

УДК 612.015.14/.348-02:616-099:546.3-]-053-092.9
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i2.9134

Є. Б. Дмухальська, Т. Я. Ярошенко, І. П. Кузьмак

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВПЛИВ ЦИСТЕЇЛ-ГІСТИДИЛ-ТИРОЗИЛ-ГІСТИДИЛ-ІЗОЛЕЙЦИНУ НА ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНИХ ФОРМ ОКСИГЕНУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І ГЛІФОСАТУ

Вступ. Оксидативний стрес відіграє важливу роль у патогенезі великої кількості захворювань, таких, як цироз печінки, атеросклероз, цукровий діабет, ішемічна хвороба серця, канцерогенез тощо. Основним механізмом виникнення оксидативного стресу є порушення балансу між процесами окиснення і відновлення під дією зовнішніх чинників: токсичних речовин, радіоактивного опромінення, ліків. Іони важких металів, особливо зі змінною валентністю, генерують продукти неповного відновлення кисню – активні форми Оксигену, що руйнують біологічно важливі молекули (ліпіди, білки, нуклеїнові кислоти).

Мета дослідження – вивчити вплив пептиду цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцину на генерацію активних форм Оксигену і вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів в уражених щурів різного віку.

Методи дослідження. Досліди проводили на лабораторних нелінійних білих щурах-самцях 3 вікових груп: статевого дозрівання, статевої зрілості та старих тваринах, яким внутрішньошлунково протягом 30 днів вводили водні розчини Плюмбум ацетату, Купрум сульфату, гліфосату (у формі гербіциду раундапу). З метою корекції на 21 день через 6 год після введення токсикантів протягом 10 днів вводили пептид цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин. Стан вільнорадикального окиснення ліпідів оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів та дієнових кон'югатів у сироватці крові й гомогенатах печінки. Вміст супероксид-аніон радикала визначали за допомогою тесту з нітросинім тетразолієм, гідроксильного радикала – за продуктом окиснення 2-дезоксирибози.

Результати й обговорення. Встановлено, що в щурів за комбінованої дії гліфосату (у формі раундапу), Плюмбум ацетату, Купрум сульфату з віком активуються процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та генерація активних форм Оксигену, про що свідчило зростання вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, супероксид-аніон та гідроксильного радикалів. При використанні пептиду як чинника корекції знижувався вміст активних форм Оксигену та продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Висновок. Введення пептиду, як чинника корекції, щурам з токсичним ураженням печінки знижує генерацію активних форм Оксигену та вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксидативний стрес; вільні радикали; активні форми Оксигену; вільнорадикальне окиснення; гліфосат; Плюмбум ацетат; Купрум сульфат.

ВСТУП. Понад 2,5 мільярда років тому на земній кулі виникла молекула кисню, яка стала незамінним компонентом аеробних організмів. Молекулярний кисень є відносно стабільною сполукою, це зумовлено його електронною конфігурацією: молекула кисню (O_2) – бірадикал, який містить на зовнішньому електронному рівні 2 неспарені електрони з паралельними спінами, що пригнічує радикальну активність вільних електронів. У живому організмі реакція відновлення O_2 до H_2O є основою біоенергетики [1, 2].

© Є. Б. Дмухальська, Т. Я. Ярошенко, І. П. Кузьмак, 2018.

Однак аеробні організми стикаються з постійною небезпекою, пов'язаною з тим, що багато процесів з участю молекулярного кисню супроводжується утворенням так званих активних форм Оксигену (АФО) (ROS, Reactive Oxygen Species), які володіють надзвичайно високою реакційною здатністю – миттєво реагують з молекулами, що безпосередньо зв'язані з ними. До таких молекул належать білки, мембранні ліпіди, вуглеводи, нуклеїнові кислоти. У цьому випадку АФО є одним з основних чинників клітинного пошкодження [3, 4].

Активні форми Оксигену – група сполук радикальної і нерадикальної природи, які відрізня-

ються між собою за часом існування та активністю. Усі радикали, що утворюються в організмі, можна розділити на 3 групи [5]:

1. Первинні радикали, що утворюються у ферментативних і неферментативних реакціях одноелектронного окиснення молекул металами змінної валентності (Cu, Fe, Co). Це компоненти дихальної системи, такі, як убіхінон (коензим Q), супероксидний аніон радикал ($O_2^{\cdot-}$) та оксид Нітрогену (NO).

