

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ СУКЦИНАМИДОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ КРЫС

И.А. Палагина, кандидат биол. наук

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков, Украина

РЕЗЮМЕ. Производные дикарбоновых кислот, которые обладают широким спектром биологической активности, служат основой для разработки оригинальных лекарственных средств метаболического типа действия. Их безопасность для здоровья определяется при токсикологической экспертизе.

Цель. Оценить влияние антидиабетического средства и двух его метаболитов, относящихся к сукцинамидам, на биохимические показатели состояния печени крыс в подостром эксперименте.

Материалы и методы. Сукцинамиды вводили крысам перорально 30-кратно. Биоматериалом служили сыворотка крови, гомогенат и митохондрии печени. Определяли маркерные ферменты цитолиза, энергетического метаболизма и антиоксидантной защиты (АОЗ), показатели обмена оксида азота (NO), перекисного окисления липидов (ПОЛ) и протеинов.

Результаты. Субхроническое воздействие антидиабетического средства – производного янтарной кислоты приводит к повышению активности энергетического обмена, замедлению NO-синтазного метаболизма NO и процессов ПОЛ в печени. При этом отмечаются признаки снижения резервно-адаптационных возможностей печени в виде некоторого ослабления АОЗ и увеличения интенсивности индуцированной окислительной модификации протеинов. Действие метаболитов данного соединения, относящихся к сукцинамидам, на показатели состояния печени проявляется по-разному. Эффекты одного из них по природе и направленности во многом совпадают с исходным соединением, а другого – противоположны.

Вывод. Сукцинамиды оказывают влияние на течение метаболических процессов в печени, вызывая изменения активности энергетического обмена, свободнорадикального окисления и метаболизма NO.

Ключевые слова: сукцинамиды, субхроническое воздействие, метаболическая активность печени.

Одним из приоритетных направлений современной фармакологии является поиск близких к природным метаболитам лекарственных средств, обладающих политропным действием, способных эффективно восстанавливать нарушенные биохимические процессы и стимулировать механизмы метаболической адаптации, а также имеющих низкую токсичность или практически нетоксичных. С учетом широкого спектра биологической активности особо выделяются производные янтарной кислоты (ЯК), на основе которых разработаны оригинальные лекарственные препараты, обладающие энергостимулирующим, мембраностабилизирующим, антиоксидантным, детоксикационным и антигипоксическим эффектом. Как известно, ЯК – это метаболит цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Этот центральный цикл обмена связывает гликолиз с электронно-транспортной дыхательной цепью и является важным источником молекул-предшественников для синтеза аминокислот, углеводов и жирных кислот. Сукцинатсодержащие препараты служат донорами ЯК, что в определенной степени

влияет на проявления их разнообразной фармакологической активности [1, 2].

К производным ЯК принадлежит соединение с антидиабетическими свойствами – β -фенилэтиламид 2-оксисукцинаниловой кислоты (β -ФЭА-ОСАК), синтезированное в ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского НАМН Украины». На основе данного соединения разработано антидиабетическое средство, механизмы действия которого связаны с улучшением биоэнергетических процессов, угнетением окислительного стресса в митохондриях и снижением неферментативного гликозилирования [3]. Установлены метаболиты I фазы биотрансформации β -ФЭА-ОСАК: 2-гидроксифенилсукцинамид (2-ГФСА) и β -фенилэтил-сукцинамид (β -ФЭСА), которые также относятся к производным ЯК и могут влиять на специфические и токсические эффекты исходного соединения.

На этапе доклинических исследований новых лекарственных средств проводится токсикологическая экспертиза, позволяющая прогнозировать их возможное неблагоприятное влияние на здоровье человека

при використанні. Для оцінки потенціального ризику лікарських засобів досліджується стан найбільш чутливих до їх впливу ланок метаболічного гомеостазу, причому в першу чергу тих, які грають ключову роль в механізмах токсичного впливу ксенобіотиків і відображають рівень адаптивних резервів організму [4].

