

исследования было изучить количественные и фенотипические характеристики дендритных клеток (ДК) моноцитарного происхождения, используемые в качестве клеточной основы при проведении противоопухолевой иммунотерапии (ИТ) больных ТНПГЗ. Результаты нашего исследования показали, что генерируемые ДК больных ТНПГЗ имеют несколько сниженные количественные и функциональные показатели зрелости по отношению к показателям практически здоровых людей. Использование опухолевых антигенов, полученных из опухолевой клеточной линии MDA-MB-231, для нагрузки ДК больных дает возможность получить клетки достаточной степени зрелости, что подтверждено исследованием фенотипических характеристик ДК. С каждым последующим этапом проведения ИТ зрелость ДК увеличивается. Для достижения наиболее значимого клинического эффекта ИТ целесообразным является не менее 4-5 введений ДК.

**Ключевые слова:** трижды негативный рак молочной железы, иммунотерапия, дендритные клетки, опухолевая линия MDA-MB-231.

### PHENOTYPIC CHARACTERISTIC OF THE DENDRITIC CELLS GENERATED FROM PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN PATIENTS WITH TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER

Lyalkin S. A., Skachkova O. V., Gorbach O. I., Khranovska N. M., Syvak L. A., Vervovkina N. O.

**Abstract.** Triple-negative breast cancer (TNBC) is considered an aggressive cancer with the occurrence of early metastases and short follow-up period. TNBC was detected in 10-15% of breast cancer cases. The developing of the new treatment approaches for patients with TNBC is very important now. Immunotherapy (IT) is one of the perspective treatments in advanced TNBC, which is based on the activation and enhancement of the specific immune response to the tumor. Recent anti-tumor IT includes specific monoclonal antibodies (for example, checkpoint inhibitors) and adaptive cellular immunotherapy, which includes antitumor vaccines.

The potential interest of anti-tumor IT is presented the natural origin adjuvants, such as dendritic cells (DC) – the main antigen-presenting cells of the immune system.

*The aim* of the study was to investigate the quantitative and phenotypic characteristics of dendritic cells (DCs) derived from mononuclear peripheral blood cells, which may be used for antitumor therapy in TNBC patients.

*Object and methods.* IT based on DC was administered as adjuvant treatment for patients with advanced TNBC after the basic treatment. DC was generated from peripheral blood monocytes and loaded with lysate of MDA-MB-231 cells. The phenotypic analysis of the autologous generated DC and populations of peripheral blood lymphocytes was performed by flow cytometry. DCs generated from TNBC patients had slightly reduced quantitative and functional properties of maturity cells compared to cells from almost healthy people. Tumor antigens derived from MDA-MB-231 cell line can lead sufficient maturity of DCs, these data were confirmed by DCs phenotypic characteristics. The DC phenotype was analyzed by flow cytometry using monoclonal antibodies to CD83, CD86, HLA-ABC antigens labeled with FITC and antibodies to CD 11c, HLA-DR antigens labeled with PE (BectonCoulter, USA). DC phenotype was assessed at the initial (1-3 introduction of DC vaccine) and final stages (4-5 injections of DC vaccine) of IT in patients with TNBC. The phenotype analysis was performed on a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, USA) using Cell Quest-PRO software (Becton Dickinson, USA).

*Results.* DCs generated from peripheral blood monocytes of TNBC patients had the slightly reduced quantitative and functional parameters of maturity compared to cells in healthy people. So, the amount of CD86+HLA-DR + cells reached  $77.64 \pm 3.11\%$  and CD83+ cells –  $28.60 \pm 2.79\%$  before DC vaccine treatment and they are quite suitable for IT. Tumor antigens derived from the tumor cell line MDA-MB-231 contributed it possible to obtain sufficient mature DC with CD86 and HLA-DR high expression. The HLA-ABC expression was increased during DC vaccine immunotherapy confirming the enhancement of antigen cross-presentation. The number of HLA-ABC+ cells before IT reached  $88.43 \pm 3.34\%$  compared to  $92.99 \pm 0.79\%$  after IT. The maturity of DCs was increased after each subsequent stage of immunotherapy, so to achieve the most significant clinical effect of immunotherapy DC-vaccine must be administered at least 4-5 times. In our study, we developed methodological approach to obtaining the construct «DC-tumor antigen» as a natural adjuvant of antitumor vaccine for the treatment of advanced TNBC patients.

