

**АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
“ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ”**

ВИСОЦЬКИЙ Ігор Юрійович

УДК 616-099-022.855:547-311:615

**ТОКСИКОДИНАМІКА ТА ТЕРАПІЯ ГОСТРИХ
ІНГАЛЯЦІЙНИХ ОТРУЄНЬ ЕПОКСИДНИМИ СМОЛАМИ
(експериментальне дослідження)**

14.03.06 – токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2007

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Сумському державному університеті Міністерства освіти і науки України.

Науковий консультант - доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України

Лук`янчук Віктор Дмитрович,

Луганський державний медичний університет

МОЗ України, м. Луганськ,

завідувач кафедри фармакології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук **Серединська Наталія Миколаївна**, Державна установа “Інститут фармакології та токсикології” АМН України, м. Київ, головний науковий співробітник відділу фармакології серцево-судинних засобів;

доктор медичних наук, професор **Горчакова Надія Олександрівна**, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця МОЗ України, м. Київ, професор кафедри фармакології з курсом клінічної фармакології;

доктор медичних наук **Жирнов Віктор Валентинович**, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, м. Київ, завідувач відділу сигнальних систем клітини.

Захист відбудеться 20 лютого 2008 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Державній установі “Інститут фармакології та токсикології” АМН України (03057, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи “Інститут фармакології та токсикології” АМН України (03057, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14).

Автореферат розісланий 10 січня 2008 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук



І.В. Данова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Епоксидні смоли (ЕС), завдяки своїм універсальним властивостям, використовуються в наш час у багатьох галузях промисловості і сферах життєдіяльності людини. Постійно відбувається розроблення і впровадження нових технологій їх синтезу, перероблення, збільшується виробництво полімерних матеріалів на основі ЕС, розширюються галузі їх застосування (И.М. Трахтенберг, 2000; L. Calzado et al., 2005; J.S. Seo et al., 2007; M.Ambroziak et al., 2007). Особливо широко застосовуються як зв'язувальні при виробництві виробів із склопластиків діанові ЕС, які відрізняються високою біологічною активністю і становлять більше ніж 90% від загального випуску (А.М. Шевченко, А.П. Яворовский, 1985; Л.П. Заприводе, 2005).

При синтезі ЕС та їх використанні у виробництві для виготовлення склопластику та інших полімерних матеріалів робітники зазнають постійного інтенсивного впливу переважно летких хімічних речовин (епіхлоргідрин, толуол, дифенілол-пропан та ін.), вміст яких у повітрі робочої зони значно перевищує гранично допустимі концентрації (ГДК) (В.В. Манфановский и др., 1987; А.М. Шевченко и др., 1988; В.Я. Витрищак, 1990; А.П. Яворовский и др., 2004, 2005), що створює умови для гострих і хронічних професійних інтоксикацій (М.А. Гайворонская, И.А. Парпалей, 1998; Ю.О. Паустовский, 1999; T.J. Cheng et al., 1999; K. Rasmussen et al., 2005). У разі порушення герметичності в технологічному циклі або виникнення аварійних ситуацій концентрація летких компонентів може збільшуватися до смертельно небезпечного рівня для осіб, що перебувають в цих умовах. Так, смертність серед робітників, які зазнали впливу епіхлоргідрину (ЕХГ), на хімічних заводах США за 1948-1983 рр. становила 93 випадки на 863 робітники, тобто приблизно 11% (Р.Е. Enterline et al., 1990). Шкідливий вплив летких компонентів ЕС посилюється позмінним режимом праці, який сприяє виникненню явищ хронічного десинхронозу і зниженню адаптаційних резервів організму. Епоксисполуки можуть також виділятися в повітря, харчові продукти і воду із ряду синтетичних полімерів і у звичайних побутових умовах (М. Радева, М. Ставрева, 1989; M.R. Philo et al., 1997; A. Poole et al., 2004; А.К. Маненко та ін., 2006). Вони також утворюються в організмі при метаболізмі багатьох хімічних сполук, які містять ненасичений подвійний зв'язок, і є природними проміжними метаболітами різних ендогенних сполук (И.Е. Ковалева, О.Ю. Полевая, 1985; J.L. Maggs et al., 1997; L. Ryan et al., 2006; В. Marczynski et al., 2007; D. Ai et al., 2007).

Несприятливі умови праці на виробництві склопластиків і синтезі епоксисполук підтверджуються результатами клінічного обстеження стану здоров'я робітників і аналізом захворюваності з тимчасовою втратою працездатності, яка значно вища, ніж у осіб, що не зазнавали впливу летких компонентів ЕС (В.Я. Витрищак, 1990). Останні відрізняються високою токсичністю і політропністю шкідливого впливу на організм працюючого, що проявляється ураженням органів дихання, шлунково-кишкового тракту, опорно-рухового апарату, шкіри, нирок, а також порушеннями в імунній і нервовій системах (А.М. Шевченко, А.П. Яворовский, 1985; Я.Б. Ли, 2001; Т.П. Гречішкіна, 2004; T. Spee et al., 2006; L. Mei et al., 2006; D.H. Lee et al., 2006). Необхідно особливо підкреслити, що у робітників, які контактують з ЕС, у 20-57% випадків розвиваються токсичні гепатопатії. Особливостями останніх є те, що вони протікають у тяжких формах і після проведеного лікування, при відновленні контакту з ЕС, рецидивують (В.Я. Витрищак, 1990; В.О. Шефтель, 1991; Т.Н. Hunag et al., 2001).

Лікування гострих отруєнь леткими компонентами ЕС проводиться шляхом застосування тільки симптоматичних засобів, які не виявляють необхідного терапевтичного ефекту. Будь-які достатньо обґрунтовані засоби антидотної і патогенетичної терапії, а також профілактики інтоксикацій леткими компонентами ЕС на сьогодні відсутні, що і визначає актуальність таких досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках теми НДР кафедри фармакології ЛДМУ "Фармакологічна регуляція природних шляхів захисту організму при дії несприятливих факторів зовнішнього середовища" (№ держреєстрації 01900004544, 1990-1994 рр.); теми НДР ЦНДЛ ЛДМУ "Вплив екологічно несприятливих факторів на організм в умовах промислового регіону і розробка методів корекції метаболізму і інтенсивної терапії" (№

держреєстрації 01910033409, 1991-1995 рр.), а також на прохання адміністрації Сіверськодонецького виробничого об'єднання "Склопластик" Луганської області (лист №14-12-5911 від 4.04.1991 р.); згідно з планом Всесоюзного науково-дослідного інституту гігієни і токсикології пестицидів, полімерів і пластичних мас в рамках Всесоюзної проблеми "Наукові основи гігієни і токсикології пестицидів, полімерних і пластичних мас (шифр проблеми 14.03.01.69, 1990-1995 рр.); пріоритетного конкурсного фінансування МОЗ України у сфері фундаментальних досліджень "Молекулярні механізми мембранопротекторної дії, біотранспорту і біотрансформації кверцетину при використанні його в екстремальних умовах (гіпоксія, гіпертермія, інтоксикація)" (1992-1994 рр.); теми НДР медичного факультету СумДУ "Вивчення стану здоров'я населення Сумської області в умовах впливу несприятливих соціальних, економічних і екологічних факторів" (№ держреєстрації 0101U002098, 1999-2004 рр.).

Мета роботи. На основі експериментальних досліджень встановити токсикометричні параметри епоксидних смол, вивчити характер і механізми формування порушень в організмі при гострій інгаляційній інтоксикації їх леткими компонентами та обґрунтувати шляхи фармакологічної корекції.

Завдання дослідження:

1. Визначити параметри токсикометрії при дії на організм ЕС (ЕД-20, Е-40), ЕХГ і його метаболіту 3-хлор-1,2-пропандіолу і встановити роль біологічних ритмів в їх реалізації.

2. Встановити можливість комплексоутворення ЕХГ з білками сироватки крові і вплив на цей процес кверцетину.

3. Дослідити вплив летких компонентів ЕС на прооксидантно-антиоксидантний і енергетичний гомеостаз, а також детоксикуючу систему печінки щурів.

4. Оцінити вплив летких компонентів ЕС на метаболізм арахідонової кислоти (АК) і окремі ланки передачі внутрішньоклітинного сигналу по аденілат- і гуанілатциклазному шляхах.

5. Теоретично обґрунтувати вибір потенційних детоксикуючих засобів при дії летких компонентів ЕС і провести їх цілеспрямований скринінг.

6. На моделях гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС і ЕХГ провести пошук антидотно-лікувальних засобів хімічного і фізико-хімічного типів дії серед синтетичних полімерів, що містять третинні аміногрупи, і ентеросорбентів.

7. Встановити основні механізми реалізації лікувально-профілактичної дії найбільш ефективних препаратів при гострому інгаляційному отруєнні ЕС і на основі цього розробити їх раціональні комбінації.

Об'єкт дослідження – гострі інгаляційні отруєння, викликані ЕС і ЕХГ.

Предмет дослідження – показники токсичності, комплексоутворення з білками, вільнорадикального, мікросомального та енергозабезпечувального окислення, метаболізму АК, активності клітинних сигнальних систем у тварин на тлі гострого інгаляційного впливу ЕС і його фармакологічної корекції.

Методи дослідження – токсикологічні, фармакологічні, біохімічні, біофізичні, радіоімунні, гістологічні, електронно-мікроскопічні і статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі вперше встановлено, що ЕС ЕД-20 і Е-40 при інгаляційному шляху надходження в організм є високотоксичними сполуками для теплокровних тварин, становлять потенційну і реальну небезпеку розвитку гострого смертельного отруєння, мають гепатотоксичну дію, яка залежить від добових і сезонних біологічних ритмів.

Вивчені молекулярні механізми розвитку гострої інтоксикації ЕС, основу патогенезу якої складає поширена мембранопатія, що формується в результаті порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, функціонування основних компонентів мітохондріального (асоційований комплекс залізо-сірчані білки – флавінаденіндинуклеотид, довгоіснуючі вільні радикали) і мікросомального (цитохром Р-450, Мо⁵⁺-вмісні парамагнітні комплекси, епоксидгідролаза, глутатіон-S-трансфераза) електрон-транспортних ланцюгів. Вперше встановлені порушення біоенергетичних процесів в організмі при токсичній дії ЕС (зменшення АТФ/АДФ·Ф_н), що пов'язано з гальмуванням дихання і окисного фосфорилування і зниженням вмісту окислених форм нікотин-амідних коферментів.

В умовах змодельованої патології хімічної етіології одержані нові дані про значні порушення в механізмі передачі внутрішньоклітинного сигналу по аденілат- і гуанілатциклазному шляхах, що проявляється фазовими змінами рівня адренкортикотропного гормону (АКТГ) в крові, а також циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) і циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) в печінці.

Вперше виявлено, що під впливом летких компонентів ЕС розвивається дисбаланс в метаболізмі АК як по ліпоксигеназному, так і по циклооксигеназному шляхах за рахунок збільшення продукції високоагресивних ейкозаноїдів – лейкотрієну B_4 (LTB_4), простагландину $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), тромбоксану B_2 (TXB_2) – і зменшення простагландину E_2 (PGE_2) і простацикліну (PGI_2), які проявляють гепатозахисні властивості.

Вперше доведена висока лікувально-профілактична ефективність при досліджуваній формі токсичного процесу препаратів метаболітного і антиоксидантного типів дії (кверцетин, ліпін, флавінат), синтетичних антиоксидантів ([2-(3'-сульфоланілокси)етил]триметиламоній йодид), SH-вмісних препаратів (ацетилцистеїн), індукторів епоксидгідролази (клофібрат, омепразол), синтетичних високомолекулярних сполук (співполімер N-вінілпіролідону, N,N-диметил-аміноетилметакрилату та вінілбутилового ефіру) і ентеросорбентів (карбовіт, карбовіт-М).

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати поглиблюють існуючі уявлення про ключові механізми порушення гомеостазу організму на фоні гострого отруєння леткими компонентами ЕС.

Встановлений зв'язок біологічної дії ЕС і ЕХГ з наявністю в їх структурі епоксигруп дозволяє виявити спільну ланку в механізмі токсичної дії даного класу ксенобіотиків, що має визначальне значення у плані розроблення заходів патогенетично обґрунтованої профілактики і лікування інтоксикацій цими сполуками.

На основі встановлених механізмів токсичної дії ЕС теоретично і експериментально доведена доцільність використання для профілактики та лікування викликаних ними отруєнь кверцетину, флавінату, ліпіну та ацетилцистеїну. Обґрунтовано застосування омепразолу і клофібрату як істинних індукторів епоксидгідролази з метою профілактики отруєнь ЕС. Показана ефективність ентеросорбції як доступного патогенетичного методу в лікуванні гострих інтоксикацій ЕС, поєданого застосування ацетилцистеїну з флавінатом, ацетилцистеїну з ліпіном або кверцетину з ліпіном, які діють на різні ланки патогенезу отруєнь. Встановлено недоцільність застосування з лікувальною метою препаратів, що індукують МОС, знижують активність епоксидгідролази і зменшують рівень SH-груп біосубстратів.