2. Вторинні радикали, що, як правило, утворюються з первинних радикалів: Гідроген пероксид, гіпохлорит та продукти окиснення залишків ненасичених жирних кислот ліпідів (ліпопероксида).

3. Третинні радикали, що утворюються за дії вторинних радикалів на молекули антиоксидантів та інших сполук, які легко окиснюються.

Активні форми Оксигену відіграють значну роль у системній регуляції клітинного та позаклітинного метаболізму. В незначній кількості АФО виконують життєво важливі функції, такі, як: перенесення електронів у дихальному ланцюзі (убіхінон); захист від мікроорганізмів (супероксид-аніон радикал); регуляція кров'яного тиску (NO), а в надмірній кількості проявляють цитотоксичну дію та викликають оксидативний стрес. Фізіологічна і патогенетична роль АФО визначається співвідношенням швидкості генерації АФО та швидкості їх розкладу в різних органах і тканинах, на яке впливають екзо- й ендогенні фактори [3, 6].

Відомо, що важкі метали, такі, як свинець, кадмій, мідь, ртуть та їх сполуки, належать до токсикантів політропної дії, що мають здатність уражати різні органи і системи (кровотворну, нервову, травну, сечовидільну, ендокринну, серцево-судинну). Вони здатні блокувати SH-групи білків-ферментів, чим порушують їх каталітичну функцію, порушувати функції клітинних мембран шляхом стимулювання в них генерації АФО і вільнорадикальних процесів [7].

З літературних джерел відомо, що вільні амінокислоти та низькомолекулярні пептиди проявляють антиоксидантну властивість [8].

Мета дослідження – вивчити вплив пептиду цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцину на генерацію АФО і вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів в уражених щурів різного віку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою вивчення процесів вільнорадикального окиснення за комбінованої дії Плюмбум ацетату, Купрум сульфату, гліфосату використовували лабораторних нелінійних білих щурів-самців 3 вікових груп: статевонезрілих (молодих масою 70–90 г і віком

1–3 міс.), статевозрілих (середніх масою 170–210 г і віком 5–8 міс.) і старих (масою 250–300 г і віком 20–24 міс.). Вік щурів визначали за схемою В. І. Махінько та В. Н. Нікітіна [9].

Субхронічне ураження щурів моделювали шляхом одночасного щоденного перорального введення впродовж 30 діб водних розчинів Плюмбум ацетату в дозі 11 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), Купрум сульфату в дозі 13 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), гліфосату (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$). Як контроль використовували інтактних щурів відповідного віку, яким вводили питну водопровідну дехлоровану воду. З метою корекції виявлених порушень на 21 день експерименту через 6 год після введення токсикантів щодня протягом 10 днів вводили внутрішньошлунково пептид цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин у дозі 9 мг/кг маси тіла (концентрація амінокислот у крові).

Усіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні (контрольні); 2-га – одночасне ураження тварин усіма вищеперерахованими токсикантами; 3-тя – з корекцією пептидом. На 31 добу після останнього введення ксенобіотиків та чинників корекції тварин виводили з експерименту за умов тіопентал-натрієвого наркозу.

Вміст ТБК-активних продуктів визначали за [10], дієнових кон'югатів – за [11], супероксид-аніон радикала – за допомогою тесту з нітросинім тетразолієм [12, 13], гідроксильного радикала – за методом [14]. Експерименти виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Під час проведення досліджень усі тварини перебували у виварії з підтримкою постійної температури та вологості. Утримували щурів і проводили всі експерименти на них відповідно до національних та міжнародних рекомендацій стосовно гуманного поводження з лабораторними тваринами (Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, Страсбург, 1986) [15].

Отриманий цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента [16]. Обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході експерименту спостерігали збільшення продукції активних форм Оксигену за комбінованої дії раундапу, Купрум сульфату та Плюмбум ацета-

ту, а саме загальна (нестимульована) продукція супероксид-аніон радикала в гомогенатах печінки зросла у статевонезрілих щурів на 94 %, у статевозрілих – на 66 %, а в старих – на 91 % від рівня контролю (табл. 1).