**Key words:** triple-negative breast cancer, immunotherapy, dendritic cells and MDA-MB-231 cells.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 04.05.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-128-132

УДК 616.36-0,02:599.323.4

Маслова Г. С.

### РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ФОРМУВАННІ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ІЗ НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

maslovaas1708@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Стаття є фрагментом НДР кафедри внутрішньої медицини № 1 Української медичної стоматологічної академії «Розробка методів профілактики та лікування медикаментозно-індукованих

уражень внутрішніх органів». № державної реєстрації теми 0115U001087.

**Вступ.** Важливим фактором протипухлинної дії антрациклінових антибіотиків, є потенціювання оксидативного стресу [1-4]. Доксорубіцин у всіх відсіках клітини включається у редокс-цикл, де підлягає

окисленню і відновленню із утворенням вільних радикалів кисню, що спричинюють пошкодження ДНК, уповільнюють продукцію макромолекул, зумовлюють розкручування та сепарацію ДНК [1,2]. Важливо, що активація вільнорадикального окислення (ВРО) складає основу як основного протипухлинного ефекту доксорубіцину, так і широкого спектру його токсичного впливу на органи і системи організму [1-8].

Максимальної вираженості токсичні ефекти доксорубіцину досягаються у тканинах серця, печінки, нирок і селезінки. Саме у паренхіматозних органах має місце високий ступінь накопичення доксорубіцину. У експериментальному дослідженні [8] з оцінки кардіо- і гепатотоксичності доксорубіцину, який вводили щурам у дозуванні 3,7 мг/кг/день впродовж 3-х днів, рівень накопичення препарату у серці склав  $707,25 \pm 227,16$  нг/г, печінці –  $370,25 \pm 117,52$  нг/г, нирках –  $217 \pm 66,7$  нг/г, селезінці –  $398,25 \pm 11,84$  гн/г. Отже, у тканинах серця мав місце найбільший ступінь накопичення доксорубіцину.

У численних експериментальних і клінічних дослідженнях доведено, що найбільш чутливими для токсичної дії доксорубіцину є тканини серця, що зумовлено не лише високим ступенем накопичення речовини у кардіоміоцитах, а і низькою активністю антиоксидантних систем [1-4,7,8].

Ризик виникнення гепатотоксичності доксорубіцину реалізується у зв'язку із його метаболізмом у печінці [3]. Доведеним фактором ризику виникнення уражень печінки під впливом цитостатиків, у тому числі і антрациклінових антибіотиків, є хронічні дифузні захворювання печінки [9,10]. Особливе значення у даному аспекті має наявність неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ), що створює передумову для раннього розвитку гепатотоксичних реакцій, не досягаючи високих кумулятивних доз доксорубіцину [10]. В експериментальних дослідженнях продемонстровано розвиток некрозу, дегенерації гепатоцитів та дилатації синусоїдів у тканинах печінки на фоні введення доксорубіцину [5,7,8,11-13]. Вираженість морфологічних змін тканин печінки залежить від кумулятивної дози препарату [5,13]. Гепатотоксичні реакції на фоні введення доксорубіцину характеризуються зростанням активності аланінової і аспарагінової амінотрансфераз. Ступінь тяжкості цитолітичного синдрому також має чіткий дозозалежний ефект [9,10].

З нашої точки зору, особливого значення може мати вивчення впливу оксидативного стресу на детоксикаційну і білковосинтетичну функції печінки залежно від наявності факторів підвищеного ризику, а саме НАСГ, що може оптимізувати методи діагностики уражень печінки на фоні введення доксорубіцину, а також розробити нові підходи до профілактики цитостатик-індукованих гепатотоксичних реакцій.

**Мета дослідження** – дослідити вплив оксидативного стресу на активність аргінази і орнітиндекарбоксилази (ОДК) у тканинах печінки щурів із антрациклін-індукованим токсичним гепатитом залежно від наявності НАСГ.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведено на 30 білих нелінійних статевозрілих щурах, із них 15 (50%) самців, 15 (50%) – самок, вагою 160-220 г. Експериментальне дослідження було проведено у два етапи. На першому етапі була виділена група

експериментальних тварин, яка склала 10 щурів (5 самців і 5 самок), яким проводили відтворення НАСГ шляхом застосування фаст-фуд дієти впродовж 63-х днів. Раціон для моделювання НАСГ із розрахунку на 1 тварину включав комбікорм-концентрат гранульований 0,04, масло вершкове 72,5% 0,01 кг, масло соняшникове рафіноване 0,01 кг, масло пальмове 0,01 кг та 4% водний розчин фруктози в якості єдиного джерела рідини. Інші 20 щурів (10 самців і 10 самок) впродовж першого етапу дослідження з 1-го по 63-й дні отримували стандартний раціон віварію, який із розрахунку на 1 тварину на добу включав комбікорм-концентрат гранульований 0,04 кг, сир знежирений 0,006 кг, моркву 0,02 кг, капусту 0,015 кг.