За результатами експериментальних досліджень опубліковані методичні рекомендації: “Патогенетична терапія токсичних пошкоджень печінки” (Київ-Луганськ, 1993); “Комбінована фармакотерапія токсичних уражень печінки леткими компонентами епоксидних смол” (Київ, 1993, реєстр. № 96/2/3) та інформаційний лист “Способ лечения токсических гепатопатий” (Київ, 1991). За матеріалами дисертації одержано авторське свідоцтво СРСР на винахід “ α -(Пиридин-2-ил)- α -(3,4-диоксиафтил-1) ацетонитрил, обладающий антиоксидантной активностью” (№ 1624954) і 2 патенти України на винаходи: “Сополімер N-вінілпіролідону, N,N-ди-метиламіноетилметакрилату та вінілбутилового ефіру, що проявляє детоксикуючу активність по відношенню до алкілюючих агентів” (№0031641А) і “Сполука, що має антиоксидантну та детоксикуючу активність” (№52658).

Результати дисертаційної роботи використовуються у науковій роботі і навчальному процесі кафедр фармакології та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Одеського, Луганського, Тернопільського, Кримського, Івано-Франківського, Харківського медичних університетів, Сумського державного університету, Ужгородського національного університету, Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна і Дніпропетровської державної медичної академії.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно розроблена програма наукових досліджень, проведені токсикологічні, фармакологічні, біохімічні експерименти. Визначення нікотинамідаденіндинуклеотидів і аденілових нуклеотидів виконано за допомогою співробітників кафедри фармакології з курсом клінічної фармакології НМУ ім. О.О. Богомольця (зав. кафедри – професор,

член-кор. НАН і АМН України І.С. Чекман). Радіоімунологічні і морфологічні дослідження виконані з консультативною допомогою співробітників ЦНДЛ ЛДМУ (зав. – професор І.О. Комаревцева). Самостійно проведені статистична обробка, аналіз результатів досліджень, сформульовані основні положення дисертаційної роботи і висновки.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на VI з'їзді фармакологів Української РСР “Фармакологія: состояние и перспективы исследований” (Харків, 1990), науково-практичній конференції “Лекарственные средства Украины, синтез, научные исследования, производство, реализация” (Харків, 1992), симпозиумі-наradі за міжнародною участю “Експериментальна фармакологія – клініці” (Вінниця-Київ, 1992), I Українській науковій конференції за участю країн СНД “Актуальні проблеми клінічної фармакології” (Вінниця, 1993), II науковій сесії “Актуальні проблеми екологічної та клінічної імунології, алергології та генетики” (Київ-Луганськ, 1993), V і X конгресах світової федерації Українських лікарських товариств (Дніпропетровськ, 1994; Чернівці, 2004), VI, VII і IX підсумкових науково-практичних конференціях медичного факультету СумДУ “Современные проблемы клинической и экспериментальной медицины” (Суми, 1998, 1999, 2001), I, II з'їздах токсикологів України (Київ, 2001, 2004), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні питання теоретичної та практичної медицини” (Суми, 2002), III Всеукраїнській науково-практичній конференції “Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини” (Суми, 2004), IV Українській науково-практичній конференції за міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2004), Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний стан і проблеми експериментальної та клінічної медицини” (Тернопіль, 2004), VI Міжнародній науково-практичній конференції “Актуальні проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини” (Київ, 2005), VI Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 2005), Міжнародних науково-практичних конференціях “Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини” (Суми, 2005, 2006, 2007), на конференції “Токсикологічні проблеми безпеки середовища життєдіяльності людини та безпеки харчових продуктів у Східній та Центральній Європі” (Київ, 2006), III Національному з'їзді фармакологів України (Одеса, 2006), засіданні Сумського відділення товариства токсикологів України (Суми, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007), засіданні регіонального відділення Асоціації фармакологів України по Харківській, Сумській і Чернігівській областях (Одеса, 2006).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 27 статей у профільних фахових виданнях, затверджених ВАКом України, 1 авторське свідоцтво, 2 патенти України на винаходи, 7 праць у матеріалах і тезах з'їздів та конференцій, 2 методичні рекомендації, 1 інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, 6 розділів власних досліджень, обговорення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури. Дисертація викладена на 373 сторінках, ілюстрована 70 таблицями, 38 рисунками. Список літератури містить 494 джерела (з них 169 вітчизняних авторів).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. У роботі досліджувалися діанові ЕС марок ЕД-20 (ГОСТ 10587-84) і Е-40 (ОСТ 6-10-416-77), їх найбільш небезпечний в токсикологічному відношенні компонент – ЕХГ – і його метаболіт – 3-хлор-1,2-пропандіол.

В експерименті використано 4147 тварин, у тому числі 1325 білих нелінійних щурів, 2647 щурів лінії Вістар, 96 білих безпородних мишей і 79 мишей лінії BALB/c. Всі тварини були статевозрілі, обох статей з масою тіла 160-240 г – щурі і 19-28 г – миші. Для досліду тварин брали після проходження карантину протягом 20-25 днів.

Інгаляційну затравку лабораторних тварин (білих щурів) леткими компонентами ЕС здійснювали динамічним способом при 4-годинній експозиції (И.В. Саноцкий, 1970; А.П. Яворовский, 1990) в нашій модифікації (І.Ю. Висоцький, К.Г. Калікін, 1991) і статичним способом в умовах 30-хвилинної експозиції ЕХГ за методикою В.Д. Лук'янчука (1979). При вивченні порівняльної токсичності ЕХГ і його метаболіту 3-хлор-1,2-пропандіолу ці речовини вводили перорально у вигляді 1-5% розчинів.

Токсикометричні параметри досліджуваних речовин розраховували за допомогою методу найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності (В.Б. Прозоровский, 1962), а також експрес-методу (В.Б. Прозоровский и др., 1978) і методу “однієї точки” за Van der Vaerden (1970). Протягом 14 днів фіксували клінічну картину інтоксикації та загибель тварин.

Вміст летких продуктів у повітрі затравної камери регулювали за рахунок зміни наважки досліджуваної речовини, температури нагрівання і режиму повітряного обміну. Як провідний і характерний компонент летких компонентів ЕС ЕД-20 і Е-40 був взятий ЕХГ. Концентрацію парів ЕХГ у повітрі затравної камери визначали за методом М.С. Биховської та ін. (1966).

Для визначення порога гострої (Lim_{ac}) і порога специфічної (Lim_{sp}) загальнотоксичної дії ЕС у тварин після 4-годинної затравки реєстрували ректальну температуру тіла за допомогою електротермометра ТПЕМ-1, вміст SH-груп у крові (P.D. Boyer, 1954), відносну масу печінки, активність аланін-амінотрансферази (АлАТ) в сироватці крові (S. Reitman, S. Francel, 1977) і час виведення бромсульфалеїну (БСФ) з жовчю (Л.И. Израйлет и др., 1976). Розраховували зони гострої (Z_{ac}) і специфічної (Z_{sp}) дії. Про функцію нирок робили висновок за величиною добового діурезу, концентрацією сечовини у крові і хлоридів в сечі (ВІО-ЛА-ТЕСТ, Чехія).

Вивчення впливу добових і сезонних біоритмів на токсичність ЕХГ і ЕС при смертельних (LD_{50} , LK_{50}) і близьких до порогових ($1/10 LD_{50}$, LK_{50}) рівнях впливу проводили на окремих групах тварин, яких утримували у звукоізольованих з контрольованою температурою штучно освітлюваних кімнатах при співвідношенні світлого і темного періодів 12:12. Дослідження проводили з 4- (ЕХГ) і 12-годинними (ЕС) інтервалами, а також в середині зими, весни, літа і осені о 12-й годині. ЕХГ вводили в організм перорально у вигляді 5% олійного розчину, а леткі компоненти ЕС – інгаляційно протягом 4 годин.

Дослідження процесів зв'язування ЕХГ сироваткою крові, а також окремими білковими фракціями сироватки, такими, як альбумін (виробництва фірми “Reanal”) і γ -глобулін (виробництва INCSTAR Corporation), проводили методом рівноважного діалізу у модифікованому А.І. Луйком і В.Д. Лук'янчуком (1985) апараті С.І. Чегера (1975). Розрахунок кількісних параметрів комплексоутворення (константа асоціації – K_a і число місць зв'язування – N) здійснювали графічним методом Скетчарда (1984). Визначення концентрації ЕХГ в сироватці крові і сечі проводили за методикою Г.К. Гризунової та ін. (1993).

Скринінг потенціальних антиоксидантів проводили в дослідках *in vitro* на моделі ініційованого окислення метилових ефірів ненасичених жирних кислот (H. Fernandez, 1982), джерелом яких був “Лінетол”. Аліквоти інкубаційного середовища відбирали в динаміці через 10, 20, 30 і 40 хвилин з моменту ініціювання перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) Fe^{2+} . Про інтенсивність пероксидації лінетолу робили висновок за вмістом продуктів ПОЛ, які реагували з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) (H. Okhawa, 1979).

Первинний фармакологічний скринінг потенційних детоксикуючих засобів проводили на моделі гострої пероральної інтоксикації ЕХГ (LD_{50} - LD_{100}) як серед відомих лікарських засобів з різними механізмами дії, так і оригінальних органічних сполук різної будови. Ефективність препаратів оцінювали за показниками виживання і термінів загибелі тварин.

Експериментальною моделлю гострого токсичного ураження печінки був патологічний процес, що розвивався у тварин у результаті однократного 4-годинного інгаляційного динамічного впливу леткими компонентами ЕС ЕД-20 в концентрації, що становила $1/3 LK_{50}$ за ЕХГ ($120-140 \text{ мг/м}^3$).

Препарати застосовували за лікувально-профілактичною схемою: кверцетин внутрішньошлунково в дозі 350 мг/кг (ED_{50}), флавінат – внутрішньом'язово 4 мг/кг (ED_{50}), ліпін – внутрішньоочеревинно $0,8 \text{ ммоль/кг}$ (ED_{30}), ацетилцистеїн – внутрішньоочеревинно 450 мг/кг (ED_{50}), омепразол – внутрішньоочеревинно 50 мг/кг відповідно за 3; 1; 5; 0,5; 0,5 і 1 годину до початку затравки і через 5 хвилин після її закінчення. ED_{50} , ED_{30} та індекс терапевтичної ефективності (ІТЕ) досліджуваних лікарських засобів визначали в умовах їх профілактичного введення за процентом виживання тварин на моделі гострої інгаляційної статичної 30-хвилинної затравки білих щурів ЕХГ (LK_{50} - LK_{100}) – за методикою Б.М. Штабського (1980). Крім ізольованого введення речовин, засто-

совували такі їх комбінації: ацетилцистеїн + кверцетин, ацетилцистеїн + ліпін, ацетилцистеїн + флавінат і кверцетин + ліпін.

З метою вивчення індукції ферментів глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) і епоксидгідролази (ЕГ) кверцетин тваринам вводили 1 раз на день внутрішньошлунково по 100 мг/кг (5 днів); омепразол – внутрішньоочеревино по 50 мг/кг (7 днів) і клофібрат – внутрішньошлунково по 200 мг/кг (2 дні).

Високомолекулярні сполуки (ВМС) вводили у вигляді 5-10% водних розчинів по 300 мг/кг маси перорально або 100 мг/кг маси внутрішньоочеревино за 30 хвилин до і через 5 хвилин після отруєння ЕХГ. Активність препаратів оцінювали за виживанням, ІТЕ і термінами загибелі тварин.

Ентеросорбенти – карбовіт і карбовіт-М – вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда з розрахунку 100 мг/100 г маси тіла за 1 годину до отруєння леткими компонентами ЕС. ІТЕ ентеросорбентів розраховували при їх внутрішньошлунковому введенні в дозі 100 мг/100 г маси за 1 годину до або через 1 годину після інтоксикації 5% олійним розчином ЕХГ в дозах, необхідних для визначення ЛД₅₀ ЕХГ.

Динаміку вмісту аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ) у печінці визначали методом Т. Sato та ін. (1963). Неорганічний фосфат (Ф_n) визначали за Delori в модифікації В.А. Григор'євої (1958), а рівень нікотинамідних коферментів (НАД+НАДФ, НАДН₂+НАДФН₂) – флуориметрично (W. Perlzweig, 1947).

Активність Г-S-T у печінці визначали за утворенням комплексу глутатіону з 1,2-дихлор-4-нітробензолом (Ю.В. Хмелевський та ін., 1986), ЕГ – за рівнем фенілетиленгліколю (А.Е. Краусакас, 1986), а γ -глутамілтрансферази (γ -ГТ) – за вивільненням *n*-нітроанліну (BIO-LA-TEST, Чехія).

Стан процесів ПОЛ у тварин після гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС оцінювали за інтенсивністю спонтанної хемілюмінесценції (ІСХ) і активованої хемілюмінесценції (ІАХ), які реєстрували на хемілюмінометрі ІХЛ-1 (А.И. Журавлева, 1983), за вмістом у печінці рівня первинних продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югатів (ДК) (И.Д. Стальная, 1977) і кінцевого продукту ПОЛ, що реагує з ГБК, – малонового діальдегіду (МДА) (Z. Placer, 1968).