Поряд із загальною (нестимульованою) генерацією O_2^{\bullet} ми дослідили утворення O_2^{\bullet} в мітохондріальному та мікосомальному електронно-транспортних ланцюгах за стимулювання НАДФ і НАД. За активації процесу генерація O_2^{\bullet} була значно вищою в мітохондріальному ланцюзі й у молодих, дорослих і старих щурів зросла, відповідно, на 72, 42 та 56 % від рівня в інтактних тварин.

У реакціях дисмутації супероксид-аніон радикала та Гідроген пероксиду в клітинах утворюється найактивніша форма Оксигену – гідроксил-радикал [5, 14]. Наші дослідження показали (табл. 1), що вміст гідроксил-радикала в печінці інтактних щурів зростав з віком. За дії ксенобіотиків швидкість його генерації збільшувалася в щурів усіх вікових груп. Згідно з даними експерименту, концентрація гідроксил-радикала в уражених молодих щурів була значно вищою,

ніж у печінці дорослих і старих тварин. Так, його вміст у гомогенатах печінки уражених молодих тварин у 2,3 раза був вищим порівняно з інтактними щурами, тоді як у дорослих і старих тварин – в 1,9 та 1,8 раза.

Активні форми Оксигену, що генеруються у тварин, отруєних раундапом, Купрум сульфатом та Плюмбум ацетатом, активують реакції вільнорадикального окиснення ліпідів [1]. Для оцінки стану вільнорадикального окиснення ліпідів ми визначали вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів, які найчастіше застосовують в експерименті та клініці [4].

Дієнові кон'югати є первинними продуктами пероксидного окиснення ліпідів, які утворюються при надмірному вмісті АФО, і призводять до деградації клітинних мембран [3, 14]. Дослідження вмісту дієнових кон'югатів за умов токсичного ураження печінки показали, що їх рівень підвищується при дії ксенобіотиків як у плазмі, так і в печінці тварин усіх вікових груп. Проте найбільшого токсичного впливу зазнавали молоді тварини. Так, за комбінованої дії досліджуваних токсикантів вміст дієнових кон'югатів у печінці

Таблиця 1 – Вміст активних форм Оксигену – супероксид-аніон радикала (O_2^{\bullet} нмоль/(с·г) і гідроксильного радикала ($\Delta E \cdot 10^2$ за 30 хв на 1 мг білка) в гомогенатах печінки щурів різного віку при введенні Купрум сульфату, Плюмбум ацетату, гліфосату (у формі раундапу) та пептиду як чинника корекції ($M \pm m, n=10$)

Показник	Біологічна рідина	Група тварин		
		інтактні	уражені	кориговані
Статевонезрілі				
O_2^{\bullet} (загальна генерація), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	1,02±0,04	1,98±0,18*	1,05±0,04**
O_2^{\bullet} (генерація від мікосом), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	18,88±0,97	33,83±2,86*	21,03±1,41**
O_2^{\bullet} (генерація від мітохондрій), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	23,38±0,77	40,22±3,31*	24,21±1,14**
ОН•, ум. од.	Гомогенати печінки	3,30±0,12	7,64±0,90*	3,60±0,17**
Статевозрілі				
O_2^{\bullet} (загальна генерація), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	1,44±0,04	2,39±0,19*	1,49±0,07**
O_2^{\bullet} (генерація від мікосом), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	20,93±0,99	31,18±1,79*	21,43±0,86**
O_2^{\bullet} (генерація від мітохондрій), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	24,95±0,73	35,36±1,97*	25,23±0,89**
ОН•, ум. од.	Гомогенат печінки	5,10±0,19	10,13±0,99*	5,37±0,22**
Старі				
O_2^{\bullet} (загальна генерація), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	2,05±,15	3,93±,37*	2,17±0,13**
O_2^{\bullet} (генерація від мікосом), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	23,40±1,07	38,17±2,79*	25,70±1,30**
O_2^{\bullet} (генерація від мітохондрій), мкмоль/(с·кг)	Гомогенати печінки	25,58±0,82	41,40±2,86*	27,91±0,93**
ОН•, ум. од.	Гомогенати печінки	6,41±0,38	11,62±0,97*	7,08±0,32**

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – результати достовірні відносно інтактних тварин ($p < 0,05$); ** – результати достовірні відносно показників у щурів за умов комбінованого ураження ($p < 0,05$).