Один з універсальних механізмів токсичності – це активація процесів вільнорадикального окислення біомолекул, угнетення антиоксидантної захисту, порушення метаболізму оксиду азоту, запускання цілого ряду наступних метаболічних порушень в організмі [5]. Найбільш активно біохімічні процеси протікають в печінці, граючій центральну роль в метаболізмі і інактивації більшості лікарських засобів. Однак печінка, яка має високу сорбційну активність, може піддаватися і пошкодуючому впливу з боку препаратів або їх токсичних метаболітів, що проявляється змінами біохімічного статусу органу і втягує за собою порушення його функцій, в першу чергу детоксифікуючої. Враховуючи мультифункціональність печінки, порушення її діяльності може призводити до змін функціонального стану багатьох органів і систем, включаючи щитовидну і підшлункову залозу, нирки, серцево-судинну, репродуктивну і імунну систему [6].

В аспекті виявлення можливих побічних ефектів потенціальних лікарських засобів – похідних янтарної кислоти значущий інтерес представляє вивчення їх впливу на метаболічну активність печінки.

Ціль роботи – оцінити вплив антидіабетичного засобу і двох його метаболітів, що належать до сукцинамідів, на біохімічні показники стану печінки мишей в підострому експерименті.

Матеріали і методи дослідження

Підострий експеримент виконувався на 96 нелінійних білих мишах-самцях масою 190–210 г. Маніпуляції з тваринами, їх етаназію проводили в відповідності з «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

Підопытним мишам вводили перорально 30-кратно β-ФЭА-ОСАК і його метаболіти – 2-ГФСА і β-ФЭСА в формі водної емульсії з твін-80 в дозах 100 мг/кг маси тіла (м.т.), 68 мг/кг м.т. і 72 мг/кг м.т., відповідно. Дози метаболітів розраховували як еквімолярні дозуванню β-ФЭА-ОСАК. Контрольні миші отримували водну емульсію твін-80. Забій тварин здійснювали декапітацією під легким ефірним наркозом через 24 години після останнього введення речовин. Підопытні і контрольні групи нараховували по 8 тварин. Біохімічні показники визначали в гомогенаті і фракції мітохондрій печінки, окремі – в сироватці крові.

Для оцінки функціонального стану гепатоцитів визначали активність аланінової (АЛТ) (КФ 2.6.1.2) і аспарагінової (АСТ) (КФ 2.6.1.1) амінотрансфераз в гомогенаті печінки і сироватці крові, активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27) в сироватці крові з використанням стандартних наборів реактивів «Філісит-Діагностика» (Україна).

О стані енергетичного обміну судили по активності сукцинат-дегідрогенази (СДГ) (КФ 1.3.99.1) і цитохром-с-оксидази (ЦХО) (КФ 1.9.3.1) в фракції мітохондрій печінки, отриманої методом диференціального центрифугування в градієнті густоти 0,3 М сахарози (рН = 7,4) [7, 8].

Інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), гідроперекисей ліпідів (ГПЛ) і активних сполучень, що реагують з тібобарбітуровою кислотою (ТБКАС) в 10 % гомогенаті печінки [9–11]. Оцінювали також ступінь спонтанної і метал-каталізуваної окислювальної модифікації білків (ОМП). Для цього визначали вміст в 5 % гомогенаті печінки кінцевих продуктів ОМП: алифатических альдегід- і кетондинітрофенілгідразонів нейтрального і основного характеру, які утворюються в реакції з 2,4-динітрофенілгідразіном (2,4-ДНФГ) [12]. Досліджували антиоксидантний статус печінки за зміною активності глутатіонпероксидази (ГП) (КФ 1.11.1.9) [13], глутатіонтрансферази (ГТ) (КФ 2.5.1.18)

[12], каталазы (КФ 1.11.1.6) [14], супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.1) [12].