При вивченні функціонування окремих ланок антиоксидантної системи захисту організму визначали активність одного із ключових ферментів – каталази (КТ) – за методом М.А. Королюк (1988). Вміст феритину (ФР) у сироватці крові визначали радіоімунним методом за допомогою комерційного набору “РМО-Феритин” (Білорусія), SH- і -S-S-групи – за методом P.D. Boyer (1954). Забезпеченість організму ендogenous антиоксидантами оцінювали на основі стану перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) (О.Н. Воскресенский, 1982). Про стан монооксигеназної системи (МОС) печінки робили висновок за інтенсивністю деметилювання амідопіріну (О.Б. Леоненко, Т.А. Попов, 1981) і тривалістю гексеналового сну (В.Д. Розанова, 1979).

Для з'ясування молекулярних механізмів функціонування енергетичної і детоксикуючої систем печінки у досліджуваних умовах використовували метод ЕПР-спектрометрії. ЕПР-спектри записували на спектрометрі марки Е-109 фірми “Varian” (США) в умовах низькотемпературної стабілізації (77⁰К). Досліджували ЕПР-сигнали з *g*-факторами: 2,25 – цитохром Р-450; 2,17 – марганцевмісні парамагнітні комплекси; 2,03 – нітрозильні комплекси заліза (НКЗ); 2,00 – вільні радикали (ВР); 1,94 – залізоісірчані білки, або FeS-білки (ЗСБ); 1,97 – молібденовісні парамагнітні комплекси (Я.И. Ажипа, 1983).

Вміст у плазмі крові основних метаболітів АК визначали радіоімунним методом. Рівень ЛТВ₄ вивчали з використанням комерційного набору Leucotriene B₄ assay system, ПГЕ₂ – набору ¹²⁵I-Prostaglandine E₂ assay system with magnetic separation (“Amersham”, Англія), ППІ₂ – за допомогою системи ¹²⁵I-6-keto-prostaglandin F_{1 α} , ТХВ₂ – ¹²⁵I-thromboxane B₂, ППГ_{2 α} – ¹²⁵I-6-keto-prostaglandin F_{2 α} (“Institute of isotopes”, Угорщина). Дослідження концентрації АКТГ проводили з використанням набору Adrenocorticotrophic hormone radioimmunoassay kit фірми “Cis” (Франція). Підрахунок радіоактивності проводили на сцинтиляційних лічильниках “Гама-12” і “Бета-1”.

Визначення рівня вторинних месенджерів цАМФ і цГМФ у печінці проводили радіоімунним методом з використанням наборів “Cyclic AMP [¹²⁵I]RIA KIT” і “Cyclic GMP [¹²⁵I]RIA KIT” (Чехія). Вплив різних концентрацій ЕХГ на ендogenous біосинтез тканиною печінки *in vitro* ППІ₂, ТХВ₂,

цАМФ і цГМФ, а також можливості фармакологічної регуляції цих процесів у гепатоцитах вивчали за методом E. Ołiw (1980) у модифікації А.Г. Кучеренко (1986). Для розрахунку досліджуваних продуктів ендogenous біосинтезу на 1 г білка у тканині печінки визначали білок за O.H. Lowry et al. (1951).

Гістологічні і електронно-мікроскопічні дослідження проводили за-гальноприйнятими методами. Ультратонкі зрізи для перегляду і фотографування в електронних мікроскопах фірм "GEM-III" (Японія) і "Philips" (Нідерланди) готували на ультратомі LKB-V (Швеція).

Визначення досліджуваних показників проводили протягом перших трьох-п'яти діб після отруєння.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel (США). Достовірність оцінювали на рівні значущості не менше 95% ($P \leq 0,05$) з використанням критерію t Стьюдента (А.В. Плохинский, 1970), а також точного методу Фішера для чотирипільної таблиці (Е. В.Гублер, 1978).

Результати досліджень та їх обговорення. Внаслідок проведених токсикометричних досліджень встановлено, що ЕС ЕД-20 і Е-40 характеризуються високою токсичністю, незначними відмінностями видової чутливості експериментальних тварин, а леткий компонент ЕС – ЕХГ – є помірно токсичною при інгаляційному впливі і високотоксичною сполукою при внутрішньошлунковому введенні. У порівняльному аспекті ЕС ЕД-20 дещо більш токсична, ніж ЕС Е-40 (рис.1). Оскільки токсичність незатверділих діанових ЕС прямо залежить від епоксидного числа і обернено – від величини молекулярної маси і в'язкості (Н.И. Шумская, 1962; А.П. Яворовский, 1990), то виявлені нами відмінності у величинах LK_{50} для ЕС ЕД-20 і Е-40 можна пояснити більшою молекулярною масою останньої.

Про важливу роль епоксидних груп у токсичності ЕС і ЕХГ свідчить встановлена нами значно більш висока LD_{50} первинного метаболіту ЕХГ 3-хлор-1,2-пропандіолу порівняно з вихідною сполукою (табл. 1). Це пов'язано з перетворенням епоксигрупи ЕХГ під впливом ЕГ у дві гідроксильні групи (В.А. Кобляков, 1990; F. Oesch, 1982).

Рис. 1. Параметри токсичності і небезпечності ЕС ЕД-20 і Е-40 (щурі)

Таблиця 1

Порівняльна оцінка параметрів токсичності ЕХГ і його метаболіту 3-хлор-1,2-пропандіолу для щурів при внутрішньошлунковому введенні в організм

Вивчення параметрів небезпечності летких компонентів ЕС ЕД-20 і Е-40 в умовах гострого інгаляційного динамічного надходження в організм показало, що ці сполуки мають незначну варіабельність смертельних концентрацій і становлять високу небезпеку розвитку смертельного інгаляційного отруєння. Причому ЕС ЕД-20 має значно більшу потенціальну небезпечність виникнення смертельного інгаляційного отруєння порівняно з Е-40. Реальна небезпека розвитку гострого несмертельного отруєння ЕС ЕД-20 і Е-40, що оцінюється за Lim_{ac} і Z_{ac} , також висока і приблизно однакова для обох смол (рис. 1). Біологічна активність досліджуваних смол характеризується гепатоспецифічністю, що узгоджується з даними літератури (В.Я. Витрищак, 1990; В.О. Шефтель, 1991; Y. J. Surh et al., 1998; Я.Б. Ли, 2001).

Як свідчать отримані у роботі результати, досліджувані епоксидні сполуки мають чітко виражену добову і сезонну ритмічність токсичної дії, характер якої залежить від рівня токсичного впливу на організм. Акрофаза циркадних і циркануальних ритмів токсичності ЕХГ, ЕС ЕД-20 і Е-40, які застосовувалися в дозі $1/10 LK_{50}$, реєструвалася в середині світлого періоду часу і зимою, а в дозі LK_{50} – в нічні години і літом відповідно. Чутливість тварин до досліджуваних епоксидів, які застосовувалися в концентраціях, близьких до порогових, відстає від фази чутливості цих сполук у разі використання їх у середньосмертельних концентраціях при аналізі добових ритмів на 12 годин, а сезонних – приблизно на 180 днів. Очевидно, добові й сезонні ритми чутливості до невисокої дози ЕХГ і летких компонентів ЕС ЕД-20 і Е-40 є функцією ензимної активності ферментів печінки. Про це свідчать збільшення активності цитохром Р-450-редуктази (М.А. Miller et al., 1978), НАДФН-цитохром-с-редуктази (G. Harisch et al., 1980) і Г-S-T (М.Н. Davies et al., 1983) у печінці

щурів і мишей у темний і зниження у світлий час доби, пік тривалості гексобарбіталового сну в 14 год. з мінімумом у 20 год. (V. Nair, 1974). Підтвердженням залежності сезонних ритмів чутливості до невисоких доз ЕХГ, ЕС ЕД-20 і Е-40 від активності відповідних ензимів печінки є зниження вмісту цитохрому Р-450 у мембранах ендоплазматичного ретикулуму печінки щурів-самців, швидкості N-деметилування амінопіріну й етилморфіну в зимовий період порівняно з літнім, а також зменшення швидкості гідроксилювання аніліну в осінній сезон (П.И. Лукиенко, Л.И. Сушко, 1980).

Як ми вже відзначали, при введенні смертельних доз ЕХГ, ЕС ЕД-20 і Е-40 максимальна чутливість до них фіксувалася в нічні години й літній час, що не узгоджується з вищенаведеним добовим і сезонним підвищенням активності ферментів детоксикації в печінці. З огляду на те, що ЕХГ у високих концентраціях і дозах чинить виражену токсичну дію на центральну нервову систему, можна припустити, що мозкова тканина сама має ритм чутливості до епоксидів, незалежний від ритму активності ферментів, метаболізуючих дані сполуки. Це припущення підтверджується й тим, що пригнічена іонами Ca^{2+} аденілатциклазна активність стріатуму головного мозку щурів піддається добовим циклічним ритмам (Y. Chern et al., 1996).

Установлені параметри токсикокінетики провідного й найбільш токсичного леткого компонента ЕС ЕД-20 ЕХГ свідчать про те, що в умовах гострої динамічної інтоксикації леткими компонентами досліджуваної смоли цей галоїдовуглеводень відрізняється високою біодоступністю, тривало циркулює в системному кровотоці й досягає максимальної концентрації на 6-й годині після інтоксикації. Якщо зіставити отримані нами дані про динаміку розвитку некробіотичних, дегенеративних і некротичних процесів у печінці, які найбільш виражені на 3-5-ту добу після інтоксикації, з динамікою зміни концентрації ЕХГ у крові (максимум через 6 годин), то можна дійти висновку, що розвиток токсичного ефекту летких компонентів ЕС відстає в часі від швидкості збільшення концентрації ЕХГ і проявляється після певного латентного періоду. Такий характер формування токсичного процесу характерний для алкілувальних агентів (С.Н. Голиков и др., 1986), до яких належить і ЕХГ (К. Nemminki, 1980; К.Р. Romano et al., 2007).

Токсичність ліпідорозчинних ксенобіотиків багато в чому залежить від здатності зв'язуватися з білками сироватки крові (А.И. Луйк, В.Д. Лукьянчук, 1984). Експериментальні дослідження свідчать про те, що ЕХГ здатний вступати в процеси зворотної взаємодії з білками сироватки крові, серед яких як за ступенем афінитету, так і за величиною концентрацій місць зв'язування основна роль належить сироватковому альбуміну (СА). Лише невелика частка досліджуваної епоксидної сполуки здатна утворювати комплекси з г-глобуліном. При концентрації ЕХГ у діалізованому апараті в діапазоні від $5,4 \cdot 10^{-5}$ до $6,6 \cdot 10^{-5}$ М відбувається насичення зв'язувальних центрів досліджуваних транспортних білків. З точки зору виявлення токсичних властивостей ЕХГ зв'язування з альбуміном може сприяти знешкодженню отрути, що створює певні перспективи для розроблення антидотно-лікувальних засобів, які впливають на процеси зворотного комплексоутворення ЕХГ із СА.

Екскреція ЕХГ із сечею здійснюється в порівняно невисоких концентраціях щодо тих, які визначаються в сироватці крові, і поступово зростає до 3-ї доби експерименту. Очевидно, СА, будучи добрим конкурентним інгібітором екскреції ксенобіотиків, не сприяє видаленню ЕХГ із сечею, а транспортує отруту в печінку, де остання метаболізується до менш токсичних водорозчинних дигідродіолів, які потім екскретуються із сечею.

Наступний аспект, що вимагає обговорення, - яким чином леткі компоненти ЕС ЕД-20 проявляють свою токсичну дію. Одним з можливих механізмів є стимуляція ПОЛ. Дійсно, уже через 1 годину після вилучення тварин з камери спостерігається максимальне збільшення ІАХ у крові й ДК у печінці, а через 6 годин - ІСХ у крові (табл. 2). Настільки значне підвищення вільнорадикальних процесів у ранній термін після інтоксикації, збігається за часом з піком концентрації у крові леткого компонента ЕС - ЕХГ. ЕХГ, що містить у своїй структурі епоксидну групу, яка виявляє високі окисні властивості й здатність відщеплювати вільні радикали, може, на наш погляд, атакувати ненасичені жирні кислоти (НЖК) з відривом водню від вуглецевих атомів, які перебувають в α -положенні щодо подвійного зв'язку. При цьому утворюються радикали НЖК, а в молекулах лінолевої, ліноленової й арахідонової кислот може з'являтися система поєднаних подвійних зв'язків (Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, 1972). Виразна захисна дія кверцетину й лі-

піну, введених до і після отруєння леткими компонентами ЕС ЕД-20, які зменшували гепатотоксичний ефект останніх, свідчить на користь прооксидантного механізму дії ЕС ЕД-20.