3-місячних щурів становив 181 %, а в 6- і 18-місячних – 158 та 151 % від норми. У крові динаміка вмісту дієнових кон'югатів мала аналогічну тенденцію.

У таблиці 2 наведено результати досліджень вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі й тканині печінки інтактних та уражених ксенобіотиками тварин різного віку.

Як видно з даних таблиці 2, вміст ТБК-активних продуктів у здорових тварин з віком збільшувався. Так, їх рівень у печінці статевонезрілих щурів становив $(37,35 \pm 1,03)$ мкмоль/кг і був нижчий на 4,6 та 14,3 % порівняно з аналогічним

показником у дорослих і старих тварин, а в плазмі крові – $(6,11 \pm 0,23)$ мкмоль/л (на 5,2 та 13,9 % відповідно, $p < 0,05$). За комбінованої дії ксенобіотиків вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові молодих щурів зріс в 1,3 раза, дорослих – в 1,2 раза, старих – в 1,5 раза від рівня контролю. Кількість ТБК-активних продуктів також збільшувалась і в гомогенатах печінки.

Введення ураженим щурам пептиду цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцину сприяє нормалізації активності вільнорадикальних процесів, що, очевидно, пов'язано з наявністю в нього антиоксидантних властивостей.

Таблиця 2 – Вміст ТБК-активних продуктів і дієнових кон'югатів у крові та гомогенатах печінки щурів за умов тривалої комбінованої дії Купрум сульфату, Плюмбум ацетату, гліфосату (у формі раундапу) і при введенні пептиду ($M \pm m$, $n=10$)

Група тварин	ТБК-активні продукти		Дієнові кон'югати	
	сироватка крові, мкмоль/л	гомогенати печінки, нмоль \times мг ⁻¹ протеїну	сироватка крові, $\times 10^3$ ум. од./л	гомогенати печінки, $\times 10^3$ ум. од./кг
Статевонезрілі				
Інтактні	6,11 \pm 0,23	37,35 \pm 1,03	1,03 \pm 0,02	5,40 \pm 0,20
Уражені	7,18 \pm 0,33*	56,84 \pm 2,36*	1,74 \pm 0,04*	9,77 \pm 0,28
Кориговані	6,29 \pm 0,12	37,56 \pm 1,19	1,09 \pm 0,02**	5,65 \pm 0,20**
Статевозрілі				
Інтактні	6,43 \pm 0,27	39,05 \pm 1,24	1,11 \pm 0,03	6,24 \pm 0,20
Уражені	8,51 \pm 0,18*	56,84 \pm 2,36*	2,11 \pm 0,03*	9,88 \pm 0,58*
Кориговані	6,53 \pm 0,20**	40,02 \pm 1,17**	1,16 \pm 0,04**	6,47 \pm 0,27**
Старі				
Інтактні	6,96 \pm 0,26	42,68 \pm 0,56	1,31 \pm 0,04	7,1 \pm 0,20
Уражені	10,75 \pm 0,26*	70,90 \pm 1,15*	2,91 \pm 0,13*	10,7 \pm 0,14*
Кориговані	7,25 \pm 0,16**	8,07 \pm 0,32**	7,34 \pm 0,32**	7,47 \pm 0,39**

ВИСНОВКИ. 1. Генерація активних форм кисню зростає як в інтактних, так і в уражених ксенобіотиками щурів. Найвищий вміст АФО спостерігають за комбінованої дії важких металів та гліфосату в мододих тварин.

2. За комбінованої дії в щурів усіх вікових груп зростає активність вільнорадикального окиснення, про що свідчить підвищення вмісту дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів.

3. Введення ураженим щурам пептиду цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцину сприяє зниженню вмісту АФО й активності вільнорадикальних процесів, що, очевидно, вказує на те, що цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин проявляє антиоксидантні властивості.

Перспективи подальших досліджень. Плануємо визначити вплив пептидів на показники ліпідного обміну в тварин, уражених Купрум сульфатом, Плюмбум ацетатом та раундапом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / [Е. Б. Меньшиков, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др.]. – М. : Слово, 2006. – 553 с.
2. Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б. Т. Величковский // Вестн. РАМН. – 2001. – № 6. – С. 45–52.
3. Левин Г. Я. Роль перекисного окисления липидов в агрегации клеток крови при ожоговой болезни /

Г. Я. Левин, М. Н. Егорихина // Клинич. лаб. диагностика. – 2008. – № 8. – С. 43–44.