На другому етапі протягом 3-х днів (з 64-го по 66-й дні) щурам проводили моделювання доксорубіцин-індукованого ураження печінки, в залежності від якого виконано розподіл експериментальних тварин на групи:

I (n=10) – щури (5 самців і 5 самок), яким з 1-го по 63-й день моделювали НАСГ, потім з 64-го по 66-й дні внутрішньочеревно вводили доксорубіцин із розрахунку 5 мг/кг/добу із досягненням кумулятивної дози 15 мг/кг;

II (n=10) – щури (5 самців і 5 самок), які з 1-го по 63 день отримували стандартний раціон віварію. Потім з 64-го по 66-й дні щурам вводили доксорубіцин аналогічно I групі;

III (n=10) – щури (5 самців і 5 самок), які отримували стандартний раціон віварію з 1-го по 63-й день. Потім з 64-го по 66-й дні щурам внутрішньочеревно вводили 0,9% розчин натрію хлориду 1 мл.

Декапітацію щурів проводили під тіопенталовим наркозом на 67-й день спостереження.

У 10% гомогенаті печінки визначали активність процесів ВРО за концентрацією речовин, які з 2-тіобарбітуровою кислотою утворюють триметиновий комплекс (ТБК-реактивів) [14], АОС – за активністю каталази [15]. Детоксикаційну функцію печінки оцінювали за активністю аргінази [16], білковосинтетичну – за активністю ОДК [17].

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження проводили із використанням статистичної програми GraphPad Prism версії 5.00 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA), яка дозволяє виконувати параметричний та непараметричний статистичний аналіз. При нормальному розподілі даних результати представляли у вигляді середніх арифметичних величин ( $M$ ) та їх похибки ( $m$ ). Достовірність відмінностей розраховували за допомогою  $t$  критерію Стьюдента. При розподілі, що відрізняється від нормального використовували парні непараметричні методи рангових критеріїв Вілкоксона та Манна-Уїтні. Оцінку взаємозв'язку досліджуваних показників проводили з використанням кореляційного аналізу за Спірменом. Статистично достовірними вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

**Таблиця 1 – Показники ТБК-реактивів, каталази, аргінази, орнітиндекарбоксилази у щурів із НАСГ на фоні введення доксорубіцину (M±m)**

Показники	I група (n=10)	III група (n=10)	p<0,05; I vs III
Аргіназа, мкмоль/г	1,62±0,23 95%CI 1,10-2,13	2,61±0,21 95%CI 2,11-3,10	p=0,013
ОДК, нкат/г	0,44±0,08 95%CI 0,25-0,65	0,80±0,06 95%CI 0,64-0,95	p=0,009
ТБК-реактанти, мкмоль/г	39,42±2,73 95%CI 33,23-45,60	10,95±0,78 95%CI 9,17-12,73	p=0,002
Каталаза, мккат/г	4,94±0,54 95%CI 3,72-6,61	9,38±0,32 95%CI 8,65-10,11	p=0,002

**Результати дослідження та їх обговорення.** У щурів із НАСГ I групи введення доксорубіцину в кумулятивній дозі 15 мг/кг призводило до активації процесів ВРО, що характеризувалось зростанням у гомогенаті печінки вмісту ТБК-реактивів у 3,6 рази та зниженням активності каталази у 1,9 рази у щурів I групи порівняно із III групою (p<0,05) (табл. 1). Отже, за умов введення доксорубіцину у щурів із НАСГ відмічається дисбаланс між активністю ВРО і АОС, що створює передумови для ушкодження тканин печінки.