Надалі показано, що іншою ймовірною причиною посилення ПОЛ і нагромадження ТБК-активних продуктів може бути інактивація клітинних антиоксидантів - тіолів, основну частину яких складає глутатіон (L.A. Videla et al., 1980). Це узгоджується зі швидким і раннім (на 1-й годині експерименту) зниженням вмісту SH-груп у печінці щурів при інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 (табл. 2) і різким посиленням токсичності ЕХГ на фоні введення фенобарбіталу. Відомо, що введення щурам фенобарбіталу призводить до виснаження запасів відновленого глутатіону і значного прискорення утворення ДК і МДА (С.Р. Siegers, 1982; M.J. Carle, J.R. Fry, 1989). Докази ролі SH-груп у механізмі прооксидантного ефекту летких компонентів ЕС ЕД-20 отримані при аналізі часових особливостей протікання цього процесу (табл. 2). Виявилось, що найбільш значне зниження SH-груп відзначалося через 1 добу після інтоксикації, коли в печінці фіксувалися максимальна концентрація МДА, найбільше зниження ПРЕ і найнижча активність ЕГ. Отже, максимальне збільшення концентрації МДА в печінці отруєних тварин спостерігається при критичному зниженні SH-груп білків і низькомолекулярних сполук. Збільшення -S-S-груп на 6-й і 72-й годинах дослідження пов'язане, імовірно, з окислюванням продуктами ПОЛ "малих тіолів" або з порушенням третинної структури білків і ферментів організму. На користь цього свідчать дані, що окисна активність перекисних продуктів реалізується насамперед при взаємодії з SH-групами білків, а утворення дисульфідних зв'язків не характерне для процесу окислювання білкових тіогруп, але має місце при окислюванні цистеїну і глутатіону (Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, 1972). Спостережуване різке зниження концентрації -S-S-груп через 24 години після інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 свідчить про перевагу в цей час процесів алкілування сульфогідрильних груп над їх окисленням. Про правильність суджень щодо ролі тіолів у механізмі токсичної дії летких компонентів ЕС ЕД-20 свідчить високий захисний ефект ацетилцистеїну.

Таблиця 2

Вплив летких компонентів ЕС на динаміку біохімічно-функціональних показників печінки білих щурів ($M \pm m$, $n=7-10$)

Відомо, що однією з причин зниження рівня SH-груп і виснаження запасів глутатіону при метаболізмі ксенобіотиків, що мають у своїй структурі епоксидну групу, є спонтанне приєднання епоксисполук до глутатіону, а також кон'югація останніх із трипептидом, яка каталізується Г-S-T і γ -ГТ (F. Oesch, 1982; В.А. Кобляков, 1990; L. Soleo, 1999). Будучи пасткою для реакційноздатних епоксидів і ліпоперекисів, Г-S-T проявляють детоксикуючі властивості (И.Е. Ковалева, О.Ю. Полевая, 1985). При інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 активність Г-S-T і γ -ГТ, що беруть участь на 1-й і 2-й стадіях кон'югації епоксидів із глутатіоном, була підвищена практично в усі терміни спостереження (табл. 2). При цьому інтенсивне підвищення активності Г-S-T через 1 добу після припинення інгаляційного впливу на фоні різкого зниження рівня SH- і -S-S-груп у печінці свідчить про підвищену витрату глутатіону як для знешкодження летких компонентів ЕС ЕД-20, так і гідроперекисів, що приводить до зниження його рівня нижче критичного. Отримані нами результати досліджень підтверджуються даними А. Yukihiko et al. (1980) про підвищення активності Г-S-T у сироватці крові при гострому гепатиті й можуть бути, на наш погляд, показником вираженості гепатотоксичності ЕС.

Поряд з Г-S-T не менш важливу роль у знешкодженні епоксидів відіграє фермент ЕГ, що відповідає за гідратацію епоксидів з утворенням більш полярних діолів, які, як правило, є менш токсичними або нетоксичними сполуками (А.Э. Кранаускас и др., 1986; Н.Я. Головенко, 2004; L. Mei et al., 2006). Її активність підвищувалася тільки через 1 годину після припинення інгаляційної затравки і далі була стійко знижена, досягаючи на 3-5-ту добу експерименту мінімальних значень, які у 2,1-2,4 раза нижче контрольних (табл. 2). Виражене зменшення активності ЕГ може бути пов'язано, очевидно, із взаємодією епоксидних сполук із SH-групами й залишком гістидину, що входять у найближче оточення активного центра цього ферменту (M.G. Parkki, 1982; D.P. MacEachran et al., 2007). Головна роль в інгібуванні ЕГ належить, імовірно, леткому компоненту ЕС - ЕХГ (В.А. Філов, 1990).

Таким чином, уже через 1 добу після гострої інтоксикації ЕС шлях метаболічного приєднання через відсутність глутатіону й шлях гідролізу епоксидів у зв'язку з низькою активністю ЕГ фактично

заблоковані, що призводить до ковалентного зв'язування епоксидів з макромолекулами клітини, SH-групами білків, мембранних структур, ферментів, підсилюючи цитотоксичний ефект і, як свідчать дані електронно-мікроскопічних досліджень, має пряме відношення до появи фокальних осередків некрозу в зонах вираженої гіперплазії агранулярної цитоплазматичної сітки. Ці результати свідчать про те, що рівень Г-S-T у печінці може бути точним показником ранньої стадії некрозу. Внаслідок інактивації SH-груп виникає внутрішньодольковий дефіцит сірковмісних амінокислот, якому належить досить важлива роль у патогенезі токсичного ушкодження печінкової паренхіми (Н.А. Толоконцева, В.А. Філов, 1976).

Для з'ясування інших можливих причин підвищення вмісту продуктів ПОЛ досліджували деякі показники антиоксидантної системи організму. Установлено, що гостра інтоксикація леткими компонентами ЕС ЕД-20 призводить до вірогідно вираженого зниження активності КТ, підвищення концентрації ФР у крові й зниження ПРЕ (табл. 2). Очевидно, при низькій активності КТ, H_2O_2 у присутності O_2 й іонів Fe^{2+} , концентрація яких у крові при інтоксикації ЕС, судячи із вмісту ФР, збільшена, здатна в реакціях Фентона й Хабера-Вейса швидко розкладатися з утворенням НОя-радикалів (С.L. Ramos et al., 1992), що є основними ушкоджуючими агентами в біологічних системах (В.З. Ланкин и др., 2000) і спричиняють явища гемолізу еритроцитів, які досягають максимуму на 3-5-ту добу експерименту. Високий рівень ПОЛ при інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 і низька активність КТ, що реєструвалися нами, свідчать про роль НОя-радикалів у стимуляції процесів ліпопероксидації в печінці й декомпенсації першої лінії захисту від активних форм кисню, що призводить до формування так званого "окисного стресу".

Аналізуючи отримані результати, можна дійти висновку, що в механізмі токсичної дії летких компонентів ЕС лежать два взаємозалежні процеси, що практично одночасно виникають і проявляються ранньою тіолопривною дією й активацією ПОЛ.

Який би не був механізм індукції ПОЛ, критичне зниження рівня відновлених тіолів у печінці через 1 добу після гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20, збільшення реагування епоксидів з макромолекулами, гіперпродукція ТБК-реактивів, різке посилення гемолізу еритроцитів свідчать про поширену мембранопатію на фоні виснаження антиоксидантної системи організму. Високий рівень процесів ПОЛ викликає ще більше зниження активності ЕГ, що гальмує метаболізм летких компонентів ЕС, збільшує час їх циркуляції в крові (більше 3 діб) і підсилює токсичний ефект.

Важливо відзначити, що перекиси ліпідів проявляють свою негативну дію не тільки на вузлові ферменти метаболізму епоксидних сполук і ферменти антиоксидантного захисту, але також і на енергетичний обмін у печінці. Під впливом індукованого леткими компонентами ЕС ЕД-20 ПОЛ відбувається достовірне зменшення в печінці вмісту АТФ на 26-48% з одночасним істотним підвищенням рівня АДФ на 36-39%, АМФ - 67-162%, Φ_n - 43-75% і зменшенням співвідношення АТФ/АДФ в 1,5-2,6 рази, що свідчить про пригнічення окисного фосфорилування й енергетичний дефіцит у цілому.

Найімовірніше, що в механізмі виникнення дефіциту високоенергетичних фосфатних зв'язків лежать установлені нами порушення у функціонуванні дихального ланцюга. Про це свідчать зниження вмісту семіхінонних ВР і таких переносників електронів, що беруть участь в 1-му і 2-му пунктах поєднання окислювання й фосфорилування, як ЗСБ, а також різке збільшення генерації в печінці НКЗ, що, природно, призводить до пригнічення процесів окислювання й фосфорилування, а отже, і утворення АТФ (табл. 2).

Можна припустити, що ЕХГ-інтоксикація, яка викликає підвищення рівня НКЗ, пов'язана з порушеннями в гепатоцитах комплексів гемового й негемового заліза, задіяних у перенесенні електронів у мітохондріях. Ці сполуки, порушуючи внутрішньоклітинні мембранні структури, судячи із вмісту ФР у крові, очевидно, приводять до збільшення кількості вільного заліза, яке і включається в комплекси з $g=2,03$ (Я.И. Ажипа, 1983). Характерно, що збільшення вмісту НКЗ на 72-й годині експерименту супроводжувалося зниженням концентрації FeS-білків мітохондрій, які забезпечують сигнал ЕПР із g -фактором 1,94. Останнє свідчить про перехід частини FeS-парамагнітних комплексів з g -фактором, що дорівнює 1,94, у нітрозильні комплекси з g -фактором 2,03, який виключає їхню подальшу участь у мітохондріальному транспорті електронів і фосфорилуванні (Я.И. Ажипа, 1983).

Проаналізований вище ланцюг біохімічних процесів під впливом досліджуваних отрут немиче призводить до перерозподілу співвідношення НАД+НАДФ/НАДН+НАДФН у печінці за рахунок зменшення окислених форм на 20-34% ($p < 0,001$). Оскільки мембрани мітохондрій є найбільш стійкими органелами до органічних перекисів (С.Н. Голиков и др., 1986), не можна виключати можливості ковалентного зв'язування частини тіолових груп цистеїну ЗСБ із леткими компонентами ЕС, які, маючи високу ліпофільність, можуть досить легко проникати в мітохондрії й викликати зниження сигналу ЕПР із g -фактором 1,94. Зменшення коефіцієнта, що характеризує відношення окислених форм нікотинамідних коферментів до відновлених, при інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 на 17-28% ($p < 0,05-0,001$) також свідчить про порушення транспорту електронів і протонів у дихальному ланцюзі.

Очевидно, зменшення співвідношення НАД+НАДФ/НАДН+НАДФН під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 при практично незмінній концентрації у печінці НАДН+НАДФН і доведеній нами високій ефективності флавінату в умовах гострої інтоксикації ЕХГ підтверджує результати ЕПР-досліджень у тій частині, що одна з ділянок гальмування перебуває в "низько" розміщених ланках ланцюга перенесення електронів на рівні флавопротеїдів (ФП), які асоційовані із ЗСБ і переносять електрони від НАДН на коензим Q.

І, нарешті, варто сказати, що додатковим об'єктивним доказом порушення обміну нікотинамідних коферментів, ЗСБ, семіхінонних ВР і аденілових нуклеотидів у печінці при токсичній дії летких компонентів ЕС ЕД-20 є дані про ультраструктуру мітохондрій, які характеризуються ознаками явної деструкції, дуже набряклим матриксом, деградацією крист, порушенням цілісності зовнішньої мембрани. Такі зміни в мітохондріях гепатоцитів можуть приводити до зменшення споживання ними кисню й тим самим робити свій внесок у зниження температури тіла, що спостерігається при отруєнні епоксисполуками.

Таким чином, аналіз отриманих даних свідчить про те, що під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 відбувається порушення транспорту електронів і протонів у дихальному ланцюзі мітохондрій на ділянці ФП обох шляхів окислювання субстратів, що приводить до перерозподілу співвідношення окислених і відновлених форм нікотинамідних коферментів, гальмування окислювання й фосфорилування зі зменшенням синтезу АТФ і виснаження енергетичних ресурсів клітини, особливо в пізній термін інтоксикації.

При подальших дослідженнях нами встановлено, що в умовах модельованої патології відбувається пригнічення НАДФН-залежної монооксигеназної системи печінки, часткове блокування першої й другої фаз біотрансформації ксенобіотиків, що приводить до достовірного зменшення екскреції із сечею 4-аміноантипірину (4-ААП) у 2,8-3 рази, а N -ацетил-4-аміноантипірину (N -ац-4-ААП) – у 2,2-4 рази. Це підтверджується характерними деструктивними змінами ультраструктури ендоплазматичного ретикулула, які проявлялися вже через 6 годин і значно підсилювалися через 3 доби після отруєння. Однією із причин цього може бути гальмування на 12-й годині дослідження потоку електронів до цитохрому P_{450} , викликане зниженням у 2,3 рази ($p < 0,001$) рівня Mo^{5+} -вмісних парамагнітних комплексів, які, як відомо, входять до складу мікросомальних ферментів. Можливо, за аналогією до мітохондрій, зниження потоку електронів відбувається на рівні Fe_2S_2 білків, асоційованих з НАДФН-специфічним ФП мікросом. Через те, що вміст ФП не вивчався, висловлене припущення має гіпотетичний характер. Проте, з огляду на результати застосування флавінату й ацетилцистеїну, цей механізм має право на існування. Раннє підвищення при цьому вмісту цитохрому P_{450} на 23-58% ($p < 0,05-0,01$) і локальна гіперплазія агранулярного цитоплазматичного ретикулула не узгоджуються з вищенаведеними результатами. Очевидно, під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 (ЕХГ, толуол), на відміну, наприклад, від барбітуратів, включається існуючий механізм екстреної індукції ферментів шляхом термінового, короточасного підвищення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ (С.И. Ялгут, С.А. Котова, 1987; Л.С. Колесниченко, 1990), рівень якого різко зростає уже через 1-6 годин від моменту закінчення інгаляційного впливу досліджуваних отрут у 2-2,5 рази (табл. 2). Внаслідок реалізації саме цього шляху відбувається під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 раннє підвищення активності ЕГ у печінці.

