat prostate cancer — on the processes for peroxide oxidation of lipids, the status of the antioxidant system and development of metabolic intoxication in the bodies of the rats. It has been proved that under all conditions of the experiments estrasin causes an imbalance of pro- and antioxidants system and it leads to increasing the concentrations of medium molecules peptides in blood plasma, as a result it destroys the integrity of erythrocyte membranes of the experimental animals.

Key words: estrasin, peroxide oxidation of lipids, antioxidant system, medium molecules peptides.

В наш час значно зросла захворюваність серед чоловіків на рак передміхурової залози (РПЗ), який становить понад 4 % від усіх форм онкопатології. Основна категорія хворих — чоловіки віком 60-70 років. Катастрофічне зростання РПЗ реєструється в усіх країнах Європи, США, Канаді. Підтвердженням цього є невтішна загальноєвропейська статистика [1]. В Україні та Росії також спостерігається поширення цієї недуги, адже кількість хворих за останні 10 років збільшилася на 86%.

Відомо, що РПЗ відноситься до гормонозалежних пухлин, у зв'язку з чим на пізніх стадіях захворювання використовують гормонотерапію, а саме естрогенотерапію, яка дозволяє одержати паліативний клінічний ефект у 70 — 80 % хворих з регресією пухлини у 30-40 %. У деяких випадках раніше неоперабельна пухлина після лікування естрогенами може бути видалена хірургічним шляхом [2].

Незважаючи на те, що антиканцерогенні препарати інших груп, а саме гормоноцитостатики, антиандрогени, аналоги рилізінг-гормонів тощо поступово витискають гормональні препарати з арсеналу хіміотерапії РПЗ, нині у разі зазначеної патології використовують доволі широкий спектр естрогенних про-

типухлинних засобів: діетилстильбестрол, синестрол, етинілестрадіол (мікрофолін), хлортріанізен (ТАСЕ), естрадурин та ін.

Синтезований в Державній установі "Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України" протипухлинний засіб з антиандрогенною активністю, призначений для лікування РПЗ — естразин (ЕС), є похідним природного гормону естрону (фолікуліну): 3-окси-естра-1,3,5-трієн-17-гідрозон. Модифікуючим фрагментом гормону є гідразонова група. На сьогодні вирішується питання щодо промислового виробництва ЕС на одному із вітчизняних фармацевтичних підприємств.

В експериментах доведено, що ЕС має естрогенну активність та проявляє виражений антиандрогенний ефект у вигляді зменшення маси вентральної простати, сім'яників та сім'яних міхурців. Особливістю фармакодинаміки сполуки є здатність проявляти тривалу гормональну та протипухлинну дію [3]. Але при дослідженні особливостей токсикодинаміки ЕС при різних шляхах надходження до організму щурів виявлено дуже небезпечний токсикологічний профіль сполуки у вигляді пошкоджуючої дії на периферійну кров, функцію печінки та нирок, репродуктивну,

серцево-судинну та нервову системи. Цілком доцільним виявляється припущення, що в основі зазначених порушень лежить дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та розвиток метаболічної інтоксикації в організмі. Відомо, що порушення в системі перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту (АОЗ) є універсальним або неспецифічним пусковим механізмом розвитку різноманітних патологічних процесів, які виникають в організмі внаслідок екзогенного впливу ксенобіотиків, у тому числі й лікарських препаратів. Таким чином, з'ясування особливостей токсикогенезу ЕС з урахуванням універсальних механізмів розвитку функціонально-метаболічних порушень та визначення критеріїв оцінки/прогнозування токсичної дії даного лікарського засобу є своєчасним і актуальним.

Мета роботи. Дослідити стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та ступінь розвитку метаболічної інтоксикації у щурів за умов багаторазового надходження естрадину.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001) [4] на 40 щурах-самцях, яких утримували на звичайному збалансованому раціоні та вільному доступі до води в умовах віварію ДУ ІПЕП. Знеживлення тварин проводили методом декапітації під легким ефірним наркозом.