Розвиток оксидативного стресу у щурів I групи супроводжувався зниженням активності аргінази у гомогенаті печінки у 1,6 рази порівняно із контрольною групою (p<0,05) (табл. 1), що свідчить про порушення детоксикаційної функції печінки на фоні введення доксорубіцину у щурів із НАСГ. Виявлено зворотний кореляційний зв'язок у щурів I групи між вмістом ТБК-реактивів і активністю аргінази (r=-0,76; p<0,05). У щурів із моделюванням НАСГ введення доксорубіцину супроводжувалось зниженням активності ОДК у 1,8 рази у гомогенаті печінки порівняно із III групою (p<0,05) (табл. 1), що призводить до змін біотрансформації орнітину і, відповідно, до порушення синтезу поліамінів [18,19]. Отже, можна думати про пригнічення детоксикаційної, білковосинтетичної і регенераторної функцій печінки у щурів із НАСГ на фоні введення доксорубіцину за одночасної активації процесів ВРО.

У щурів II групи без НАСГ введення доксорубіцину супроводжувалось зростанням вмісту ТБК-реактивів у гомогенаті печінки у 2,6 рази порівняно з контролем (p<0,05) (табл. 2).

У щурів з інтактною печінкою спостерігалась тенденція до зростання активності каталази у тканинах печінки. Отже, за відсутності НАСГ активація ВРО на фоні введення доксорубіцину приводить до стимуляції продукції ферментів АОС, що може бути механізмом захисту гепатоцитів від дії агресивних вільних радикалів. Одночасно у гомогенаті печінки щурів II

**Таблиця 2 – Показники ТБК-реактивів, каталази, аргінази, орнітиндекарбоксилази у щурів без НАСГ на фоні введення доксорубіцину (M±m)**

Показники	II група (n=10)	III група (n=10)	p<0,05; II vs III
Аргіназа, мкмоль/г	1,54±0,12 95%CI 1,26-1,82	2,61±0,21 95%CI 2,11-3,10	p=0,01
ОДК, нкат/г	1,11±0,09 95%CI 1,01-1,31	0,80±0,06 95%CI 0,64-0,95	p>0,05
ТБК-реактанти, мкмоль/г	28,24±0,95 95%CI 26,07-30,41	10,95±0,78 95%CI 9,17-12,73	p=0,002
Каталаза, мккат/г	12,50±1,63 95%CI 8,79-16,21	9,38±0,32 95%CI 8,65-10,11	p>0,05

групи спостерігалось зниження активності аргінази у 1,7 рази (p<0,05) (табл. 2) із збереженням активності ОДК. Виявлено зворотній кореляційний зв'язок у щурів II групи між вмістом ТБК-реактивів і активністю аргінази (r=-0,71; p<0,05). Отже, можна думати, що активність аргінази є чутливим показником порушень детоксикаційної функції печінки [18,19], що реагує на введення доксорубіцину.

Незважаючи на факт розвитку оксидативного стресу під впливом доксорубіцину у експериментальних тварин II групи без НАСГ слід зазначити, що вміст ТБК-реактивів у гомогенаті печінки був у 1,4 рази нижчим, ніж у щурів I групи з НАСГ (p<0,05) (табл. 1, 2). Це переконливо доводить, що наявність НАСГ потенціює оксидативний стрес як вагомий механізм формування гепатотоксичних реакцій. Крім цього, за відсутності НАСГ не зафіксовано зниження активності ОДК, що дозволяє зберігати механізми регенерації печінки.

#### Висновки

1. У щурів із НАСГ введення доксорубіцину у кумулятивній дозі 15 мг/кг призводить до формування оксидативного стресу, що характеризується зростанням концентрації ТБК-реактивів у 3,9 рази за одночасного зниження активності каталази у 1,9 рази у гомогенаті печінки порівняно із контролем (p<0,05).

2. Активація оксидативного стресу у щурів із НАСГ супроводжується зниженням активності аргінази у гомогенаті печінки у 1,6 рази порівняно із контролем (p<0,05). Виявлено зворотній кореляційний зв'язок між вмістом ТБК реактивів і активністю аргінази (r=-0,76; p<0,05) у щурів I групи.

3. На фоні застосування доксорубіцину у гомогенаті печінки щурів із НАСГ спостерігалось зниження активності ОДК у 1,8 рази порівняно із контролем (p<0,05).

4. У щурів без НАСГ введення доксорубіцину у кумулятивній дозі 15 мг/кг призводить до зростання концентрації ТБК-реактивів у гомогенаті печінки у 2,6 рази без порушень у системі АОЗ (p<0,05), що асоціювалось із пригніченням активності аргінази у 1,7 рази порівняно із контролем. Встановлено зворотний кореляційний зв'язок між вмістом ТБК-реактивів і активністю аргінази (r=-0,71; p<0,05) у щурів II групи.