Установлено також, що в умовах досліджуваної патології відбувається виражена активація ліпоксигеназного і циклооксигеназного шляхів метаболізму АК з нагромадженням у різний термін

після інтоксикації високоактивних продуктів її перетворення – ЛТВ₄, ПГФ_{2α}, ПГЕ₂ і ТХВ₂, але зменшенням ПГІ₂ (табл. 2). Це, певним чином, узгоджується з отриманими даними щодо вивчення продуктів ПОЛ і стану тіол-дисульфідного обміну в аналогічних умовах експерименту.

Відомо, що активність циклооксигеназ і ліпоксигеназ регулюється продуктами їхньої реакції, у тому числі перекисними сполуками, які утворюються під час цих реакцій (В.З. Ланкин и др., 2000). Невеликі кількості перекисів активують зазначені ферменти, у той час як нагромадження продуктів ПОЛ у значних кількостях може призводити до незворотного інгібування як циклооксигеназ, так і ліпо-ксігеназ (А.А. Болдырев, 1990). Очевидно, помірне підвищення в тканині печінки при гострій інтоксикації ЕС МДА, яке ми спостерігали на 6-й годині експерименту (табл. 2), стимулювало активність ліпо- і циклооксигеназ, про що свідчить збільшення концентрації ЛТВ₄ і ТХВ₂. Подальше збільшення в гепатоцитах ТБК-активних продуктів корелювало не тільки з різким зменшенням у плазмі крові концентрації ЛТВ₄, але й зі збільшенням поряд із ТХВ₂ і рівня ПГФ_{2α}, що, можливо, пов'язане з більш високою стійкістю циклооксигенази порівняно з ліпоксигеназою до негативного впливу високих концентрацій ліпопероксидів, а також із індукцією ЕС циклооксигенази-2 (F.M. Huang et al., 2003).

Треба, однак, відзначити, що збільшення у плазмі крові під впливом летких компонентів ЕС рівня ПГФ_{2α} не супроводжується підвищенням концентрації ПГЕ₂, хоча обидві ці сполуки є продуктами циклооксигеназної реакції. Найімовірніше, це пов'язане з тим, що циклооксигеназа каталізує тільки перший етап синтезу простагландинів. Другий етап синтезу цих біологічно активних сполук каталізує група ферментів, які відомі під назвою простагландинконвертаз. До них належать локалізовані у мікросомальній фракції ендопероксипростагландинізомерази, що відповідають за утворення ПГЕ₂, і ендопероксипростагландинредуктази, що відповідають за синтез ПГФ_{2α} (Я. Мусил, 1985; В.У. Буко, 1991).

У світлі обговорюваного аспекту важливо підкреслити, що ендоперокси-простагландинізомераза потребує для синтезу ПГЕ₂ відновленого глутатіону як кофактора, тоді як для ендопероксипростагландинредуктази, що бере участь у синтезі ПГФ_{2α}, присутність глутатіону не обов'язкова (В.У. Буко, 1991). З огляду на те, що при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС спостерігається різке зменшення у крові й печінці рівня SH-груп білків і низькомолекулярних сполук, можна припустити, що відсутність паралельного із ПГФ_{2α} компенсаторного збільшення концентрації ПГЕ₂ у плазмі крові пов'язана з дефіцитом SH-вмісних сполук, які витрачаються в значних кількостях на детоксикацію летких компонентів ЕС. У той самий час різке збільшення у плазмі крові й зрізах тканини печінки в дослідах “in vitro” під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 рівня ТХВ₂ і зниження ПГІ₂ свідчать про можливо більшу чутливість до кінцевих продуктів ПОЛ циклооксигенази ендотеліальної стінки судин, ніж тромбоцитів і простагландинсинтетази порівняно із тромбосансинтетазою.

У плані подальшого обговорення отриманих результатів варто сказати, що дія ПГІ₂ і тромбосанів здійснюється за допомогою аденілатциклази. Під впливом ПГІ₂, що вважається досить сильним стимулятором аденілатциклази тромбоцитів, гепатоцитів й інших клітин, вміст цАМФ у них збільшується. На відміну від ПГІ₂ тромбосани зменшують активність аденілатциклази, збільшуючи рівень внутрішньоклітинного Са²⁺ (Я. Мусил, 1985). Вважають (Н.А. Федорова и др., 1990), що тромбосан діє, як іонофор А23187, і свою інгібуючу дію на активність аденілатциклази реалізує через Са²⁺.

Виходячи з вищезазначеного, можна припустити, що різке збільшення в крові під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 концентрації ТХВ₂ на фоні зменшення ПГІ₂ спричиняє надмірне зниження в тромбоцитах і гепатоцитах рівня цАМФ, спостережуване в наших дослідах (табл. 2). Зменшення вмісту цАМФ, що є антагоністом Са²⁺, сприяє стрімкому наростанню в клітинах концентрації цього іона. У результаті відбувається підвищення активності кальційзалежного білка кальмодуліну, який стимулює активність фосфодіестерази цАМФ і сприяє тим самим ще більшому зниженню рівня цього циклічного нуклеотиду в гепатоцитах (Ю.И. Губский, 1989).

Оскільки Са²⁺ є пусковим сигналом для багатьох процесів у клітині, його надлишок буде чинити токсичну дію й викликати загибель гепатоцитів (Н.А. Федоров и др., 1990), що й спостерігалось нами при проведенні гістологічних і електронно-мікроскопічних досліджень тканини печінки,

ушкодженої ЕС. Очевидно, збільшити проникність цитоплазматичних мембран для Ca^{2+} у відповідь на дію ЕС може не тільки TXB_2 , але й інтенсифікація цими сполуками процесів ліпопероксидації, синтезу лейкотрієнів, які здатні активувати Ca^{2+} -мобілізуючу поліфосфоінозитидну систему.

На особливу увагу заслуговують аналіз і обговорення даних про активацію леткими компонентами ЕС ЕД-20 метаболізму АК ліпоксигеназним шляхом, що дуже важливо, оскільки синтез LTB_4 супроводжується активацією вільнорадикальних процесів, продукцією O_2^{\cdot} (В.З. Ланкин и др., 2000), пригніченням супероксидної реакції (М. Чорга, 1984), а в основі токсичних ефектів похідних НЖК лежить блокування мітохондріального електронного ланцюга (J.H. Moran et al., 2001).

Встановлені нами підвищення синтезу LTB_4 і посилення процесів ПОЛ неминуче приводять до експресії індукцйбельної NO-синтази і гіперпродукції NO, надлишок якого інактивує ЗСБ, до яких належать дихальні ферменти мітохондрій (Е.Б. Манухина, 2000), що, на наш погляд, є однією з можливих причин пригнічення транспорту електронів у мітохондріях. Слід зазначити, що оксид азоту після перетворення під впливом супероксидного радикала, який утворюється під час синтезу LTB_4 й інших ейкозаноїдів, у пероксинітрит (ONOO^{\cdot}), може викликати нітрузування білків та ініціювати апоптоз (М.Р. Murphy, 1999; J.P. Eu et al., 2000). Про це свідчить різке збільшення кількості НКЗ у печінці під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 в усі терміни дослідження.

Цілком імовірно, що леткі компоненти ЕС ЕД-20 є причиною загибелі гепатоцитів у результаті їх безпосередньої взаємодії з SH-групами й утворення аддуктів з біологічно важливими макромолекулами, тобто за механізмом некрозу і/або за рахунок ініціації патологічного процесу LTB_4 , TXB_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, продуктами ПОЛ, активними формами кисню, оксидом азоту, тобто за механізмом апоптозу.

Обговорення механізмів формування токсичного процесу під впливом ЕС було б неповним без урахування ролі змін у системі цАМФ/цГМФ і АКТГ. Як показали проведені нами дослідження, у початковий період після отруєння леткими компонентами ЕС ЕД-20 на фоні підвищення в крові концентрації АКТГ у печінці різко зростає вміст цАМФ (табл. 2). Ці зміни, що спостерігаються через 1 годину після отруєння, відображають один із центральних адаптаційних механізмів реакції організму (підвищення АКТГ) і клітини (підвищення цАМФ) на екстремальний стресовий вплив і свідчать про розвиток фази підвищеної резистентності в початковий період гострої інтоксикації ЕС.

Отримані нами результати підтверджують виявлену Ю.І. Губським (1989) загальну закономірність, згідно з якою хімічне ураження клітин приводить до підвищення вмісту цАМФ, рівень якого швидко знижується в міру подальшого розвитку патологічного процесу в клітині. І дійсно, на більш пізніх етапах гострої інтоксикації, незважаючи на вторинне підвищення вмісту АКТГ у крові, рівень цАМФ знижується й відбувається стрімке підвищення концентрації цГМФ у печінці. Це корелює з посиленням утворення ТБК-реактивних, різким зниженням антиоксидантного захисту й може бути трактовано як початок розвитку фази виснаження, що вимагає відповідної фармакологічної корекції.

Зростання рівня цГМФ у печінці сприяє значному збільшенню числа лізосом, лабілізації лізосомальної мембрани, що супроводжується вивільненням лізосомальних ферментів, у тому числі кислих гідролаз, кислої фосфатази (І.Ю. Висоцький та ін., 2003), яким належить провідна роль у реалізації мембранотоксичних ефектів хімічних речовин і стимуляції регенераторних процесів. Про початкові ознаки репаративних процесів при явищах жирової дистрофії й некрозу свідчить збільшення на 5-ту добу досліду в незмінених гепатоцитах частки конденсованого хроматину, зростання числа перихроматинових гранул, зменшення в мітохондріях числа вакуолей, а в ендоплазматичному ретикулумі - числа зв'язаних рибосом. цАМФ, навпаки, стабілізує мембрани лізосом. Подібний стабілізуючий ефект, мабуть, можуть проявляти фактори, які збільшують швидкість синтезу цАМФ або гальмують його метаболізм і регулюють рівень цГМФ у клітинах.

Вважають, що цАМФ є універсальним регуляторним механізмом детоксикації ксенобіотиків за рахунок індукції метаболічної активності ферментних білків і збільшення їх синтезу (С.И. Ялгут, С.А. Котова, 1987). У зв'язку з цим є всі підстави думати, що саме таким шляхом в досліджуваних умовах експерименту відбувається швидке підвищення активності таких важливих для метаболізму ЕС ферментів, як ЕГ, Г-S-T і γ -ГТ.

Виходячи з результатів досліджень молекулярних аспектів токсикодинаміки і токсикокіне-тики летких компонентів ЕС ЕД-20 на етапах резорбції, біотранспорту кров'ю, взаємодії з біо-мембранами, біотрансформації, екскреції, були визначені конкретні шляхи пошуку засобів фар-макотерапії. Такий підхід до розроблення засобів детоксикації при гострих отруєннях є, на думку В.Д. Лук'янчука (1988), найбільш раціональним, оскільки він продиктований установленим по-ліморфізмом точок прикладання і багатогранністю спектра біологічних ефектів летких компо-нентів ЕС ЕД-20.

Встановлені дані про молекулярні механізми взаємодії ЕХГ з білками сироватки крові й необ-хідність забезпечення фізико-хімічної спорідненості отрути й антитоту, яка впливає з них, пок-ладені в основу принципу детоксикації, що ґрунтується на зниженні концентрації отрути в крові. Для цього використовували синтетичні ВМС, здатні фіксувати отруту, конкуруючи із транспорт-ними білками або, точніше, доповнюючи їх природні детоксикуючі властивості.

Показано, що з 12 вивчених ВМС достовірну лікувально-профілактичну дію мають співполімер N-вінілпіролідону з N,N-диметиламіноетилметакрилатом (СП-4) і співполімер N-вінілпіролідону з N,N-диметиламіноетилметакрилатом та вінілбутиловим ефіром (СП-6), які підвищують виживання щурів на 45-94%. Характерно, що ці сполуки відрізняються підвищеною кількістю диметиламіно-груп. Нами в досліджах *in vitro* доведено, що в основі детоксикуючого ефекту лежить реагування аміногруп ВМС із ЕХГ. Виявлена здатність полімерних матеріалів зменшувати токсичну дію ЕХГ, конкуруючи при цьому з альбуміном, свідчить про перспективність застосування ВМС як антитотів, здатних знешкоджувати ксенобіотики на етапі їх біотранспорту.

Теоретичною передумовою для скринінгу потенційних лікувально-профілактичних засобів ан-тиоксидантного типу дії при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 стали дані про прооксидантну дію цих сполук. Такий підхід є доцільним у плані зниження мембранотоксичної активності летких компонентів ЕС ЕД-20 шляхом штучного посилення антиоксидантного профілю організму. Пошук проводився серед похідних дигідротіофендіоксиду, тетрагідротіофендіоксиду, N-оксипіридину й інших оригінальних хімічних сполук. У результаті проведеного скринінгу вста-новлено, що найбільш виражену антиоксидантну активність мають α -(піридин-2-іл)- α -(3,4-діоксинафтил-1)ацетонітрил і [2-(3'-сульфоланілокси)етил]триметиламоній йодид, які надалі використані на моделі гострої інтоксикації ЕХГ. У цих експериментах поряд з антиоксидантами випробовувалися препарати, здатні впливати на метаболізм ЕС і екскрецію ЕХГ.

