

Я.А.Цветкова

## Вплив тіотриазоліну на показники вільнорадикального перекисного окислення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів при хронічному надходженні аміної солі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Протягом останнього часу все більш уваги приділяється проблемі фармакологічного захисту людей від впливу негативних факторів навколишнього середовища. Значне місце серед екологічних забруднювачів посідають засоби хімічного захисту сільськогосподарських культур: щорічна кількість пестицидів, які використовують в Україні, становить близько 270 найменувань [10, 15].

Одним з найпоширеніших пестицидів, що застосовуються в сільському господарстві, є аміїна сіль 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-ДА). Більшість пестицидів групи похідних 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти належить до малотоксичних засобів із середньо вираженими кумулятивними властивостями [11, 14, 17], але при тривалому контакті з ними, особливо при порушенні техніки безпеки та недотриманні заходів індивідуального захисту, можуть виникати морфологічно-функціональні зміни різних органів та систем [1, 7], що, на думку деяких авторів, зумовлено активацією вільнорадикального перекисного окислення (ВРПО) ліпідів. Виходячи з цього, для профілактики та лікування можливих небажаних ефектів найбільш оптимальним є застосування препаратів з антиоксидантною дією, які здатні гальмувати процес пероксидації ліпідів.

Мета роботи – вивчення впливу вітчизняного препарату-антиоксиданту тіотриазоліну на показники ВРПО ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у щурів при хронічному надходженні 2,4-ДА.

**Матеріали та методи.** Експеримент проведено на 5 групах щурів-самців лі-

нії Вістар масою 170–195 г. 10 щурів склали інтактну групу, яку протягом експерименту утримували в умовах віварію по 5 тварин в клітках (1 група). 2 та 3 групи включали по 7 щурів-самців, яким протягом 15 діб вводили внутрішньошлунково гербіцид 2,4-ДА у дозі 120 мг/кг. 3 група додатково отримувала тіотриазолін у дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково. Щурам-самцям 4 та 5 груп (по 14 тварин) вводили токсикант внутрішньошлунково протягом 30 діб у тій самій дозі, а тваринам 5 групи додатково вводили тіотриазолін у вищезазначеній дозі протягом 30 діб.

Евтаназію щурів здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) шляхом взяття крові з серця до його зупинення. Проводили оцінку загальносоматичних показників – ваги, стану шерсті, рухливості та дослідження біохімічних показників. У крові визначали рівень спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ), для чого досліджували фізико-хімічні властивості еритроцитів при інкубації в фосфатному буфері (рН 7,4) протягом 4 год при температурі 37 С. Рожеве забарвлення, що реєструється, зумовлене гемоглобіном еритроцитів, внаслідок перекисного окислення фосфоліпідів мембран, що дозволяє судити про забезпеченість мембран еритроцитів гідрофобними антиоксидантами [16]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за здатністю адреналіну самоокислюватися в лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикалу; у присутності СОД швидкість реакції знижується. Порівняння швидкості окислення контрольної й дослідної проб дає мож-

ливість судити про активність ензиму [4]. У сироватці, за реакцією окислення п-фенілендіаміну, яка відбувається, за наявності церулоплазміну, визначали активність останнього [8]. Рівень ВРПО ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів [6], використовуючи їхню властивість поглинати світлове випромінювання в ультрафіолетовому відрізку спектра. У тканинах печінки, мозку та сім'яників досліджували рівень продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [5]. Принцип засновано на здатності малонового діальдегіду реагувати з ТБК з утворенням триметинового комплексу, що має рожеве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації ТБК-реактантів. Активність каталази печінки, мозку та сім'яників досліджували за здатністю перекису водню утворювати із солями молібдену стійкий пофарбований комплекс [9]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Ст'юдента.