**Перспективи подальших досліджень.** Доксорубіцин належить до групи антрациклінових антибіотиків, що широко застосовують для лікування онкологічних і онкогематологічних захворювань. Саме із включенням до складу хіміотерапії гострих лейкозів антрациклінових антибіотиків пов'язано підвищення відсотка досягнення клініко-гематологічних ремісій, покращення показників загальної і безрецидивної виживаності пацієнтів. Оксидативний стрес лежить в основі як терапевтичного, так і токсичного ефектів доксорубіцину. Детальне вивчення патогенетичних механізмів розвитку гепатотоксичних ефектів антрациклінових антибіотиків має особливого значення для розробки тактики ведення пацієнтів і обґрунтування призначення терапії супроводу.

Література

1. Lymanets TV, Maslova HS, Skrypnyk IM. Rol dysbalansu systemy oksydu azotu v rozvytku antratsyklinoivoi kardiotsychnosti u khvorykh na hostri leukemii iz suputnoiu ishemichnoiu khvoroboiou sertsia. Svit medytsyny ta biolohii. 2016;3(57):35-40. [in Ukrainian].
2. Diamanti J, Mezzetti B, Giampieri F, Alvarez – Suarez JM, Quiles JL, Gonzalez-Alonso A, et al. Doxorubicin-induced oxidative stress in rats is efficiently counteracted by dietary anthocyanin differently enriched strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch). J Agric Food Chem. 2014;62(18):3935-43. DOI: 10.1021/jf405721d
3. Hilmer SN, Cogger VC, Muller M, Le Couteur DG. The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin. Drug Metab Dispos. 2004;32(8):794-9.
4. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. Pharmacol Rev. 2004;56(2):185-229.
5. Osama AHA, Suzan BSA. "Ultrastructural Studies on the Changes Induced by Toxic Effect of doxorubicin on rat hepatocyte and protective role of dexrazoxane". Biosciences, Biotechnology Research Asta. 2008;5(2):551-7.
6. Prasanna PL, Renu K, Valsala Gopalakrishnan A. New molecular and biochemical insights of doxorubicin-induced hepatotoxicity. Life Sci. 2020;250:117599. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117599
7. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Velmurugan BK, Jacob JA, Karuppusamy I. Toxicity of doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. Life Sci. 2018;200:26-30. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.03.023
8. Salouge I, Ben Ali R, Ben Said D, Elkadri N, Kourda N, Lakhali M, et al. Means of evaluation and protection from doxorubicin – induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. J Cancer Res Ther. 2014;10(2):274-8. DOI: 10.4103/0973-1482.136557
9. Skrypnyk IM, Maslova HS. Otsinka chastoty rozvytku i kharakteru hepatotsychnykh reaktsii u khvorykh na hostri mieloidni leukemii v dynamitsi induktsii remisii. Suchasna gastroenterolohiia. 2018;2(100):16-22. [in Ukrainian].
10. Skrypnyk IM, Maslova HS. Nadmirna masa tila i ozhyrinnia yak vazhlyvi faktory ryzyku tsytostatyk-indukovanykh urazhen pechinky u khvorykh na hostri leukemii. Ukrainyskyi terapevtychnyi zhurnal. 2018;2:21-5. DOI: https://doi.org/10.30978/UTJ2018-2-21 [in Ukrainian].
11. Chaudhary D, Khatiwada S, Sah SK, Tamang MK, Bhattacharya S, Jha CB. Effect of doxorubicin on histomorphology of Liver of Wistar Albino Rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;4:186-90. DOI: 10.17265/2328-2150/2016.04.005
12. El-Sayyad HI, Ismail MF, Shalaby FM, Abou-El-Magd RF, Gaur RL, Fernando A, et al. Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-flourouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. Int J Biol Sci. 2009;5:466-73.
13. Pedrycz A, Boratynski Z, Wieczorski M, Visconti J. Ultrastructural and immunohistochemical evaluation of apoptosis in foetal rat liver after adriamycin administration. Bull Vet Inst Pulawy. 2005;49:475-8.
14. Stal'naya ID, Garishvili TG. Metod opredeleniya malonovogo dial`degida s pomoshh`yu tiobarbiturovoj kisloty`. Sovremennyye metody` v biokhimi. Moskva: Meditsina; 1977. s. 66-8. [in Russian].
15. Korolyuk MA, Ivanova LI, Majorova IG, Tokarev VE. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy`. Laboratornoe delo. 1988;1:16-9. [in Russian].
16. Boiko OA, Lusenko VS. Vyznachennia aktyvnosti arhinazy v tkanyakh. Fiziol zhurn. 1972;XVIII(5):703-5. [in Ukrainian].
17. Khramov VA. Prostoj metod opredeleniya aktivnosti ornitindekarboksylazy` v smeshannoj slyune cheloveka. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 1997;4:14-5. [in Russian].
18. Granik VG. Metabolizm L-arginina (obzor). Khimiko-farmaczevticheskij zhurnal. 2003;37(3):3-20. [in Russian].
19. Maksymchuk NO, Konovchuk VM. Metabolizm arhininu: perspektyvy klinichnoho vykorystannia (ohliad literatury). Bukovynyskyi medychnyi visnyk. 2017;21.1(81):205-10. [in Ukrainian].

**РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ФОРМУВАННІ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ІЗ НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ**

**Маслова Г. С.**

**Резюме.** Визначення ролі оксидативного стресу у порушенні детоксикаційної і регенераторної функції печінки має особливе значення при оптимізації профілактики гепатотоксичних реакцій на фоні хіміотерапії (ХТ).

**Мета** – дослідити вплив оксидативного стресу на активність аргінази і орнітиндекарбоксилази (ОДК) у тканинах печінки щурів із антрациклін-індукованим токсичним гепатитом залежно від наявності неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ).

**Об'єкт і методи.** Дослідження проведені на 30 білих нелінійних статевозрілих щурах, із них 15 (50%) самців, 15 (50%) – самок, вагою 160-220 г. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи: I (n=10) – щури із НАСГ, яким впродовж 3-х днів внутрішньочеревно вводили доксорубіцин із розрахунку 5 мг/кг/добу із досягненням кумулятивної дози 15 мг/кг; II (n=10) – щури без НАСГ, яким вводили доксорубіцин аналогічно I групі; III (n=10) – щури без НАСГ, яким впродовж 3-х днів внутрішньочеревно вводили 0,9% розчин натрію хлориду 1 мл. У гомогенаті печінки визначали вміст ТБК-реактивних та активність каталази, аргінази і ОДК.

**Результати дослідження.** У щурів із НАСГ I групи введення доксорубіцину призводило до зростання концентрації ТБК-реактивних у 3,9 рази на фоні зниження активності каталази у 1,9 рази у гомогенаті печінки порівняно із контролем (p<0,05). Активація продукції вільних радикалів у щурів I групи супроводжувалась зниженням активності аргінази у 1,6 рази і ОДК у 1,8 рази у гомогенаті печінки порівняно із контролем (p<0,05). Виявлено зворотній кореляційний зв'язок у щурів I групи між вмістом ТБК реактивних і активністю аргінази (r=-0,76; p<0,05). У щурів без НАСГ введення доксорубіцину призводить до зростання концентрації ТБК-реактивних у гомогенаті печінки у 2,6 рази без порушень у системі АОЗ (p<0,05), що асоціювалось із пригніченням активності аргінази у 1,7 рази порівняно із контролем. Виявлено зворотній кореляційний зв'язок у щурів II групи між вмістом ТБК реактивних і активністю аргінази (r=-0,71; p<0,05).

**Висновки.** Введення доксорубіцину супроводжується виникненням оксидативного стресу, що на фоні НАСГ призводить до порушення детоксикаційної і регенераторної функції печінки.

**Ключові слова:** доксорубіцин, оксидативний стрес, аргіназа, орнітиндекарбоксилаза, неалкогольний стеатогепатит.

### РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ФОРМИРОВАНИИ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС С НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Маслова А. С.

**Резюме.** Определение роли оксидативного стресса в нарушении детоксикационной и регенераторной функции печени имеет особое значение при оптимизации профилактики гепатотоксических реакций на фоне химиотерапии (ХТ).