У серії скринінгових досліджень виявлено, що найбільш виражену детоксикуючу актив-ність, судячи з такого інтегрального показника, як виживання тварин, у модельованих умовах експерименту мають кверцетин, ацетилцистеїн, флавінат, омепразол, меншою мірою – кло-фібрат і ліпін. Обрані для скринінгу оригінальні хімічні сполуки виявилися менш ефектив-ними. Виходячи із цих результатів, подальші дослідження були присвячені поглибленому вивченню відібраних препаратів, з'ясуванню можливих механізмів їх детоксикуючої дії, об-говорення яких наведено нижче.

Виявлено, що найбільш ефективною є лікувально-профілактична схема введення кверце-тину, флавінату, ліпіну і ацетилцистеїну. Введення препаратів з профілактичною і особливо лікувальною метою проявляло дещо менший ефект.

Лікувально-профілактичне застосування кверцетину при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 чинить виражену антирадикальну дію, про що свідчить зниження у крові інтенсивності надслабкого світіння, а в печінці - вмісту ДК (табл. 3).

Даний препарат проявляє також і антиоксидантний ефект, який виражається в гальмуванні утворення ТБК-активних продуктів, що є прямим наслідком збільшення під впливом кверцетину активності глутатіонпероксидази (J. Duarte et al., 2001) і його здатності хелатувати іони Fe^{2+} (R. Casagrande et al., 2006), про що свідчить зниження в крові вмісту ФР. У результаті цього конку-ренція за гідроперекиси між іонами Fe^{2+} і глутатіоном зміщується у бік реакції, яка каталізується глутатіонпероксидазою, що приводить до нерадикального відновлення гідроперекисів і гальму-вання реакції з розгалуженими ланцюгами. Отримані дані узгоджуються з дослідженнями у сфері вивчення антиоксидантних властивостей сполук флавоноїдного ряду (І.С. Чекман, 2000; І.Ф. Бе-ленічев, 2002; Г.В. Белік, 2006; U. Kaindl et al., 2007).

Вплив кверцетину, флавінату, ліпіну і ацетилцистеїну на біохімічно-функціональні показники печінки щурів у ранній період гострого отруєння леткими компонентами ЕС ($M \pm m$, $n=7-10$)

Важливим аспектом у механізмі антиоксидантної дії кверцетину є утворення в ході реакції семихінонних ВР, які досить активні, але не здатні атакувати нові молекули НЖК. Однак цієї активності, згідно з даними М.Н. Запрометова (1993) і Л.В. Савченкової (1997), цілком достатньо для участі семихінонних ВР, що утворилися, у транспорті електронів по дихальному ланцюгу, а отже, для попередження порушень окислювання й фосфорилування, зв'язаних зі зниженням ЕПР-сигналу з g -фактором 2,00, що, власне, і спостерігалось в умовах гострої динамічної інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 при лікувально-профілактичному застосуванні кверцетину. Препарат повністю відновлював рівень семихінонних ВР в мітохондріях печінки отруєних тварин (табл. 3).

Очевидно, антиоксидантні властивості кверцетину вносять певний вклад у практично повне відновлення рівня тіолових груп у печінці в усі строки експерименту, що сприяє, на наш погляд, збільшенню активності SH-вмісних ферментів - ЕГ, КТ і аденілатциклази.

Крім того, кверцетин у досліджуваних умовах гальмує процеси метаболізму АК по ліпоксигеназному шляху, зменшуючи продукцію ЛТВ₄ за рахунок пригнічення активності ліпоксигенази. Не виключено, що кверцетин, зменшуючи в крові рівень лейкотрієнів, які є сигнальними молекулами поліфосфоінозитидної системи, приводить до зменшення внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} і, таким чином, стримує розвиток дистрофічних і некротичних процесів у гепатоцитах в умовах гострого інгаляційного отруєння ЕС.

Ще однією важливою стороною механізму детоксуючої й гепатопротекторної дії кверцетину є підвищення під його впливом вмісту ПГІ₂ і зниження ТХВ₂ у крові, що приводить до збільшення співвідношення ПГІ₂/ТХВ₂ (табл. 3). Останнє обумовлено тим, що кверцетин, застосовуваний у високій дозі (350 мг/кг), пригнічує поряд з ліпоксигеназою і циклооксигеназу тромбоцитів, яка має більш високу чутливість до лікарського впливу, ніж цикло-оксигеназа в ендотелії судин, що в кінцевому підсумку спрямовує метаболізм АК у бік синтезу простагліну.

Дослідження вмісту ПГЕ₂ і ПГФ_{2 α} у плазмі крові отруєних тварин, яким вводили біофлавоноїд, показало, що він не впливає на рівень ПГЕ₂, але повністю попереджує утворення ПГФ_{2 α} в органах і тканинах організму (табл. 3). Оскільки синтез ПГЕ₂ здійснюється за участю ендоперокси-ПГ-ізомерази, а ПГФ_{2 α} - ендоперокси-ПГ-редуктази, то можна припустити наявність у кверцетину інгібуючого впливу на ендоперокси-ПГ-редуктазу, локалізовану переважно в мікросомальній фракції, що корелює зі зниженням в аналогічних умовах у гепатоцитах вмісту цитохрому P₄₅₀.

На особливу увагу заслуговує вплив кверцетину на аденілат- і гуанілатциклазну систему внутрішньоклітинної передачі сигналу в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20. У результаті дії препарату відбувається збільшення цАМФ у печінці й зменшення АКТГ у крові, що, найімовірніше, поліпшує адаптаційні можливості організму в умовах гострого отруєння ЕС (рис. 2).

Є усі підстави вважати, що в механізмі підвищення рівня цАМФ у печінці під впливом кверцетину в умовах гострої інтоксикації ЕС ЕД-20 лежать його здатність пригнічувати активність фосфодіестерази цАМФ і опосередкована активація SH-груп аденілатциклази. Не виключено також, що кверцетин, зв'язуючись із комплексом Ca^{2+} -кальмодулін (Н. Nishino et al., 1984), позбавляє його здатності стимулювати фосфодіестеразу (Ю.И. Губский, 1989). Крім того, ПГІ₂, який продукується у надлишковій кількості під впливом кверцетину, в досліджуваних умовах також активує аденілатциклазу.

Рис. 2. Вплив досліджуваних препаратів на динаміку вмісту цАМФ і цГМФ у печінці щурів при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС

Разом з підвищенням концентрації цАМФ дія кверцетину характеризується досить вираженим збільшенням у печінці отруєних тварин вмісту цГМФ і поліпшенням співвідношення цАМФ/цГМФ (рис. 2), що свідчить, імовірно, про інтенсивний стимулювальний вплив досліджуваного біофлавоноїду на регенеративні можливості гепатоцитів, тому що промоція такої функції клітини, як регенерація, практично завжди асоціюється з високим рівнем активності ферменту гуанілатциклази в мембранах (В.А. Ткачук, 1983) і цГМФ (Л.С. Бассалык и др., 1988).

Отже, є підстави вважати, що стимуляція кверцетином при токсичному ураженні печінки ЕС процесів внутрішньоклітинної репаративної регенерації тісно пов'язана зі збільшенням у гепатоцитах концентрації цГМФ і, можливо, опосередкована активацією препаратом ферменту гуанілатциклази.

За допомогою ЕПР-спектрометрії показано попередження кверцетином індукції леткими компонентами ЕС ЕД-20 цитохрому P₄₅₀ (табл. 3), що є важливою стороною фармакодинаміки біофлавоноїду, оскільки відомо, що індуктори МОС підсилюють токсичну дію тіолових отрут (М.І. Carle, J. R. Fry, 1989). Це підтверджено встановленим у наших дослідках зменшенням виживання тварин під впливом токсичних доз ЕХГ (ЛД₅₀ і більше) на фоні попереднього введення фенобарбіталу або бензоналу.

Встановлений методом ЕПР позитивний вплив кверцетину в умовах досліджуваної патології на рівень ЗСБ, НКЗ, ВР реалізується, на наш погляд, посиленням процесів окисного фосфорилування в гепатоцитах і поліпшенням у результаті енергетичного обміну в цілому. Про це свідчить нормалізація співвідношення НАД+НАДФ/НАДН+НАДФН, збільшення синтезу АТФ, відновлення ультраструктури мітохондрій і збільшення їхньої кількості (табл. 3, рис. 3).

Рис. 3. Вплив кверцетину (Кв) і флавінату (Ф) на концентрацію аденілових нуклеотидів (А) і нікотинамідних коферментів (Б) в печінці щурів на 3-тю добу після отруєння леткими компонентами ЕС

Заслуговує на увагу модифікуюча дія кверцетину на зв'язування ЕХГ із білками сироватки крові, що проявляється, з одного боку, збільшенням спорідненості отрути до сироваткових протеїнів, а з іншого - одночасним підвищенням кількості місць зв'язування на одній молекулі протеїну. Посилення взаємодії ЕХГ із сироватковими білками в умовах застосування кверцетину перешкоджає переходу досліджуваного галоїдовуглеводню в органи й тканини, знижуючи тим самим реалізацію токсичних ефектів і концентрацію вільної фракції отрути в крові.

Таким чином, у механізмі гепатопротекторної і детоксикуючої активності кверцетину в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 лежать насамперед антирадикальні, антиокисні й мембраностабілізуючі властивості. Важливе значення має здатність препарату збільшувати спорідненість отрути до сироваткових протеїнів, поліпшувати енергетичний обмін, викликати пролонговане збільшення синтезу цАМФ у печінці й модифікувати метаболізм АК у бік посилення утворення ПГ₂ при одночасному зменшенні синтезу таких високоагресивних продуктів, як ЛТВ₄, ПГФ_{2α} і ТХВ₂. До цього варто додати, що завдяки багатовекторному впливу кверцетину досягається його збалансована інтегральна фармакодинамічна відповідь, що вигідно відрізняє цей біофлавоноїд від ряду інших більш селективних лікарських препаратів, які використовують для лікування токсичних уражень печінки.

Не менш цікавим є обговорення локалізації й механізму детоксикуючої дії флавінату при гострому отруєнні леткими компонентами ЕС ЕД-20. З огляду на високу антидотну ефективність флавінату, низьку – нікотинаміду і НАДФН₂ при гострому отруєнні ЕХГ, нечутливість ФП до сульфогідрильних отрут, підвищення токсичності ЕХГ під впливом цистаміну дигідрохлориду, що є інгібітором НАДФН-цитохром-с-редуктази (Л.А. Тиунов, 1981), а також здатність високоакційних епоксидів легко реагувати з речовинами, які містять активні атоми водню, з утворенням гідроксильних груп (Р. Хувинк, А. Ставерман, 1966), нами висловлюється припущення про можливість відновлення епоксидів на ФП-ділянці монооксигеназної системи мікросом. Причому обидві відновлювальні системи мікросом - ФП, у яких простетичною групою є флаві-

наденіндинуклеотид (ФАД), і їх ферментативна активність значно збільшується при додаванні рибофлавіну, флавінмононуклеотиду (ФМН) або ФАД (Д.В. Парк, 1973). Відновлені, поверхнево розміщені у мембранах ендоплазматичного ретикулума, неекрановані ліпідами флавіни, у тому числі

НАДФН-специфічний ФП, доступні у значно більшому ступені, ніж НАДН і НАДФН, швидкому й прямому реокисленню не тільки молекулярним киснем, цитохромами С і P₄₅₀ (Д. Мецлер, 1980), але й, цілком можливо, такими сильними окислювачами, як ЕХГ, що має у своєму складі епоксигрупу. Цьому, імовірно, сприяє зменшення або припинення потоку електронів до цитохрому P₄₅₀ у зв'язку з алкілуванням ЕС SH-груп даного гемопротеїну. ФП не містять у своїй структурі SH-груп і як в очищеному вигляді, так і в мікосомах не чутливі до сульфогідрильних отрут, до яких належать ЕХГ та інші епоксисполуки (Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, 1972).

Очевидно, саме відновленням ЕХГ на флавопротеїдній ділянці МОС можна пояснити спостережуване нами при застосуванні флавінату виражене одночасне зменшення концентрації ЕХГ у крові й сечі в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 (рис. 4).

Рис. 4. Вплив кверцетину (Кв), флавінату (Ф), ліпіну (Л), ацетилцистеїну (А), клофібрату (Кл) і омепразолу (О) на концентрацію ЕХГ в крові і сечі щурів, отруєних леткими компонентами ЕС

Отже, лікувально-профілактичне застосування флавінату приводить до збільшення рівня ФАДН₂, що є у складі НАДФН-специфічного ФП, або самостійно (неферментативно) відновлює чужорідні субстрати, у тому числі й сполуки, які містять у своєму складі епоксигрупу. ФАД, що утворюється при цьому, відновлюється за участю НАДФН₂, який, судячи з ефективності нікотинаміду, не є лімітувальною ланкою у метаболізмі ЕХГ.

Цей шлях стає особливо актуальним при блокуванні леткими компонентами ЕС ферменту ЕГ, зниженні нижче критичного рівня концентрації Г-SH і зменшенні споживання О₂ тканинами, про що опосередковано свідчить гальмування транспорту електронів у мітохондріях і зниження температури тіла в отруєних тварин.