Концентрацию стабильных метаболитов оксида азота (NO): нитрит-анионов (NO_2^-) и нитрат-анионов (NO_3^-) в 5 % гомогенате печени исследовали спектрофотометрически с помощью реактива Грисса [15]. Регистрировали изменения активности NO-синтазы (NOS) (КФ 1.14.13.19) в 10 % гомогенате печени по скорости окисления NADPH^+H^+ [16]. Уровень белка в гомогенате печени определяли методом М. Бредфорда [17].

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ Anova. Нормальность распределения в рядах определяли по критерию Шапиро-Уилка (W). Для парного сравнения групп опыта с контролем использовали критерий Стьюдента. Результаты представлены как среднее арифметическое и его статистическая ошибка. Достоверными считали данные при $p \leq 0,05$ и близкими к статистически значимым при $0,05 < p \leq 0,1$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что при подостром воздействии β -ФЭА-ОСАК и двух его метаболитов активность маркерных ферментов печеночного цитолиза АЛТ и АСТ в сыворотке крови не изменяется, а в случае введения β -ФЭА активность АЛТ имеет тенденцию к снижению. Эти данные могут косвенно указывать на то, что изученные сукцинамиды не вызывают изменений проницаемости мембран гепатоцитов, сопровождающихся выходом аминотрансфераз из клетки. В печени на фоне введения β -ФЭА-ОСАК отмечается повышение активности АЛТ и тенденция к росту активности АСТ, что, очевидно, является следствием усиления синтеза данных ферментов при активации процесса обновления протеинов (табл.). Однако изменения активности аминотрансфераз в печени не отражаются на данном виде активности в целостном организме. В печени содержится максимальное количество АЛТ и выявленные изменения его активности могут служить индикатором интенсификации процессов в периферической зоне метаболизма, особенно протеинового.

Под действием β -ФЭА-ОСАК в гепатоцитах происходит стимуляция реакции

трансаминирования аланина, что может приводить к увеличению образования пирувата и глутамата. Известно, что первый продукт реакции частично окисляется в ацетил-КоА, поступающий в ЦТК, и частично превращается в глюкозу в процессе глюконеогенеза, а второй – является одним из основных участников цикла мочевины [18]. В случае β -ФЭА-ОСАК повышение активности АЛТ, по-видимому, является адаптивным и может быть связано с регулирующей ролью фермента в белковом и углеводном обмене, а также в процессе обезвреживания аммиака. Менее интенсивный прирост активности АСТ сравнительно с АЛТ служит показателем более медленного темпа интенсификации центральных путей метаболизма, близких к ЦТК.

Зарегистрировано также увеличение на 47 % активности ЛДГ в сыворотке крови, что в сочетании с ростом активности печеночной АЛТ может быть связано с обеспечением утилизации в печени лактата, уровень которого был повышен (до $5,34 \pm 0,40$ ммоль/л в опыте против $3,71 \pm 0,19$ в контроле). На этом фоне под воздействием β -ФЭА-ОСАК в митохондриях печени заметно повышается активность ЦХО (терминальный комплекс IV дыхательной цепи переноса электронов), которая служит важным индикатором усиления аэробного энергетического метаболизма. Возможно, повышенная потребность тканей в кислороде из-за изменений обмена веществ могла послужить одной из причин увеличения уровня лактата, что стимулировало компенсаторные процессы его утилизации в печени, обеспечивая сбалансированность внутриклеточного метаболизма. В то же время при активации дыхательной цепи митохондрий становится доступным NAD^+ , необходимый для окисления излишнего лактата.

Учитывая, что ЦХО, ЛДГ, АЛТ обладают способностью быстро реагировать на изменения внутриклеточного метаболизма при воздействии лекарственных средств, интоксикациях и патологических состояниях, повышение их активности указывает на свойство β -ФЭА-ОСАК стимулировать метаболическую активность печени, включая усиление отдельных этапов энергетического обмена.