**Результати та обговорення.** Хронічний вплив пестициду 2,4-ДА зумовив зміни загальноосмотичних та біохімічних показників крові та тканин у щурів-самців. Тварини 2 групи повільно набирали вагу (з 180,0 до 189,0 г,  $P < 0,1$ ), у них знизився апетит, спостерігалася агресивність, кволість, тьмяність та вологість шерсті. Аналіз біохімічних показників свідчить, що у тварин цієї групи вірогідно зріс рівень проміжних продуктів ВРПО ліпідів – дієнових кон'югатів ( $P < 0,001$ ) та ТБК-реактантів ( $P < 0,001$ ). Знизилася забезпеченість еритроцитарних мембран гідрофобними АО ( $P < 0,001$ ), порівняно з показниками у інтактних тварин (таблиця).

Вивчення активності антиоксидантних ферментів у крові та тканинах (печінка, мозок, сім'яники) показало, що при хронічному надходженні токсиканта у тварин 2 групи вірогідно знизилася активність досліджуваних ферментів – СОД, каталази та церулоплазміну, порівняно з показниками у інтактних тварин (таблиця).

Тварини 3 групи на тлі хронічного введення 2,4-ДА додатково отримували тіотриазолін. Тварини добре переноси-

ли введення препарату, за час експерименту їх вага підвищилася (середня вага до експерименту –  $174,3 \pm 3,3$  г; наприкінці –  $189,2 \pm 3,1$  г,  $P < 0,002$ ). Введення препарату вірогідно нормалізувало інтенсивність ВРПО ліпідів – рівень дієнових кон'югатів у тварин цієї групи становив  $5,7 \pm 1,2$ , що відображає нормалізацію показника, порівняно з показниками у тварин 2 групи ( $P_{2-3} < 0,01$ ), рівень ТБК-реактантів також вірогідно знизився в печінці, мозку ( $P_{2-3} < 0,002$ ) та в сім'яниках ( $P_{2-3} < 0,05$ ); також гальмувалося падіння забезпеченості еритроцитарних мембран – рівень СГЕ у щурів 3 групи склав  $10,8 \pm 0,89$ , тоді як під впливом токсиканта він становив  $23,6 \pm 2,8$  ( $P_{2-3} < 0,001$ ). Під впливом тіотриазоліну нормалізувалася активність антиоксидантних ферментів.

При більш тривалому впливі токсиканта (4 група) спостерігалася тенденція до зниження ваги ( $P < 0,1$ ), значне випадіння шерсті, зниження рухливості та апетиту. Спостерігалася подальше зростання рівня СГЕ, дієнових кон'югатів та зниження рівня ТБК-реактантів щодо показників у тварин 2 групи, але при цьому останній залишався достатньо високим, порівняно з показниками у інтактних тварин. При дослідженні активності антиоксидантних ферментів відмічено двоякі зміни: рівень СОД у крові та тканинах мозку і сім'яників знижувався, як і рівень каталази у печінці, а рівень церулоплазміну, СОД у печінці та каталази мозку та сім'яників підвищився, порівняно з показниками у тварин, які отримували пестицид протягом 15 діб.

Введення тіотриазоліну на тлі 30-денного отримання пестициду (5 група) спричинило достовірне зниження рівня дієнових кон'югатів ( $P_{4-5} < 0,002$ ) та ТБК-реактантів у тканинах печінки ( $P_{4-5} < 0,01$ ), мозку ( $P_{4-5} < 0,002$ ) та сім'яників ( $P_{4-5} < 0,05$ ) порівняно з показниками у тварин 4 групи. При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофобними антиоксидантами виявлено вірогідне зниження показника СГЕ ( $P_{4-5} < 0,001$ ). Також спостерігається нормалізація ак-