Важливою стороною фармакодинаміки флавінату є його здатність попереджати порушення енергетичної і детоксикуючої функцій печінки, які виникають під впливом летких компонентів ЕС ЕД-20 (рис. 3, табл. 3), що супроводжується зменшенням деструктивних процесів у мітохондріях і ендоплазматичному ретикулумі. Цей факт можна пояснити тим, що коферментний препарат флавінат, легко включаючись до складу ФП мітохондріального і мікосомального електрон-транспортних ланцюгів, підвищуючи активність ФП, підсилює тканинне дихання, синтез АТФ і попереджає порушення в НАДФН-залежній гідроксилазній системі печінки.

Отримані результати опосередковано свідчать про те, що в патогенезі гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 має місце різке виснаження ФАДН₂ у зв'язку з інтенсивним використанням останнього у відновленні епоксидів. Підтвердженням цього є спостережуване нами в умовах досліджуваної патології зниження вмісту асоційованих із ФП і ФАДН₂ Fe₂S₂-білків і відновлення їхнього рівня під впливом флавінату (табл. 3). У цьому випадку флавінат відіграє роль антидоту, тому що його дія спрямована безпосередньо на відновлення активності НАДФН-специфічних ФП. Можливо, що при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 відбувається порушення фосфорилування рибофлавіну, що підтверджується даними порівняльного дослідження впливу рибофлавіну й флавінату на виживання тварин при гострій інтоксикації ЕХГ.

Істотним моментом у механізмі детоксикуючої дії флавінату є його здатність викликати пролонговане підвищення вмісту цАМФ у печінці (рис. 2). Це обумовлено, на наш погляд, відновленням під впливом препарату активності ФП у мітохондріях і збільшенням у зв'язку із цим утворення АТФ, який і використовується для синтезу цАМФ.

Прояви у флавінату, який не є антиоксидантом, в умовах модельованого патологічного процесу, помірних антиокисних властивостей, що характеризуються зниженням у печінці рівня ДК, МДА, ІСХ, ІАХ, поліпшенням співвідношення SH-/-S-S-груп і підвищенням у сироватці крові активності КТ (табл. 3), може бути пояснено здатністю цієї коферментної сполуки підвищувати активність

флавінового ферменту глутатіонредуктази (Д.В. Парк, 1973) і збільшувати рівень внутрішньоклітинного глутатіону (S. Yocochi et al., 1997).

Отже, основну роль у прояві детоксикуючих ефектів флавінату при досліджуваній патології визначає збільшення ним активності ФП, які забезпечують в організмі реакції енергетичного обміну, регенерацію відновленого глутатіону й детоксикацію епоксидних сполук, а також посилення препаратом цАМФ-залежних біохімічних процесів, наслідком чого є гепатопротекторний, антиоксидантний, мембраностабілізуючий і антитромбоксановий ефекти. Безсумнівно, важливе місце займають властивості флавінату гальмувати активність гуанілатциклази і знижувати рівень цГМФ у печінці.

Механізм установленого детоксикуючого ефекту ацетилцистеїну при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 насамперед пов'язаний зі збільшенням рівня SH-груп у печінці (табл. 3). Відомо, що тіогрупи препарату можуть вступати в хімічну взаємодію з епоксидами із подальшим утворенням передмеркаптурових і меркаптурових кислот, які легко виводяться з організму (С.Н. Голиков и др., 1986). Це помітно зменшує алкілювання низько- і високомолекулярних тіолових сполук і фактично є реалізацією принципу хімічної взаємодії між отрутою й антидотом (И.Г. Мизюкова, В.Е. Петрунькин, 1983).

Можна вважати доведеною здатність ацетилцистеїну легко проникати через біологічні мембрани клітин, потім деацетилюватися в цистеїн і разом із глутаміновою кислотою й глікоколом синтезувати глутатіон, який у глутатіон-S-трансферазній реакції бере участь у метаболізмі ЕС (В.А. Кобляков, 1990; M. Arakawa, Y. Ito, 2007), а отже, у зниженні концентрації ЕХГ у крові, що спостерігалось в наших експериментах (рис. 4). Будучи реактиватором сульфогідрильних груп і попередником глутатіону (A. Love et al., 1996; D. Thong-Ndam et al., 2007), ацетилцистеїн зменшує пригнічення активності SH-вмісних ферментів ЕГ і КТ, які беруть участь у метаболізмі ЕС.

Не можна не згадати про виявлений в експерименті гепатопротекторний ефект ацетилцистеїну, який реалізується як за рахунок антиоксидантного компонента, так і шляхом збільшення синтезу ПГЕ₂ і цАМФ (табл. 3). Отримані результати підтверджують наявні в літературі дані про гепатозахисні властивості ПГЕ₂ (M.J. Ruwart et al., 1985; K. Tomotsu et al., 1990) і свідчать про важливу роль SH-груп у підтримці активності ендоперокси-ПГЕ-ізомерази, яка бере участь у синтезі ПГЕ₂ (В.У. Буко, 1991). Крім цього, ПГЕ₂ знижує рівень цитохрому Р₄₅₀ у печінці (Z. Kuchukashvili et al., 2003), що приводить до зменшення гепатотоксичності летких компонентів ЕС.

Відомо, що активність флавінмонооксигенази (ФМО) у печінці знижується при окисленні глутатіону (J.K. Suh et al., 2000). Не виключено й те, що ацетилцистеїн, легко проникаючи через клітинні й субклітинні мембрани гепатоцитів, гальмує цей процес, підвищуючи тим самим активність ФМО, про що свідчать результати наших дослідів із збільшення цим препаратом рівня SH-груп, координаційно зв'язаних із ФП – ЗСБ, а також зменшення НКЗ і цитохрому Р₄₅₀ у печінці в умовах досліджуваної патології. Результати такої дії проявляються в посиленні реакцій I і особливо II фаз метаболізму амідопіріну, скороченні часу гексеналового сну (табл. 3).

Важливе значення в реалізації гепатопротекторного ефекту має встановлене нами в дослідях *in vitro* і *in vivo* інгібування ацетилцистеїном ендogenous біосинтезу ТХВ₂, стимульованого під впливом ЕХГ. Вважають, що зниження концентрації ТХВ₂ у гепатоцитах пов'язане із цАМФ-залежним фосфорилуванням ефекторних білків, що беруть участь у пригніченні синтезу цього ейкозаноїду (J. Mandl, 1988). Про це свідчить підвищення під впливом ацетилцистеїну на фоні інстиляції ЕХГ, внутрішньоклітинного рівня цАМФ, що свідчить про захист препаратом SH-груп аденілатциклази.

Підсумовуючи вищевикладене, можна сказати, що лікувально-профілактичний ефект ацетилцистеїну обумовлений його здатністю взаємодіяти з леткими компонентами ЕС, у тому числі ЕХГ, у результаті конкурентних відношень SH-груп антидоту і SH-груп білків, особливо ферментних систем, що метаболізують ЕС. Аналогічну дію проявляють цистеїн і глутатіон, які утворюються з ацетилцистеїну в організмі. Істотне значення має властивість препарату стримувати зниження рівня цАМФ у гепатоцитах і модифікувати метаболізм АК шляхом підвищення продукції гепатоцитами ПГЕ₂ і зменшення концентрації ТХВ₂, що можна трактувати як важливу ланку в механізмі гепато-протекторної активності ацетилцистеїну. Безсумнівно, певний внесок у

фармакотерапевтичну активність ацетилцистеїну при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 вносять його антиоксидантні, а отже, і мембраностабілізуючі властивості.

Традиційним уявленням про механізм дії ліпосомальних препаратів фосфоліпідів, у тому числі ліпіну, є їх досить виражена антиоксидантна дія, що лежить в основі кардіо- і гепатопротекторної активності (А.В. Стефанов, 1991; А.Д. Гордиенко, 2001; І.М. Кліщ, 2003; Г.В. Белік, 2006). У наших експериментах показано, що ліпін повною мірою реалізує зазначені властивості в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 шляхом істотного зниження інтенсивності ПОЛ у печінці (табл. 3). Отримані результати можна пояснити прямим неферментативним пригніченням ліпіном ПОЛ, його здатністю як структурного антиоксиданту вбудовуватися в ділянки ушкоджених клітинних і субклітинних мембран печінки. Цілком імовірним уявляється зв'язування ліпіном структурних компонентів ЕС.

Виявлена важлива роль фосфатидилхолінових ліпосом у функціонуванні мікросомальних монооксигеназ, про що свідчить підвищення екскреції із сечею метаболітів амідопіріну (4-ААП і N-ац-4-ААП) і скорочення часу гексеналового сну. Стабілізацією фосфоліпідного шару мітохондрій можна пояснити нормалізацію під впливом ліпіну рівня ЗСБ і різке зниження вмісту НКЗ у печінці отруєних щурів (табл. 3).

Відмічений нами виражений позитивний вплив ліпіну на активність ЕГ при гострому отруєнні ЕС ЕД-20 узгоджується з результатами, отриманими N. J. Bulleid at al. (1986) у модельних експериментах. Виходячи із цього, зниження під впливом ліпіну в отруєних щурів концентрації ЕХГ у сироватці крові можна розцінювати як наслідок збільшення фосфоліпідами активності ЕГ (рис. 4).

Певний внесок у гепатопротекторний ефект ліпіну робить підвищення під його впливом при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 вмісту ППІ₂ і цАМФ у гепатоцитах (рис. 2, табл. 3). Це може бути пов'язане з тим, що близько 80% введеного в організм препарату захоплюється клітинами печінки (Ф.П. Тринус и др., 1985), а основним ейкозаноїдом, що синтезується цим органом, є простагліцин, який, у свою чергу, стимулює синтез цАМФ у гепатоцитах, підсилюючи їхню адаптивну реакцію на гострий токсичний вплив леткими компонентами ЕС ЕД-20.

Отже, ефективність ліпіну при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 обумовлена, крім антиоксидантних і гепатопротекторних властивостей, підвищенням активності ЕГ і збільшенням вмісту цАМФ і ППІ₂ у гепатоцитах.

Цікавим у науково-практичному плані є обговорення можливих молекулярних механізмів детоксуючої дії клофібрату й омепразолу, яка досить переконливо доведена на моделі гострої інтоксикації ЕХГ. Показано, що повторне застосування клофібрату в інтактних тварин і при отруєнні леткими компонентами ЕС ЕД-20 викликає одночасну індукцію НАДФ-залежної монооксигеназної гідроксильуючої ферментної системи печінки й ферментів ЕГ і Г-S-T, а омепразолу, навпаки, - пригнічення цієї системи, але індукцію ЕГ (табл. 4). Отже, вибіркоче підвищення під впливом омепразолу активності ЕГ, що не реагує, як свідчать дані літератури, на вплив такого потужного, універсального індуктора ферментних систем печінки, як фенобарбітал, та інших синтетичних індукторів МОС (B.D. Hammock, K. Ote, 1983), свідчить про конститутивну роль цього ферменту. У той самий час збільшення у результаті впливу клофібрату або омепразолу активності Г-S-T і ЕГ як в інтактних, так і в отруєних ЕС ЕД-20 щурів свідчить про істинну індукцію препаратами цих ензимів. Така дія досліджуваних препаратів, здебільшого омепразолу, супроводжувалася зменшенням у крові й сечі концентрації ЕХГ, що, імовірно, свідчить про важливу роль індукції мікросомальної і цитозольної ЕГ у метаболізмі отрути до менш токсичних продуктів (рис. 4). Про це свідчить достовірне збільшення виживання тварин при гострому смертельному отруєнні ЕХГ.

Таблиця 4

Вплив клофібрату і омепразолу на екскрецію метаболітів амідопіріну з сечею і активність ферментів метаболізму ЕС у тканині печінки щурів через 24 години після отруєння леткими компонентами ЕС ($M \pm m$, $n=8-10$)

Позитивною стороною фармакодинаміки клофібрату є наявність у нього добре виражених антирадикальних і антиокисних властивостей, чому сприяє істотне підвищення препаратом концентрації SH-груп у печінці отруєних щурів, які при високій активності Г-S-T можуть інтенсивно

включатися в детоксикацію як гідроперекисів, так і ЕС. Ці результати узгоджуються з наявними даними літератури про підвищення під впливом клофібрату вмісту не зв'язаних з білками сульфогідрильних груп у фракції цитозолу печінки (N. Mitsuo, 1987).

Виражені детоксикуючі й гепатопротекторні ефекти похідного бензimidазолу омепразолу при модельованій інтоксикації пов'язані, на наш погляд, з одночасною індукцією цим препаратом ЕГ і зниженням активності монооксигеназної системи печінки. Підтвердженням цього припущення служать результати western імуноблотинг-аналізу, які показали, що алілтіобензimidазол поряд з індукцією мікросомальної ЕГ і Г-S-T не тільки не змінює рівень цитохромів P₄₅₀ 1A2, P₄₅₀ 2B1/2 і P₄₅₀ 2E1, але й приводить до помітного зменшення вмісту цитохрому P₄₅₀ 2C11. Така дія алілтіобензimidазолу супроводжувалася частковим гепатозахисним і протинекрозним ефектами при ацетамінофен-індукованому ураженні печінки (S.G. Kim et al., 1998).