Показатели биохимического статуса печени крыс при субхроническом воздействии β -фенилэтиламида 2-оксисукциниловой кислоты (β -ФЭА-ОСАК), 2-гидроксифенилсукцинамида (2-ГФСА) и β -фенилэтилсукцинамида (β -ФЭСА), ($X \pm Sx$)

Показатели	Контроль 1	β -ФЭА-ОСАК, 100 мг/кг	Контроль 2	2-ГФСА, 68 мг/кг	Контроль 3	β -ФЭСА, 72 мг/кг
<i>сыворотка крови</i>						
АЛТ, мккат/л	0,71 \pm 0,05	0,62 \pm 0,05	0,51 \pm 0,03	0,57 \pm 0,02	0,51 \pm 0,03	0,43 \pm 0,02**
АСТ, мккат/л	0,91 \pm 0,03	0,83 \pm 0,04	0,92 \pm 0,02	0,95 \pm 0,01	0,75 \pm 0,02	0,79 \pm 0,03
ЛДГ, мккат/л	7,00 \pm 0,91	10,3 \pm 0,8*	5,93 \pm 0,80	5,03 \pm 0,57	2,85 \pm 0,41	2,14 \pm 0,24
<i>митохондрии печени</i>						
СДГ, нмоль/мин \cdot мг протеина	14,9 \pm 2,9	16,7 \pm 2,5	13,8 \pm 1,7	8,1 \pm 1,1*	13,2 \pm 1,7	12,7 \pm 2,5
ЦХО, Ед.О ₂ \cdot 10 ⁻² /мин \cdot мг протеина	1,96 \pm 0,09	2,80 \pm 0,43**	1,22 \pm 0,14	1,23 \pm 0,11	1,15 \pm 0,15	1,12 \pm 0,12
<i>гомогенат печени</i>						
АЛТ, мкмоль/мин \cdot г ткани	14,2 \pm 1,5	24,7 \pm 2,1*	30,3 \pm 3,3	28,4 \pm 2,8	16,8 \pm 1,8	15,6 \pm 1,8
АСТ, мкмоль/мин \cdot г ткани	20,0 \pm 0,9	22,6 \pm 0,9**	24,7 \pm 0,7	23,4 \pm 0,3	17,1 \pm 0,7	17,3 \pm 0,7
ГП, нмоль/мин \cdot мг протеина	143,9 \pm 6,4	113,9 \pm 1,7*	164,1 \pm 27,9	153,6 \pm 21,9	102,0 \pm 8,8	79,0 \pm 7,7**
ГТ, нмоль/мин \cdot мг протеина	45,6 \pm 3,8	36,7 \pm 0,66*	57,8 \pm 7,6	71,9 \pm 8,0	78,5 \pm 8,4	88,8 \pm 10,4
Каталаза, нкат/мг протеина	4,68 \pm 0,30	3,58 \pm 0,09*	3,79 \pm 0,63	3,03 \pm 0,35	3,41 \pm 0,20	4,15 \pm 0,22*
СОД, усл. ед./мин \cdot мг протеина	284,2 \pm 25,4	274,8 \pm 17,5	377,7 \pm 81,8	460,9 \pm 73,8	427,6 \pm 50,2	361,8 \pm 36,3
ДК, нмоль/мг протеина	0,22 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01*	0,18 \pm 0,02	0,19 \pm 0,03	0,14 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01
ТБКАС, нмоль/мг протеина	0,31 \pm 0,03	0,20 \pm 0,02*	0,26 \pm 0,03	0,39 \pm 0,07	0,43 \pm 0,03	0,52 \pm 0,03**
ГПЛ, нмоль/мг протеина	0,53 \pm 0,05	0,53 \pm 0,04	0,38 \pm 0,06	0,55 \pm 0,10	0,53 \pm 0,05	0,48 \pm 0,05
Спонтанная ОМП, Ед.А/г протеина: КП ₃₅₆	111,1 \pm 7,2	113,2 \pm 6,1	102,0 \pm 10,7	81,3 \pm 9,0	114,6 \pm 4,9	145,4 \pm 13,5**
КП ₃₇₀	109,8 \pm 8,2	112,8 \pm 5,7	100,1 \pm 10,5	80,7 \pm 8,6	108,5 \pm 4,9	135,2 \pm 11,6**
КП ₄₃₀	35,0 \pm 3,2	30,4 \pm 4,3	47,9 \pm 4,4	28,8 \pm 3,1*	42,7 \pm 3,0	66,3 \pm 2,8*
КП ₅₃₀	11,5 \pm 0,7	19,0 \pm 1,3*	9,1 \pm 0,5	5,2 \pm 0,7*	8,31 \pm 0,72	13,6 \pm 2,1*
Fe ²⁺ -индуцированная ОМП, Ед.А/г протеина: КП ₃₅₆	216,4 \pm 3,9	239,0 \pm 4,0*	180,0 \pm 22,4	228,0 \pm 39,0	251,6 \pm 18,7	242,0 \pm 18,5
КП ₃₇₀	214,9 \pm 4,4	233,2 \pm 6,6*	192,6 \pm 27,4	234,3 \pm 39,2	252,0 \pm 17,9	247,2 \pm 17,5
КП ₄₃₀	120,9 \pm 3,0	125,7 \pm 7,5	146,5 \pm 23,3	162,2 \pm 26,2	162,6 \pm 10,7	169,8 \pm 11,1
КП ₅₃₀	28,7 \pm 3,2	42,5 \pm 4,0*	25,8 \pm 4,2	36,7 \pm 6,5	24,4 \pm 2,6	23,8 \pm 3,9
NO ₂ ⁻ , нмоль/мг протеина	60,7 \pm 4,0	40,2 \pm 4,7*	35,0 \pm 2,6	29,5 \pm 2,3	40,7 \pm 2,8	33,4 \pm 3,2**
NO ₃ ⁻ , нмоль/мг протеина	58,7 \pm 3,2	41,5 \pm 4,5*	51,8 \pm 3,7	40,0 \pm 6,5	60,1 \pm 4,1	50,0 \pm 4,6
NOS, нмоль NADPH/мин \cdot мг протеина	2,51 \pm 0,34	1,42 \pm 0,17*	3,73 \pm 0,34	3,09 \pm 0,37	5,15 \pm 0,75	3,48 \pm 0,43**

Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $0,05 < p \leq 0,1$; Ед.А – единицы абсорбции, КП – карбонилированные протеины.

Субхроническое влияние 2-ГФСА на состояние энергетических процессов, в отличие от β -ФЭА-ОСАК, проявляется в виде снижения на 41,3 % активности СДГ в митохондриях печени животных (табл.). Этот сдвиг свидетельствует о замедлении скорости окисления сукцината в ЦТК и может быть следствием нарушения функционирования энзима. Выявленное при воздействии β -ФЭСА уменьшение в физиологических пределах активности АЛТ указывает на снижение выхода молекул энзима из гепатоцитов, по-видимому, связанное с адаптивными перестройками белкового обмена и ферментобразующих процессов. Учитывая отмеченные изменения исследуемых показателей, действие метаболитов β -ФЭА-ОСАК, очевидно, не сказывается на проявлениях энергостимулирующей активности данного соединения.

Исследованиями состояния антиоксидантной защиты (АОЗ) выявлено некоторое ослабление ее ферментного звена под влиянием сукцинамидов. Субхроническое введение β -ФЭА-ОСАК и одного из его метаболитов — β -ФЭСА приводит к снижению активности ГП в гомогенате печени крыс. В случае β -ФЭА-ОСАК в печени также снижается активность каталазы и ГТ (табл.). В условиях снижения активности АОЗ могут накапливаться реакционноактивные перекисные радикалы, способные повреждать биомолекулы: белки, липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты, что вызывает метаболические нарушения. При воздействии β -ФЭСА активность каталазы, наоборот, возрастает, что, по всей видимости, компенсирует падение активности ГП, близкой к каталазе по функциональному назначению.

Наряду с изменениями в системе АОЗ под воздействием сукцинамидов отмечаются изменения интенсивности окислительных процессов в ткани печени. При воздействии β -ФЭА-ОСАК наблюдается замедление интенсивности ПОЛ, судя по снижению на 23 % уровня ДК и больше чем на треть уровня ТБКАС, что, очевидно, связано с затратами резервов АОЗ, проявляющимися в виде снижения активности некоторых энзимов данной системы (табл.). Уменьшение концентрации продуктов ПОЛ, в свою очередь, могло регулировать степень активности антиоксидантных энзимов в печени [6].