4. Gutteridge J. M. Antioxidants: molecules, medicines and myths / J. M. Gutteridge, B. Halliwell // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2010. – **393**. – Р. 564.

5. Нетюхайло Л. Г. Активні форми кисню (огляд літератури) / Л. Г. Нетюхайло, С. В. Харченко // Молодий вчений. – 2014. – № 9 (12). – С. 131–135.

6. Заворотная Р. М. Синглетный кислород при лечении ряда патологических процессов: физико-хи-

мические аспекты / Р. М. Заворотная // Укр. ревматол. журн. – 2002. – № 1. – С. 35–37.

7. К клинике и лечению неврологических и абдоминальных нарушений при хронической свинцовой интоксикации / Г. М. Балан, И. В. Юрченко, Л. В. Игнатенко [и др.] // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 4. – С. 50–56.

8. Болдырев А. А. Биомембранология : учеб. пособие. / А. А. Болдырев, Е. И. Кяйвярйянен, В. А. Илюха. – Красноярск : Сибирский федеральный ун-т, 2008. – 186 с.

9. Махинько В. И. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс / В. И. Махинько, В. Н. Никитин // Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. – К., 1975. – С. 308–326.

10. Крась С. І. Тканинна специфіка функціонування антиоксидантної системи та пероксидного окислення ліпідів в амурського сазана різних вікових груп / С. І. Крась, С. І. Тарасюк // Укр. біохім. журн. – 2011. – 83, № 4. – С. 77–83.

11. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Ка-

мышников. – Минск : Беларусь, 2002. – Т. 1. – С. 447–546.

12. Костенко В. О. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання / В. О. Костенко, О. І. Цебржинський // Фізіол. журн. – 2000. – 46, № 5. – С. 56–62.

13. Able A. J. Use of a new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of phytophthora parasitica var nicotianae/ A. J. Able, D. I. Guest, M. W. Sutherland // Plant Physiol. – 1998. – 117, No 2. – P. 491–499.

14. Shin-Kyo Chung. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*) / Shin-Kyo Chung, Toshihiko Osawa, Shunro Kawakishi // Biosei. Biotedl. Biochem. – 1997 – 61 (1). – P. 118–123, <https://doi.org/10.1271/bbb.61.118>

15. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

16. Bernard Rosner. Fundamentals of Biostatistics / Bernard Rosner. – Boston, USA. – 2010. – 859 p.

REFERENCES

1. Menshikova, E.B., Lankin, V.Z., & Zenkov, N.K. (2006). *Okislitelnyy stress. Prooksidanty i antioksidanty [Oxidative stress. Proxidants and antioxidants]*. Moscow: Slovo [in Russian].

2. Velichkovskiy, B.T. (2001). Svobodnoradikalnoe okisleniye kak zveno srochnoy i dolgovremennoy adaptatsii organizma k fakroram okruzhayushchey sredy [Free radical oxidation as a link of urgent and long-term adaptation of the organism to environmental factors]. *Vestnik RAMN – Bulletin of RAMS*, 6, 45-52 [in Russian].

3. Levin, G.Ya., & Egorikhina, M.N. (2008). Rol perikesnogo okisleniya lipidov v agregatsii kletok krovi pri ozhogovoy bolezni [Role of lipid peroxidation in aggregation of blood cells in case of burn disease]. *Klin. lab. diagnostika – Clinical Laboratory Diagnostics*, 8, 43-44 [in Russian].

4. Gutteridge, J.M., & Halliwell, B. (2010). Antioxidants: molecules, medicines and myths. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 393, 564.

5. Netiykhailo, L.H., & Kharchenko, S.V. (2014). Aktyvni formy kysniu (ohliad literatury) [Active forms of oxygen (Literature overview)]. *Molodyi vchenyi – Young Scientist*, 9 (12), 131-135 [in Ukrainian].

6. Zavorotnaya, R.M. (2002). Singletniy kislород pri lechenii ryada patologicheskikh protsesov: fiziko-khimicheskie aspekty [Singlet oxygen in the treatment of a number of pathological processes: physical and chemical aspects]. *Ukr. revmatol. zhurnal – Ukrainian Rheumatological Journal*, 1, 35-37 [in Russian].