Вплив ЕС на процеси ПОЛ і АОЗ та розвиток метаболічної інтоксикації в організмі щурів вивчали на тлі субхронічного 20-разового епікутанного та 30-разового перорального надходження в дозі 250 мг/кг маси тіла, що становило 1/20 від ЛД₅₀ при пероральному введенні та нашкірному нанесенні сполуки [5].

Визначали вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів: дієнові кон'югати (ДК) у сироватці крові і гомогенаті печінки [6], речовини, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКАР) у цільній крові та гомогенаті печінки [7]. В якості інтегрального тесту стану процесів ПОЛ досліджували ступінь проникності еритроцитарних мембран або осмотичну резистентність еритроцитів [8]. Функціональну здатність системи АОЗ оцінювали за рівнем відновленого глутатіону [9] та активністю каталази [10].

Розвиток метаболічної інтоксикації в організмі тварин діагностували за концентрацією середньомолекулярних пептидів у плазмі крові (СМП) [11].

Фактичний матеріал обробляли методами варіаційної статистики [12]. Порівняння двох груп з нормальним розподілом ознак здійснювали із застосуванням t-критерію Стьюдента

для незалежних відбірок. Розходження вважали статистично значущим при $p < 0,05$ [13].

Результати та їх обговорення

При дослідженні про- та антиоксидантного гомеостазу в умовах епікутанного надходження ЕС виявлено значуще зростання вмісту первинних продуктів пероксидації — ДК в печінці та достовірне зниження рівня вторинних — ТБКАР як у крові, так і печінці (табл. 1). Збільшення рівня ДК у печінці піддослідних щурів, можливо, пов'язано з напругою метаболічних процесів у даному органі, що підтверджено зростанням коефіцієнту маси печінки. Відомо, що істотну роль у біотрансформації естрогенів відіграє центральний орган метаболізму — печінка, де відбувається як інактивація, так і активація естрогенів та перетворення естрогену в естріол. Крім того, в печінці руйнуються молекули естрогенів із втратою фенольної структури та розривом кільця А [14]. Зниження вмісту ТБКАР у крові та печінці піддослідних тварин відносно аналогічних параметрів контрольних щурів можна пояснити надходженням до організму щурів додаткової кількості естрогенів, зокрема екзогенних, які, як відомо, мають антиоксидантні властивості [15].

На тлі пероральної експозиції ЕС зафіксовано зниження вмісту в печінці як первинних, так і вторинних продуктів пероксидації, що може свідчити про зниження інтенсивності метаболічних процесів у даному органі, оскільки рівень перекисей ліпідів зазвичай вище в тканинах з високим ступенем метаболічної активності [16].

Аналіз стану системи АОЗ (табл. 1) виявив зниження активності каталази на фоні епікутанного надходження ЕС та зростання рівня відновленого глутатіону як за умов епікутанної, так і пероральної експозиції сполуки, яке, ймовірно, носить адаптаційний характер. Збільшення вмісту останнього запобігало, на нашу думку, накопиченню ТБКАР, а пригнічення активності каталази при нашкірному нанесенні ЕС сприяло зростанню рівня гідроперекисей.

За умов проведених експериментів зареєстровано порушення осмотичної стійкості клітин червоного кров'яного ростка (рис. 1, 2). Як видно з представлених кривих, незалежно від способу надходження ЕС у тварин піддослідних груп зафіксовано збільшення кількості гемолізованих еритроцитів, що свідчить про пошкодження їх мембран. Даний процес, ймовірно, відбувається не за рахунок надмірної кількості продуктів переокиснення ліпідів, продукція яких знаходиться під контролем системи АОЗ, а, можливо, внаслідок накопичення інших ендогенних токсинів. Дане припущення знайшло підтвердження при

Деякі показники ПОЛ та системи антиоксидантного захисту щурів при субхронічному надходженні естрадину, $\bar{X} \pm \bar{s}$