## Вплив 2,4-ДА на біохімічні показники крові та тканин у щурів та їх корекція тіотриазоліном

Біохімічні показники	Інтактні (1 група)	2,4-ДА 15 діб (2 група)	2,4-ДА+ тіотриазолін 15 діб (3 група)	2,4-ДА 30 діб (4 група)	2,4-ДА+ тіотриазолін 30 діб (5 група)
СГЕ, %	7,2±1,9	23,6±2,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	10,8±0,89 P <sub>1-3</sub> <0,25 P <sub>2-3</sub> <0,001	27,3±3,7 P <sub>1-4</sub> <0,001	10,1±1,12 P <sub>1-5</sub> <0,25 P <sub>4-5</sub> <0,001
Дієнові кон'югати, ммоль/л	3,8±0,56	10,06±1,02 P <sub>1-2</sub> <0,001	5,7±1,2 P <sub>1-3</sub> <0,1 P <sub>2-3</sub> <0,01	12,3±1,4 P <sub>1-4</sub> <0,001	6,4±1,3 P <sub>1-5</sub> <0,1 P <sub>4-5</sub> <0,002
ТБК-реактанти, нмоль/г					
печінка	79,5±5,7	191,0±18,4 P <sub>1-2</sub> <0,001	106,8±9,5 P <sub>1-3</sub> <0,05 P <sub>2-3</sub> <0,002	130,08±11,8 P <sub>1-2</sub> <0,002	103,21±7,4 P <sub>1-5</sub> <0,05 P <sub>4-5</sub> <0,01
мозок	31,2±3,9	67,4±6,4 P <sub>1-2</sub> <0,001	39,8±2,2 P <sub>1-3</sub> <0,02 P <sub>2-3</sub> <0,002	49,5±4,2 P <sub>1-4</sub> <0,01	37,25±2,4 P <sub>1-5</sub> <0,05 P <sub>4-5</sub> <0,002
сім'яники	14,8±2,6	38,53±3,9 P <sub>1-2</sub> <0,001	27,84±3,0 P <sub>1-3</sub> <0,01 P <sub>2-3</sub> <0,05	29,21±2,74 P <sub>1-4</sub> <0,002	21,06±2,1 P <sub>1-5</sub> <0,1 P <sub>4-5</sub> <0,05
Каталаза, ммоль/хв · г					
печінка	2,01±0,32	1,54±0,02 P <sub>1-2</sub> <0,1	2,3±0,3 P <sub>1-3</sub> <0,5 P <sub>2-3</sub> <0,02	1,37±0,1 P <sub>1-4</sub> <0,05	1,8±0,04 P <sub>1-5</sub> <0,25 P <sub>4-5</sub> <0,001
мозок	0,204±0,016	0,104±0,013 P <sub>1-2</sub> <0,001	0,221±0,034 P <sub>1-3</sub> <0,5 P <sub>2-3</sub> <0,05	0,121±0,017 P <sub>1-4</sub> <0,001	0,165±0,01 P <sub>1-5</sub> <0,02 P <sub>4-5</sub> <0,02
сім'яники	0,433±0,03	0,249±0,018 P <sub>1-2</sub> <0,001	0,402±0,025 P <sub>1-3</sub> <0,5 P <sub>2-3</sub> <0,001	0,272±0,015 P <sub>1-4</sub> <0,001	0,34±0,03 P <sub>1-5</sub> <0,1 P <sub>4-5</sub> <0,05
СОД, % Т кров	78,9±3,2	62,4±3,1 P <sub>1-2</sub> <0,002	75,8±1,3 P <sub>1-3</sub> <0,5 P <sub>2-3</sub> <0,01	57,3±3,7 P <sub>1-4</sub> <0,001	67,05±1,9 P <sub>1-5</sub> <0,01 P <sub>4-5</sub> <0,05
печінка	71,2±3,5	54,29±4,9 P <sub>1-2</sub> <0,01	65,1±5,6 P <sub>1-3</sub> <0,25 P <sub>2-3</sub> <0,25	57,5±2,6 P <sub>1-4</sub> <0,01	68,5±2,1 P <sub>1-5</sub> <0,5 P <sub>4-5</sub> <0,01
мозок	83,4±4,6	70,5±3,8 P <sub>1-2</sub> <0,05	79,84±4,7 P <sub>1-3</sub> <0,5 P <sub>2-3</sub> <0,25	59,2±3,7 P <sub>1-4</sub> <0,001	79,0±3,0 P <sub>1-5</sub> <0,25 P <sub>4-5</sub> <0,002
сім'яники	74,7±3,1	59,8±2,7 P <sub>1-2</sub> <0,01	70,8±2,4 P <sub>1-3</sub> <0,25 P <sub>2-3</sub> <0,01	52,23±2,78 P <sub>1-4</sub> <0,001	65,0±2,71 P <sub>1-5</sub> <0,05 P <sub>4-5</sub> <0,01
Церулоплазмін, од./мл	56,7±3,1	34,5±2,4 P <sub>1-2</sub> <0,001	49,5±3,3 P <sub>1-3</sub> <0,25 P <sub>2-3</sub> <0,01	39,8±2,4 P <sub>1-4</sub> <0,001	51,8±2,02 P <sub>1-5</sub> <0,25 P <sub>4-5</sub> <0,01