Вместе с тем, на фоне введения β -ФЭА-ОСАК в печени на фоне синхронно снижению активности ПОЛ повышается спонтанный и Fe^{2+} -индуцированный уровень карбонилированных протеинов (КП) при 530 нм, в меньшей степени — уровень КП при 356 и 370 нм (КП₃₅₆, КП₃₇₀) в условиях Fe^{2+} -индукции протеинового окисления (табл.). Полученные результаты указывают, что в условиях субхронической экспозиции данного соединения усиливается окислительная деструкция протеинов, преимущественно касающаяся КП₅₃₀ — алифатических кетон-динитрофенилгидразонов основного характера, которые утрачивают свою функциональную активность в процессе агрегации молекул протеинов.

При введении β -ФЭСА в печени также выявлено повышение активности спонтанной ОМП, которое охватывает все исследованные фракции КП, но наиболее выраженное для КП₅₃₀ и КП₄₃₀, модифицированных по аминокислотным остаткам основного характера. Под воздействием 2-ГФСА спонтанный уровень КП₅₃₀ и КП₄₃₀, наоборот, снижается (табл.).

Таким образом, субхроническое воздействие β -ФЭА-ОСАК и β -ФЭСА приводит к усилению ОМП. Образование избытка КП в случае введения β -ФЭА-ОСАК могло в некоторой степени повлиять на снижение интенсивности ПОЛ, проявляя тем самым вторичный «антиоксидантный эффект».

Стимулированное изолированным введением β -ФЭА-ОСАК и β -ФЭСА возрастание уровня разных фракций КП в печени при снижении активности антиперекисных энзимов (ГП, в случае β -ФЭА-ОСАК и каталазы), возможно, обусловлено торможением NO-синтазного пути метаболизма NO, что характеризуется снижением в 1,8 и 1,5 раза активности NOS, на 34 % и 29 % уровня NO_2^- и NO_3^- для первого соединения, на 18 % и 17 % — для второго (табл.). При этом содержание метаболитов NO в печени снижается в меньшей степени сравнительно с активностью NOS, что, очевидно, связано с их частичным восстановлением в нитрит-/нитрат-редуктазных реакциях замкнутого цикла метаболизма NO или за счет включения других компенсаторных механизмов [19].

Можно констатировать, что при субхро-

нической экспозиции сукцинамиды β -ФЭА-ОСАК и β -ФЭСА влияют на состояние окислительного гомеостаза, вызывая снижение активности NO-синтазного метаболизма NO и ГП, что сопровождается замедлением процесса ПОЛ в первом случае, но при этом наблюдается стимуляция отдельных реакций ОМП в печени при изолированном воздействии обоих соединений. Увеличение деградации протеинов может реализовываться по свободнорадикальному механизму вследствие стимуляции активности дыхательной цепи митохондрий, в частности, β -ФЭА-ОСАК способен повышать активность ЦХО. Недостаточный синтез NO, выявленный при воздействии β -ФЭА-ОСАК и β -ФЭСА, также может способствовать усилению ОМП, следствием которого может быть свободнорадикальное повреждение мембран клеток. Противоположное действие 2-ГФСА в отношении интенсивности ОМП, очевидно, обусловлено его ингибирующим влиянием на СДГ, с активностью которой тесно связана работа дыхательной цепи митохондрий.

Выводы

1. При субхроническом введении в дозе 100 мг/кг м.т. β -фенилэтиламин 2-оксисукцинаниловой кислоты (β -ФЭА-ОСАК) стимулирует метаболическую активность печени путем усиления отдельных звеньев энергетического, белкового и углеводного обмена, признаками чего служат повышение активности ЦХО, ЛДГ,

АЛТ и АСТ. Метаболиты соединения: 2-гидроксифенилсукцинамид (2-ГФСА) и β -фенилэтилсукцинамид (β -ФЭСА), в эквивалентных дозах: 68 мг/кг м.т. и 72 мг/кг м.т., не обладают подобным действием.