Показник	Епікутанне надходження				Пероральне надходження			
	n	Контроль	n	Контроль	n	Контроль	n	Контроль
ДК:								
- сироватка, мкмоль/мл	8	0,620±0,025	8	0,68±0,04	8	0,73±0,02	8	0,87±0,08
- печінка, мкмоль/г	8	62,3±6,4	8	87,2±5,7 ¹⁾	8	67,8±4,6	8	54,1±5,7 ²⁾
ТБКАР:								
- кров, мкмоль/мл	8	1,4±0,1	6	0,75±0,06 ¹⁾	8	1,04±0,09	8	1,06±0,17
- печінка, мкмоль/г	8	53,9±3,2	8	44,5±6,3 ¹⁾	8	78,9±5,8	4	28,5±2,9 ¹⁾
Глутатіон відновлений, мг/100 мл	8	16,7±2,0	8	23,8±1,4 ¹⁾	8	10,9±0,8	8	15,4±2,0 ²⁾
Каталаза, мкат/л/хв	8	8,6±0,3	8	6,02±0,42 ¹⁾	8	10,2±1,2	8	9,60±0,79

Примітки:

1. ¹⁾ — Відхилення значуще, ($p < 0,05$).

2. ²⁾ — Відхилення близьке до значущого, ($0,05 < p < 0,1$)

дослідженні відповідного показника розвитку метаболічної інтоксикації, а саме концентрації СМП, яка була значно більшою в плазмі крові піддослідних щурів у порівнянні з контрольними тваринами (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст середньомолекулярних пептидів (г/л) за умов субхронічного епікутанного та перорального надходження естрадину, $\bar{X} \pm \bar{s}$, n=8

Шлях введення			
Епікутанний		Пероральний	
Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
1,2±0,1	1,95±0,18 ¹⁾	0,50±0,03	1,96±0,40 ¹⁾

Примітки:

1. ¹⁾ — Відхилення значуще, ($p < 0,05$).

Згідно з існуючою концепцією [17] СМП можуть абсорбуватися на мембранах клітин, блокуючи наявні поверхневі рецептори. Наслідком подібного явища є лабільність мембран та порушення їхньої проникності, що і було зафіксовано при дослідженні осмотичної резистентності еритроцитів у вигляді зростання кількості гемолізованих еритроцитів у щурів піддослідної групи. З одного боку, підвищена концентрація ендогенних токсинів, якими є СМП, призводить до руйнування мембран клітин, з іншого — білкові молекули, які за умов неповноцінних мембран виходять із ци-

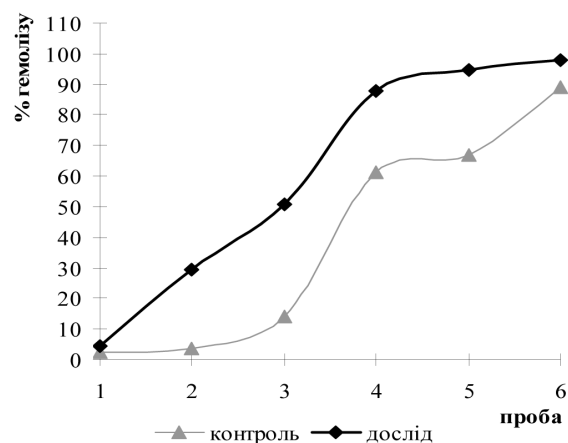


Рис. 1. Крива гемолізу еритроцитів щурів при субхронічному епікутанному надходженні естрадину.

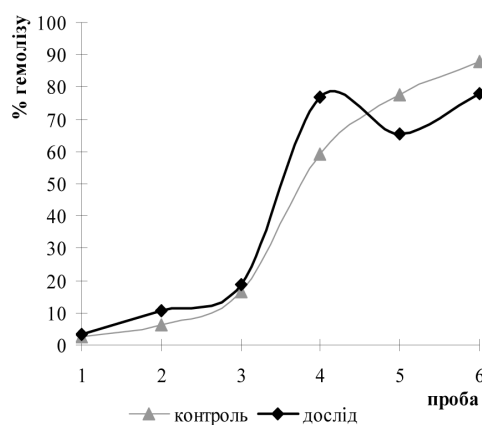


Рис. 2. Крива гемолізу еритроцитів щурів при субхронічному пероральному надходженні естрадину.