тивності досліджуваних антиоксидантних ферментів, порівняно з показниками у інтактних тварин: активність церулоплазміну ( $P_{1-5} < 0,25$ ), активність СОД в печінці ( $P_{1-5} < 0,5$ ) та мозку ( $P_{1-5} < 0,25$ ), активність каталази в печінці ( $P_{1-5} < 0,5$ ) та сім'яниках ( $P_{1-5} < 0,1$ ). При дослідженні активності СОД у тканині сім'яників ( $P_{4-5} < 0,05$ ) та активності каталази в тканині мозку ( $P_{4-5} < 0,02$ ) спостерігали їх зниження, порівняно з показниками у тварин 4 групи (таблиця).

Таким чином, у експериментальних тварин при хронічному надходженні пестициду 2,4-ДА спостерігалось прогресивне наростання інтенсивності ВРПО ліпідів, що може бути зумовлено розвитком процесів окисного фосфорилювання з подальшим порушенням енергетичного обміну та переходом його на вільнорадикальний шлях під впливом токсиканта, що призводить до посилення  $\beta$ -окислення жирних кислот та підвищення ВРПО ліпідів. Зрештою, це сприяло зниженню антиоксидантної забезпеченості, на що вказує підвищення рівня СГЕ.

Захисні властивості тіотриазоліну в умовах надходження 2,4-ДА зумовлені його здатністю відновлювати активність

антиоксидантних ферментів – СОД, каталази та церулоплазміну, що сприяє більшій ефективності функціонування ферментативного ланцюга антиоксидантної системи [13].

Отримані результати підтверджують дані щодо антиоксидантних властивостей тіотриазоліну і можливості його застосування з профілактичною та лікувальною метою при токсичному впливі на організм пестициду 2,4-ДА.

#### Висновки

1. Хронічне надходження пестициду 2,4-ДА призвело до активації процесів ВРПО ліпідів у крові та тканинах, зниження антиоксидантної забезпеченості та пригнічення активності антиоксидантних ферментів.
2. Введення тіотриазоліну за умов хронічної інтоксикації пестицидом 2,4-ДА різної тривалості справляє нормалізуючий вплив на метаболічні зміни в організмі експериментальних тварин.
3. Препарат з антиоксидантної дією тіотриазолін доцільно призначати для профілактики та лікування при хронічному отруєнні пестицидом 2,4-ДА.

1. Балан Г.М., Сергєєв С.Г., Мымренко Т.В. и др. //Соврем. пробл. токсикол. – 2003. – №3. – С. 52–58.
2. Беленічев І.Ф., Коцапенко С.І., Дунаєв В.В. //Ліки. – 2002. – №1–2. – С. 43–47.
3. Бєкегов О.І., Сапегін І.Д., Семенець П.Д., Кубишкін А.В. //Там же. – С. 71–75.
4. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. //Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1976. – №1. – С. 33–35.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
6. Воскресенский О.М., Дельва В.А., Дудченко М.А. Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное применение противоядеросклеротических средств: Методические рекомендации. – Полтава, 1982. – 26 с.
7. Гришук М.І. //Вісн. пробл. біол. та мед. – 2004. – Вип.3. – С. 63–66.
8. Колб В.Г., Камышиников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. //Лабор. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
10. Курляндский Б.А. //Токсикол. вестн. – 2001. – №6. – С. 2–5.
11. Малинин О.А. и др. Ветеринарная токсикология: Учеб. пособие – Курсунь-Шевченковский: Майданчизнко, 2002. – 464 с.
12. Максименко С.Ф., Мазур І.А., Беленічев І.Ф. та ін. Застосування тіотриазоліну в комплексній терапії оклюзивних захворювань судин сітківки та зорового нерва: Методичні рекомендації. – Запоріжжя, 1996. – 8 с.
13. Оленицька О.С. //І Нац. з'їзд фармакологів України «Сучасні проблеми фармакології»: Тези доп. (Полтава, вересень 1995). – К., 1995. – С. 121.
14. Пестициды: Справочник/В.И.Мартыненко, В.К.Промоненко, С.С.Кукаленко и др. – М.: Агропромиздат, 1992. – 368 с.
15. Проданчук М.Г., Великий В.І., Кучак Ю.А. //Довкілля та здоров'я. – 2004. – №2. – С. 75–78.
16. Спиричев В.В., Матиус И.И., Кронштейн Л.М. // В кн.: Экспериментальная витаминология. – Минск: Наука и техника, 1979. – С. 18–57.
17. Garabrant P. //Crit. Rev. Toxicol. – 2002. – V.32, №4. – P. 233–257.