**Цель** – исследовать влияние оксидативного стресса на активность аргиназы и орнитиндекарбоксилазы (ОДК) в тканях печени у крыс с антрациклин-индуцированным токсическим гепатитом в зависимости от наличия неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

**Объект и методы.** Исследования проведены на 30 белых нелинейных половозрелых крысах, из них 15 (50%) самцов, 15 (50%) – самок, весом 160-220 г. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы: I (n=10) – крысы с НАСГ, которым в течение 3-х дней внутривентриально вводили доксорубицин из расчета 5 мг/кг/сутки с достижением кумулятивной дозы 15 мг/кг; II (n=10) – крысы без НАСГ, которым вводили доксорубицин аналогично I группе; III (n=10) – крысы без НАСГ, которым в течение 3-х дней внутривентриально вводили 0,9% раствор натрия хлорида 1 мл. В гомогенате печени определяли: концентрацию ТБК-реактантов, активность каталазы, аргиназы и ОДК.

**Результаты исследования.** У крыс с НАСГ I группы введение доксорубицина приводило к росту концентрации ТБК-реактантов в 3,9 раза на фоне снижения активности каталазы в 1,9 раза в гомогенате печени по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Активация продукции свободных радикалов у крыс I группы сопровождалась снижением активности аргиназы в 1,6 раза и ОДК в 1,8 раза в гомогенате печени по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Выявлено обратную корреляционную связь у крыс I группы между содержанием ТБК-реактантов и активностью аргиназы ( $r = -0,76$ ;  $p < 0,05$ ). У крыс без НАСГ введение доксорубицина приводит к росту концентрации ТБК-реактантов в гомогенате печени в 2,6 раза без нарушений в системе АОЗ ( $p < 0,05$ ), что ассоциировалось с угнетением активности аргиназы в 1,7 раза по сравнению с контролем. Выявлено обратную корреляционную связь у крыс II группы между содержанием ТБК-реактантов и активностью аргиназы ( $r = -0,71$ ;  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Введение доксорубицина сопровождается возникновением оксидативного стресса, что на фоне НАСГ приводит к нарушению детоксикационной и регенераторной функции печени.

**Ключевые слова:** доксорубицин, оксидативный стресс, аргиназа, орнитиндекарбоксилаза, неалкогольный стеатогепатит.

### THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN DOXORUBICIN-INDUCED LIVER INJURY IN RATS WITH NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

Maslova G. S.

**Abstract.** Determining the role of oxidative stress in the detoxification and regenerative liver function violation is of particular importance in order to optimize the prevention of hepatotoxic reactions during chemotherapy (CT).

**The aim** – to investigate the effect of oxidative stress on arginase and ornithine decarboxylase (ODC) activity in liver tissues in rats with anthracycline-induced toxic hepatitis depending on nonalcoholic steatohepatitis (NASH) presence.

**Object and methods.** The studies were performed on 30 white nonlinear adult rats, of which 15 (50%) males, 15 (50%) females, weighing 160-220 g. Experimental animals were divided into 3 groups: I (n=10) – rats with NASH, that received intraperitoneally doxorubicin 5 mg/kg/day with a cumulative dose of 15 mg/kg; II (n=10) – rats without NASH, that were administered doxorubicin similarly to group I; III (n=10) – rats without NASH, that received 0.9% sodium chloride solution 1 ml for 3 days. The TBA reactive substances, catalase, arginase and ODC were determined in the liver homogenate.

**Study results.** In rats of group I with NASH, the doxorubicin appointment led to an increase in the concentration of TBA reactive substances in 3.9 times while the catalase activity decreased in 1.9 times in the liver homogenate compared to control ( $p < 0.05$ ). Activation of free radical production in group I rats was accompanied by a decrease in arginase activity in 1.6 times and ODC in 1.8 times in liver homogenate compared to control ( $p < 0.05$ ). An inverse correlation was found in rats of group I between the content of TBA reactive substances and arginase activity ( $r = -0.76$ ;  $p < 0.05$ ). In rats without NASH, doxorubicin administration resulted in a 2.6-fold increase in the concentration of TBA reactive substances in the liver homogenate without disturbances in the antioxidant defense system ( $p < 0.05$ ), which was associated with an inhibition of arginase activity in 1.7 times compared to controls. An inverse correlation was found in group II rats between the content of TBA reactive substances and arginase activity ( $r = -0.71$ ;  $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** The doxorubicin administration is accompanied by oxidative stress, which against the background of NASH leads to impaired detoxification and regenerative liver function.

**Key words:** doxorubicin, oxidative stress, arginase, ornithine decarboxylase, nonalcoholic steatohepatitis.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Статья надійшла 04.05.2020 року