тозоля у міжклітинний простір, починають виконувати функції ендотоксинів. Отже, в організмі піддослідних тварин у такий спосіб відбувається формування синдрому метаболічної інтоксикації.

Таким чином, ЕС як за умов епікутанної, так і пероральної субхронічної експозиції порушує прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у щурів та сприяє накопиченню в організмі СМП, що, в свою чергу, призводить до пошкодження цілісності мембран еритроцитів. За результатами проведених досліджень рівень СМП можна обґрунтовано вважати одним із пріоритетних/лімітуючих критеріїв для характеристики пошкоджуючої дії протипух-

линних засобів з антиандрогенною активністю.

Висновки

1. Протипухлинний засіб ЕС на тлі субхронічної епікутанної і пероральної експозиції викликає дисбаланс про- та антиоксидантної системи.

2. Незалежно від умов проведення субхронічних експериментів ЕС сприяє зростанню концентрації СМП у плазмі крові щурів, внаслідок чого порушується проникність мембран еритроцитів.

3. Концентрація СМП у плазмі крові може бути одним з прогностичних критеріїв токсичного впливу протипухлинного засобу ЕС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Steward W. P. New drugs in the treatment of non-small cell lung cancer / W. P. Steward, D. J. Dunlop // *Ann. Oncol.* — 1995. — Vol. 6, Suppl. 1. — P. 49 — 54.
2. Олійниченко П. И. Справочник по полихимиотерапии опухолей / П. И. Олійниченко, З. П. Булкина, Т. И. Синибарова. — К.: Здоров'я, 2000. — 301 с.
3. Эстразин — новый противоопухолевый препарат адресованного действия / З. С. Смирнова, Н. Д. Легов, В. И. Киселев [и др.] // *Вест. ОНЦ АМН России.* — 1996. — № 3. — С. 24 — 27.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія.* — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142 — 145.
5. Румянцев Г. И. Прогнозирование кожно-резорбтивных свойств новых химических веществ / Г. И. Румянцев, С. М. Новиков // *Гигиена и санитария.* — 1975. — № 4. — С. 91 — 95.
6. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот [Текст] / И. Д. Стальная, Г. Т. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 63 — 64.
7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Г. Т. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 73 — 78.
8. Камышников В. С. Клинико-биохимическая диагностика В 2 т. Т. 2 / В. С. Камышников. — Минск: Интерпрес-сервис, 2003. — С. 209 — 211.
9. Мишенева В. С. Наличие глутатиона в нормальных и опухолевых тканях человека и животных / В. С. Мишенева, Т. А. Горюхина // *Вопр. онко-логии* — 1968. — Т. 14, № 10. — С. 46 — 49.
10. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // *Лаб. дело.* — 1988. — № 1. — С. 16.
11. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // *Клинич. лаб. диагностика.* — 2004. — № 3. — С. 3 — 8.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; [пер. с англ. Ю. А. Данилова]. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
13. Атраментова Л. А. Статистические методы в биологии: учебник [для студентов высш. учебных заведений] / Л. А. Атраментова, О. М. Утевская. — Горловка: Вид-во Ліхтар, 2008. — 248 с.
14. Jamilis L. Rat testicular gem cells and epididymal sperm contain active P 450 aromatase / L. Jamilis, J. M. Bahr, R. A. Hess // *J. Androl.* — 1998. — Vol. 19. — P. 65 — 71.
15. Казимирко В. К. Функция ненасыщенных жирных кислот в организме Ч. 2. [Електронний ресурс] / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев // *Здоровье Украины.* — № 98. — 2004. — Режим доступа: <http://www.health-ua.com/articles/716.html>
16. Кучеренко Н. Е. Липиды / Н. Е. Кучеренко, А. Н. Васильев. — К.: Вища школа, 1985. — 247 с.
17. Копитова Т. В. Исследование сорбционной емкости мембран эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах / Т. В. Копитова // *Клинич. лаб. диагностика.* — 2006. — № 1. — С. 18 — 19.

Надійшла до редакції 22.02.2012 р.