**Я.А.Цветкова**

Влияние тиотриазолина на показатели свободнорадикального перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов при хроническом поступлении аминной соли 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты

В эксперименте на белых крысах моделировали хроническую интоксикацию введением пестицида 2,4-ДА на протяжении 15 и 30 суток. При коррекции метаболических нарушений антиоксидантом тиотриазолином выявлено, что препарат тормозит интенсивность перекисного окисления липидов и повышает активность антиоксидантных ферментов. Представленные данные свидетельствуют о целесообразности применения препаратов антиоксидантного действия для профилактики метаболических нарушений при интоксикации 2,4-ДА.

**Y.A.Tsvetkova**

The influence of thiotriazoline on parameters of the free radical peroxidation of lipids and the activity of anyoxydative ferments under chronic administration of 2,4-DA

In experiments in white rats the chronic intoxication was reproduced by the way of pesticides 2,4-DA administration during 15 and 30 days. When correction of metabolic disorders by the using of thiotriazoline has been realized, it was revealed that preparation holds up the intensity of free radical peroxidation of lipids and raises the activity of antioxydative ferments. The data presented indicate the practicability of the using of preparations with antioxydative activity for prevention of metabolic disorders in chronic 2,4-DA intoxication.

УДК 615.033:615.213

**О.К.Ярош, Я.П.Мандзюк**

## **Дослідження вікових особливостей фармакокінетики топірамаму в головному мозку щурів**

*Інститут фармакології та токсикології АМН України, м. Київ*

Епіленсія та судомні синдроми є одними з найчастіших захворювань нервової системи [3, 6, 9]. Особливо небезпечні наслідки епіленсії в дитячому віці, оскільки в досить великому відсотку випадків (до 40%) вона призводить до розвитку розумової відсталості [6, 13]. Тому лікування цього захворювання становить важливу проблему дитячої клінічної неврології і спонукає до пошуку ефективних та безпечних ліків-антиконвульсантів, а також поглибленого вивчення уже відомих та нових антиепілептичних засобів з метою їх ширшого застосування в дитячій практиці.

Одним з перспективних препаратів нового покоління для лікування епіленсії є топірамаму. За хімічною струк-

турою він є сульфат-заміщеним похідним D-фруктози. Припускають, що механізм дії топірамаму пов'язаний з блокуванням натрієвих каналів, посиленням активності ГАМК на канали хлору в ділянці ГАМК<sub>A</sub>-рецепторів, а також антагонізмом з глутаматергічними рецепторами кайнатного підтипу [1, 7, 10]. Топірамаму є ефективним при генералізованих та парціальних епілептичних нападах і як монотерапія, і в поєднанні з іншими протисудомними засобами [9–12].

У клінічній практиці використання антиепілептичних препаратів, окрім правильного вибору конкретного лікарського засобу залежно від типу епілептичних нападів, дуже важливою є проблема обґрунтованого підбору дози та режимів введення антиконвульсан-

© Колектив авторів, 2005