7. Balan G.M., Yurchenko, I.V., & Ignatenko, L.V. (2003). K klinike i lecheniyu nevrologicheskikh i abdominalnykh narusheniy pri khronicheskoy svintsovoy intoksikatsii [Clinic and treatment of neurological and ab-

dominal disorders with chronic lead intoxication]. *Sovrem. probl toxicologi – Modern Problems of Toxicology*, 4, 50-56 [in Russian].

8. Boldyrev, A.A., Kayvyaryaynen, V.A., & Ilyukha, V.A. (2008). *Biomembranologiya: ucheb. posobie [Biomembranology: Textbook]*. Krasnoyarsk: Siberian Federal University [in Russian].

9. Makhinko, V.I., & Nikitin, V.N. (1975). Konstany rosta i funktsionalnyie periody razvitiia v postnatalnoi zhizni belykh kryis [Growth constants and functional development periods in the postnatal life of white rats]. *Molekuliarnye i fiziologicheskie mekhanizmy vozzrastnogo razvitiia – Molecular and physiological mechanisms of age development*. Kyiv [in Russian].

10. Kras, S.I., & Tarasiuk, S.I. (2011). Tkanynna spetsyfyka funktsionuvannya antyoksydantnoho okysleniia lipidiv v amurskoho sазana riznykh vikovykh hrup [Tissue specificity of the functioning of the antioxidant system and peroxide oxidation of lipids in the Amur sazan of different age groups]. *Ukr. biokhim. zhurn. – Ukrainian Biochemical Journal*, 83 (4), 77-83 [in Ukrainian].

11. Kamyshnikov, V.S. (2002). *Spravochnik po kliniko-biokhimicheskoy laboratornoy diagnostike [Reference book on clinical and biochemical laboratory diagnostics]*. Minsk: Belarus [in Russian].

12. Kostenko, V.O., & Tsebrzhynskiy, O.I. (2000). Produktsiia superoksydnoho anion-radykala ta oksydu azotu u tkanyni nyrok pislia khirurhichnoho vtruchannia [Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissue after surgical intervention]. *Fiziol. Zhurn. – Physiol. Journ.*, 46 (5), 56-62 [in Ukrainian].

13. Able, A.J., Guest, D.I., & Sutherland, M.W. (1998). Use of a new tetrazolium-based assay to study the

production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of phytophthora parasitica var nicotianae. *Plant Physiol.*, 117 (2), 491-499.

14. Shin-Kyo Chung, Toshihiko Osawa, & Shunro Kawakishi (1997). Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosei. Biotedl. Biochem.*, 61 (1), 118-123. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.118>

15. Kozhemiakina, Yu.M., Khromova, O.S., & Filonenko, M.A. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for the maintenance of laboratory animals and work with them]*. Kyiv: Avitsenna [in Ukrainian].

16. Bernard Rosner (2010). *Fundamentals of Biostatistics*. Boston, USA.

Е. Б. Дмухальская, Т. Я. Ярошенко, И. П. Кузьмак
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ЦИСТЕИЛ-ГИСТИДИЛ-ТИРОЗИЛ-ГИСТИДИЛ-ИЗОЛЕЙЦИНА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ГЛИФОСАТА

Резюме

Вступление. Оксидативный стресс играет важную роль в патогенезе большого количества заболеваний, таких, как цирроз печени, атеросклероз, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, канцерогенез и др. Основным механизмом возникновения оксидативного стресса является нарушение баланса между процессами окисления и восстановления под действием внешних факторов: токсических веществ, радиоактивного облучения, лекарств. Ионы тяжелых металлов, особенно с переменной валентностью, генерируют продукты неполного восстановления кислорода – активные формы кислорода, разрушающие биологически важные молекулы (липиды, белки, нуклеиновые кислоты).

Цель исследования – изучить влияние пептида цистеил-гистидил-тирозил-гистидил-изолейцина на генерацию активных форм кислорода и содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов у пораженных крыс разного возраста.