2. Субхроническое введение β -ФЭА-ОСАК приводит к снижению интенсивности ПОЛ и замедлению NO-синтазного обмена NO, что сопровождается признаками снижения резервно-адаптационных возможностей печени в виде ослабления ферментного звена АОЗ и усиления образования отдельных фракций карбонильных производных протеинов.

3. Направленность действия β -ФЭСА в дозе 72 мг/кг м.т. на такие биохимические показатели состояния печени, как уровень продуктов обмена NO, активность ГП и интенсивность ОМП совпадает с β -ФЭА-ОСАК, метаболитом которого он является, и может в некоторой степени отражаться на соответствующих видах активности исходного соединения.

4. Введение 2-ГФСА в дозе 68 мг/кг м.т. характеризуется снижением спонтанного уровня ОМП в печени, которое синхронизировано и в определенной степени связано с ингибированием митохондриальной СДГ и, следовательно, торможением реакций окисления сукцината в ЦТК, что может отражаться на состоянии дыхательной цепи митохондрий печени, т. е. 2-ГФСА не оказывает влияния на установленные проявления активности β -ФЭА-ОСАК, метаболитом которого он является.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яснецов В.В. Исследование влияния сукцинатсодержащих препаратов на дыхание митохондрий клеток головного мозга крыс / В.В. Яснецов, Е.П. Просвириова, Е.Г. Цублова // Экспер. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 7. – С. 8–10.
2. Зарубина И.В. Антигипоксические и антиоксидантные эффекты экзогенной янтарной кислоты и аминокислотных сукцинатсодержащих антигипоксантов / И.В. Зарубина, М.В. Лукк, П.Д. Шабанов // Бюл. эк-спер. биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 3. – С. 313–317.
3. Горбенко Н.І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукцинала в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження) / Автореф. дис.... д-ра біол. наук. – Х., 2004. – 36 с.
4. Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекомендации / под ред. А.В. Стефанова. – К.: Авицена, 2002. – С. 77–218.
5. Guengerich F.P. Mechanisms of drug toxicity and relevance to pharmaceutical development / F. Guengerich // Drug Metab Pharmacokinet. – 2011. – V. 26, N 1. – P. 3–14.
6. The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity / B.K. Park, N.R. Kitteringham, J.L. Maggs [et al.] // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2005. – N 45. – P. 177–202.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учебное пособие / под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 263 с.
8. Рыбальченко В.К. Структура и функции мембран: практикум / В.К. Рыбальченко, М.М. Коганов. – К.: Вища школа, 1988. – 312 с.
9. Плацер З. Определение диеновых конъюгатов и общих гидроперекисей в биологических материалах

- / 3. Плацер, М. Видлакова, Л. Купила // Чехосл. мед. обзор. – 1970. – Т. 16, № 1. – С. 30 – 34.
10. Asakawa T. Colorings conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushite // Lipids. – 1980. – V. 15. – P. 137 – 140.
 11. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Соврем. методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66 – 68.
 12. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. рекомендации / [А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина]; под ред. В.Х. Хавинсона. – СПб: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
 13. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Метод. рекомендації / [Л.М. Овсяннікова та ін.]. – К., 1999. – С. 7 – 8.
 14. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.
 15. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях (инструкция по применению) / А.П. Солодков, И.С. Веремей, С.С. Осочук [и др.]. – Витебск: [Б.и.], 2001. – 9 с.
 16. Сумбаев В.В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В.В. Сумбаев, И.М. Ясинская // Соврем. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3 – 7.
 17. Гаспаров В.С. Определение белка по связыванию с красителем Кумасси бриллиантовым голубым G-250 / В.С. Гаспаров, В.Г. Дегтярь // Биохимия. – 1994. – Т. 59, вып. 6. – С. 763 – 775.
 18. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты / А.А. Евглевский, Г.Ф. Рыжкова, Е.П. Евглевская [и др.] // Вестник Курской сельхоз. академии. – 2013. – № 9. – С. 67 – 69.
 19. Роль оксида азота в регуляции работы миокарда: цикл оксида азота и NO-синтазные системы в миокарде / В.П. Реутов, Е.А. Гоженко, В.Е. Охотин [и др.] // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – № 4(10). – С. 89 – 112.

ТОКСИКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ СУКЦИНАМІДІВ НА МЕТАБОЛІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

І.А. Палагіна

ДП «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», м. Харків, Україна

РЕЗЮМЕ. Похідні дикарбонових кислот, які мають широкий спектр біологічної активності, служать основою для розробки оригінальних лікарських засобів метаболічного типу дії. Їх безпеку для здоров'я визначають під час токсикологічної експертизи.

Мета. Оцінити вплив антидіабетичного засобу та двох його метаболітів, які належать до сукцинамідів, на біохімічні показники стану печінки щурів у підгострому експерименті.

Матеріали та методи. Сукцинаміди вводили щурам перорально 30-разово. Біоматеріал досліджень – сироватка крові, гомогенат і мітохондрії печінки. Визначали маркерні ензими цитолізу, енергетичного метаболізму та антиоксидантного захисту (АОЗ), показники обміну оксиду азоту (NO), перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та протеїнів.

Результати. Субхронічний вплив антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти призводить до підвищення активності енергетичного обміну, уповільнення NO-синтазного метаболізму NO та процесів ПОЛ у печінці. При цьому спостерігаються ознаки зниження резервно-адаптаційних можливостей печінки у вигляді деякого послаблення АОЗ та підвищення інтенсивності індукованої окислювальної модифікації протеїнів. Дія метаболітів даної сполуки, які відносяться до сукцинамідів, на показники стану печінки проявляється по-різному. Ефекти одного з метаболітів за природою та напрямком здебільшого співпадають з вихідною сполукою, а іншого – є протилежними.

Висновок. Сукцинаміди впливають на перебіг метаболічних процесів у печінці, викликаючи зміни активності енергетичного обміну, вільнорадикального окиснення та метаболізму NO.

Ключові слова: сукцинаміди, субхронічний вплив, метаболічна активність печінки.

TOXICOLOGICAL ASPECTS OF THE SUCCINAMIDES IMPACT ON METABOLIC ACTIVITY OF THE RAT LIVER

I. Palagina

SUMMARY. The dicarboxylic acids derivatives, which possess a broad spectrum of biological activity, serve a basis for the development of original drugs with a metabolic type of action. Their safety for the health is determined within a toxicological examination.

The aim of our study was to assess the impact of antidiabetic drug and its two succinamide metabolites on biochemical indices of the rat liver state within the subacute experiment.

Materials and Methods. Succinamides were administered to rats orally 30-fold. The biological material analyzed were the blood serum and the liver homogenate and mitochondria. We verified the marker enzymes of cytolysis, of energy metabolism and of the antioxidant protection (AOP) as well as the indices of the nitric oxide (NO) metabolism, of the lipid peroxidation (LPO) and protein peroxidation.

Results. The subchronic influence of an antidiabetic drug – succinic acid derivative proved to lead to an increase of the energy metabolism activity, and to a slowdown of the NO-synthase metabolism of nitric oxide and of the LPO processes in the liver. These processes were accompanied by signs of reduction in the reserveadaptive capacity of the liver expressed as a slight weakening of the AOP and intensification of the induced oxidative modification of proteins. Meanwhile, the effect of the succinamide metabolites of the studied compound on the performance status of the liver was manifested in different ways. The effects of one metabolite by their nature and focus largely coincided with the initial compound while of the other one were the reverse.

Conclusions. Succinamides affect the course of metabolic processes in the liver causing changes in the activity of the energy metabolism, free radical oxidation and NO metabolism.

Key words: succinamides, subchronic impact, metabolic activity of the liver.

Надійшла до редакції 25.09.2016 р.