Методы исследования. опыты проводили на лабораторных нелинейных белых крысах-самцах 3 возрастных групп: полового созревания, половой зрелости и старых животных, которым внутрижелудочно в течение 30 дней вводили водные растворы ацетата свинца, сульфата меди, глифосата (в форме гербицида раундапа). С целью коррекции на 21 день через 6 часов после введения токсикантов в течение 10 дней вводили пептид цистеил-гистидил-тирозил-гистидил-изолейцин. Состояние свободнорадикального окисления липидов оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов и диеновых конъюгатов в сыворотке крови и гомогенатах печени. Содержание супероксид-анион радикала определяли с помощью теста с нитросиним тетразолием, гидроксильного радикала – по продукту окисления 2-дезоксирибозы.

Результаты и обсуждение. Установлено, что у крыс при комбинированном действии глифосата (в форме раундапа), ацетата свинца, сульфата меди с возрастом активируются процессы свободнорадикального окисления липидов и генерация активных форм кислорода, о чем свидетельствовало возрастание содержания диеновых конъюгатов, ТБК-активных продуктов, супероксид-анион и гидроксильного радикалов. При использовании пептида как фактора коррекции снижалось содержание активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов.

Вывод. Введение пептида, как фактора коррекции, крысам с токсическим поражением печени снижает генерацию активных форм кислорода и содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксидативный стресс; свободные радикалы; активные формы кислорода; свободнорадикальное окисление; глифосат; ацетат свинца; сульфат меди.

Ye. B. Dumukhalska, T. Ya. Yaroshenko, I. P. Kuzmak

PROTECTIVE EFFECT OF THE CISTEILE-HISTIDILE-TYROSILE-HISTIDILE-ISOLEUCINE AGAINST HEAVY METAL AND GLYFOSATE INDUCED ON CONTENT OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND REACTIVE OXYGEN SPECIES IN DIFFERENT AGE RATS

Summary

Introduction. Oxidative stress plays a critical role in the pathophysiology of several diseases: liver cirrhosis, atherosclerosis, diabetes mellitus, ischemic heart disease, carcinogenesis, etc. The main mechanism of oxidative stress induced is the disturbance oxidation and reduction processes by various factors such as toxic substances, radiation, temperature, drugs. Ions of heavy metals (transition metals) lead to the production of reactive oxygen species (ROS), causing a lipid peroxidation and other main biomolecules (proteins, nucleic acids).

The aim of the study – to learn the influence of peptid: cisteil-histidil-tyrosil-histidil-isoleucine on generation of active forms of oxygen the content of products of free lipid peroxidation.

Research Methods. The experiment was carried out on lab nonlinear white rats – males three age periods: puberty, mature and old aging animals. The rats received the lead acetate, copper sulfate, glyphosate (in herbicide Roundup) in combined and peptide as correction agent. Subchronic lesions in rats was modelled by intragastric administration of water solution of Lead Acetate at a dose of 11 mg/kg, Copper Sulfate at a dose of 13 mg / kg, Glyphosate at a dose of 250 mg / kg. Dechlorinated drinking tap water to intact animals was added. The correction effect was research by the during 10 days intragastric administration of water solution of peptide cisteil-histidil-tyrosil-histidil-isoleucine in a dose of 9 mg / kg at 21th day of the experiment after 6 hours after toxins. The degree of lipid peroxidation was assayed by estimating the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and diene conjugates (DK) in blood serum and liver homogenates by spectrophotometric method. The superoxide anion-radical content was determined by test with Nitrobluetetrazolium, hydroxyl radical content was determined by the product of oxidation of 2-deoxyribose.

Results and Discussion. It was established that the production of reactive oxygen species and lipid peroxidation increase by the combined effect of glyphosate (in Roundup form herbicide), lead acetate, copper sulfate in different age rats. There was a significant increase in concentration of TBARS, diene conjugates, superoxide anion-radical and hydroxyl radical. One of the most probable mechanisms of peptide: cisteil-histidil-tyrosil-histidil-isoleucine corrective activity is based on its ability to antioxidant activity that decrease concentration of a production of reactive oxygen species and a lipid peroxidation.

Conclusion. The protective effect of peptide: tsysteil-histidil-tyrosil-histidil-isoleucine on liver damages rats induced by toxicity is administration induced loss to the production of reactive oxygen species, causing a lipid peroxidation.

KEY WORDS: oxidative stress; free radicals; active forms of oxygen; free radical oxidation; glyphosate; lead acetate; copper sulfate.

Отримано 17.04.18

Адреса для листування: Є. Б. Дмухальська, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: dmukhalska@tdmu.edu.ua.