Істотною стороною гепатозахисної дії омепразолу в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 є зсув метаболізму АК у бік збільшення синтезу ПП₂ і ППЕ₂ при помітному зменшенні продукції ЛТВ₄ і ТХВ₂ (рис. 5), що обумовлено, на нашу думку, здатністю препарату інгібувати тромбоксансинтетазу (Р. Марри и др., 1993) і ліпоксигеназу (D. R. Buckle et al., 1987), у результаті чого зникає конкуренція за субстрат (АК) між ліпоксигеназою і циклооксигеназою, а також за циклічні ендоперокси (ПГГ₂, ПГН₂) між простациклінсинтетазою і тромбоксансинтетазою.

Рис. 5. Вплив омепразолу на метаболізм арахідонової кислоти при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС (у відсотках відхилення від показників інтактної групи)

І на закінчення обговорення даного фрагменту не можна залишити без уваги факт підвищення в печінці під впливом омепразолу в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 рівня цАМФ (рис. 2), що може бути пов'язане із пригніченням препаратом активності фосфодіестерази цАМФ (G. Nemoz, A.F. Prigent, 1984).

Таким чином, у механізмі детоксикуючої дії клофібрату при гострому отруєнні леткими компонентами ЕС ЕД-20 пріоритетним варто вважати індукцію препаратом ЕГ і Г-S-T. Не менш істотне значення мають антиоксидантні й тиолпротекторні властивості препарату, що сприяють інактивації ЕС глутатіон-S-трансферазним шляхом. Першорядна роль у детоксикуючій активності омепразолу поряд з індукцією ЕГ належить різкому пригніченню цим похідним бензimidазолу функції НАДФ-залежної монооксигеназної гідроксилюючої ферментної системи печінки. Гепатопротекторні властивості омепразолу в умовах гострої інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 виначаються збільшенням синтезу гепатоцитами цАМФ, ПП₂ і ППЕ₂ на фоні вираженого зниження в печінці рівня ЛТВ₄ і ТХВ₂.

Виходячи із власних досліджень, нами схематично узагальнені можливі шляхи фармакотерапії гострих інтоксикацій леткими компонентами ЕС, які за своєю суттю зводяться до фармакологічної регуляції метаболізму епоксидних сполук (рис. 6), основних систем передачі внутрішньоклітинної інформації і ПОЛ (рис. 7). Як видно із наведених рисунків, ефективність фармакотерапії реалізується за рахунок індукції використаними препаратами ЕГ, підвищення рівня SH-груп, ФАДН₂ у складі ФП, гальмування МОС і окремих ланок Ca²⁺-мобілізуючої поліфосфоінозитидної системи, ПОЛ з одночасною активацією аденілатциклазного каскаду, що підтверджує доцільність комбінованого фар-макологічного впливу на ці механізми.

Рис. 6. Можливі механізми впливу вивчених лікувальних засобів на метаболізм ЕС

Рис. 7. Можливі точки прикладання в механізмі дії вивчених фармакологічних засобів при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС

Застосування при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС ЕД-20 комбінацій ацетилцистеїн + флавінат, ацетилцистеїн + ліпін і кверцетин + ліпін підсилює ефект кожного препарату, застосовуваного окремо, що реалізується в зменшенні їхніх доз, підвищенні ІТЕ, нормалізації ІАХ, істотному

поліпшенні гістологічних, електронно-мікроскопічних змін у печінці й свідчить про потенціювання детоксикуючої дії препаратів.

Особливу роль у профілактиці й лікуванні гострих отруєнь леткими компонентами ЕС ЕД-20 варто відвести ентеросорбентам. Проведені дослідження свідчать про високу сорбційну активність і терапевтичну ефективність ентеро-сорбентів карбовіту і особливо карбовіту-М, стосовно легкого компонента ЕС ЕД-20 – ЕХГ, що перевищує таку у вугілля активованого (рис. 8). Очевидно, прожарювання карбовіту-М в N_2 робить його пористу структуру більш ємною, а поглинальну здатність стосовно ЕХГ – значно більшою, ніж у карбовіту.

Рис. 8. Ізотерми сорбції ЕХГ з водного розчину ентеросорбентами карбовітом (1), карбовітом-М (2) і вугіллям активованим (3)

Основні механізми ефективності ентеросорбції, крім фіксації й видалення з організму ЕХГ і зменшення його концентрації в крові, можуть бути, очевидно, пов'язані з біотрансформацією ЕХГ у менш токсичні продукти, де досліджувані ентеросорбенти виступають як коферменти або активатори каталітичних процесів (В.Г. Николаев, В.В. Стрелко, 1982; Н.В. Барбашова, 1992). Отже, за способом лікувальної дії карбовіт і карбовіт-М можна віднести до фізико-хімічних антидотів, які називають також хімічними протиотрутами контактної дії (И.Г. Мизюкова, Н.В. Кокшарева, 1977).

Виявлена висока ефективність ентеросорбентів карбовіту і карбовіту-М свідчить про доцільність їхнього застосування як антидотно-лікувальних засобів у комплексній терапії отруєнь леткими компонентами ЕС.

Таким чином, з огляду на характер і механізми формування порушень в організмі при отруєнні леткими компонентами ЕС, нами експериментально обґрунтована доцільність використання при даній патології препаратів антиоксидантного і метаболітного типів дії (кверцетин, ліпін, флавінат, ацетилцистеїн), синтетичних антиоксидантів ([2-(3'-сульфоланілокси)етил]триметиламоній йодид), індукторів ЕГ (омепазол, клофібрат), ентеросорбентів (карбовіт, карбовіт-М) і ВМС (співполімер N-вінілпіролідону з N,N-диметиламіноетилметакрилатом та вінілбутиловим ефіром).

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено експериментально-теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми токсикології, яка полягає у встановленні параметрів токсичної дії і провідних ланок патогенезу отруєнь діановими ЕС, на основі чого розроблені в експерименті шляхи профілактики та лікування цієї патології.

1. У дослідах на білих щурах встановлено, що LK_{50} ЕС ЕД-20 при гострому інгаляційному динамічному впливі становить $356,86 \pm 78,10$ мг/м³ за ЕХГ, $Lim_{ac} - 35,3$ мг/м³, $Lim_{sp} - 7,1$ мг/м³, $Z_{ac} - 10,11$, $Z_{sp} - 4,97$, а ЕС Е-40 – $381,77 \pm 114,85$ мг/м³, $40,10$ мг/м³, $15,20$ мг/м³, $9,52$ і $2,64$ відповідно, що дозволяє віднести ці сполуки до високотоксичних речовин з вираженою гепатоспецифічною дією, які являють собою високу небезпеку розвитку гострого смертельного і не смертельного отруєння. Епоксисполуки мають чітко виражену добову і сезонну ритмічність розвитку токсичного процесу. Акрофаза циркадних і циркануальних ритмів токсичності ЕС ЕД-20, Е-40 і ЕХГ, застосовуваних в дозі $1/10 LK_{50}$, реєструвалася в 10-14 годин і зимою, а в дозі LK_{50} – у 22-02 години і літом ($p < 0,05$).

2. Гостра інтоксикація леткими компонентами ЕС ($120-140$ мг/м³ за ЕХГ) супроводжується у токсикогенній фазі активізацією процесів вільнорадикального окислення ліпідів у печінці, що проявляється вірогідним підвищенням ІСХ на 122-288%, ДК – на 33-72%, МДА – на 44-100% і зменшенням рівня SH-груп на 28-37%. Підсилення процесів ПОЛ у печінці призводить до зсуву метаболізму АК у бік підвищення продукції ЛТВ₄, ПГФ_{2 α} , ТХВ₂ відповідно на 83%, 46-63% і 147-256% ($p < 0,05$) і значного зниження (в 6,7-8,3 раза) рівня ПГІ₂. Зміни АКТГ, цАМФ і цГМФ мають фазовий характер. За умов гострої дії ЕС зменшується рівень ЗСБ і ВР на 18 і 25% ($p < 0,05$) на фоні різкого підвищення в 6,6-15 разів ($p < 0,001$) НКЗ, що призводить до гальмування дихання та окисного фосфорилування і проявляється в зниженні рівня АТФ в 1,3-1,9 раза ($P < 0,01-0,001$), АТФ/АДФ·Ф_n – в 1,5-4,2 раза ($p < 0,02-0,001$) та НАД+НАДФ – в 1,3-1,5 раза ($p < 0,001$).

3. Морфологічні зміни при отруєнні ЕС характеризуються дистрофічними і некротичними процесами в гепатоцитах, явищами зернистої, гіаліново-крапельної та жирової дистрофії. На рівні ультраструктурної організації гепатоцитів спостерігаються деструктивні зміни цитоплазматичних і органοїдних мембран, переважно мітохондрій, гладенького і гранулярного ендоплазматичного ретикулума. Поява некротичних змін у гепатоцитах синхронна в часі з максимумом зниження рівня SH-груп у печінці.

4. Механізм токсичної дії ЕС, зокрема ЕХГ, полягає в утворенні зворотних комплексів з транспортними білками, переважно з альбуміном, пригніченні I і II фаз біотрансформації ксенобіотиків у НАДФН-залежній монооксигеназній системі печінки, зниженні активності позамікросомальних ферментів метаболізму епоксидів, про що свідчить гальмування реакцій N-деметилування та ацетилювання амідопіріну на 54-75%, зменшення рівня Mo^{5+} -вмісних парамагнітних комплексів і активності епоксидгідролази на 34-58% та збільшення тривалості гексеналового сну на 27-293% ($p < 0,05-0,001$).

5. Серед 25 вперше синтезованих похідних ди- і тетрагідротіофендіоксиду, N-оксипіридину сполука [2-(3'-сульфанілокси)етил]триметиламоній йодид при лікувально-профілактичному введенні, вірогідно, підвищує виживання білих щурів порівнянно з контролем на 42%, а серед похідних N-вінілпіролідон-малеїнового ангідриду співполімери N-вінілпіролідону з N,N-диметиламіно-етилметакрилатом та N-вінілпіролідону з N,N-диметиламіноетилметакрилатом і вінілбутиловим ефіром – відповідно на 94% і 69%. Це свідчить про наявність у названих речовин антидотних властивостей.

6. На моделі гострого отруєння ЕХГ роздільне введення кверцетину (350 мг/кг внутрішньошлунково), флавінату (4 мг/кг внутрішньом'язово), ліпіну (680 мг/кг внутрішньоочеревинно), ацетилцистеїну (450 мг/кг внутрішньоочеревинно) сприяє виживанню білих щурів: при профілактичному введенні виживало відповідно 58%, 75%, 40% і 80%, при лікувально-профілактичному – 70%, 100%, 50% і 91%, при лікувальному – 50%, 64%, 40% і 60% тварин (в контролі – 17%). При профілактичному введенні клофібрату (200 мг/кг внутрішньошлунково) або омепразолу (50 мг/кг внутрішньоочеревинно), вірогідно, виживало 64% білих щурів (у контролі – 21%). Це свідчить про наявність у досліджуваних препаратів профілактичних та лікувальних властивостей.

7. При гострій інгаляційній інтоксикації ЕС в умовах профілактичного застосування (за 1 год. до отруєння) ІТЕ ентеросорбентів карбовіту та карбовіту-М (100 мг/кг) становить 1,58 і 2,18 ($p < 0,05$), а при лікувальному введенні (через 1 год. після інтоксикації) – відповідно 1,37 і 1,73 ($p < 0,05$), що дозволяє віднести їх за способом дії до фізико-хімічних антидотів.

8. Комбіноване застосування (за 0,5-3 год. до- і через 5 хв після отруєння) ацетилцистеїну з флавінатов, ацетилцистеїну з ліпіном або кверцетину з ліпіном при гострій інтоксикації леткими компонентами ЕС супроводжується більш ніж адитивною дією, більш високим ІТЕ ($p < 0,05$), повною нормалізацією ІАХ ($p < 0,001$), істотним поліпшенням гістологічних та електронно-мікроскопічних змін у печінці.

9. Механізм позитивної дії застосованих при отруєнні ЕС препаратів обумовлений: кверцетину - здатністю гальмувати ПОЛ, спричиняти пролонговане підвищення рівня цАМФ і цГМФ у печінці, модифікувати метаболізм АК у бік підвищення утворення ППГ₂ та зменшення продукції ЛТВ₄, ППГ_{2α} і ТХВ₂, збільшувати спорідненість ЕХГ до сироваткового альбуміну, нормалізувати рівень ЗСБ, ВР, НКЗ, цитохрому P₄₅₀ і Mo^{5+} -вмісних парамагнітних комплексів, що супроводжується покращанням процесів енергозабезпечення та детоксикації в гепатоцитах; флавінату – посиленням енергозабезпечувального і мікросомального окислення (у результаті стабілізації рівня ЗСБ, ВР, цитохрому P₄₅₀, Mo^{5+} -комплексів), антирадикальними властивостями, протекторним впливом на активність ЕГ, Г-S-T, γ-ГТ, що проявляється збільшенням вмісту в печінці НАД+НАДФ, АТФ, зменшенням НКЗ, прискоренням метаболізму епоксидів, реакцій I і II фаз біотрансформації ксенобіотиків, одночасним зменшенням концентрації ЕХГ в крові і сечі; ліпіну – антиоксидантними властивостями, підвищенням рівня цАМФ, ЗСБ, співвідношення ППГ₂/ТХВ₂, активності ЕГ, процесів N-деметилування і ацетилювання в гепатоцитах; ацетилцистеїну – впливом на тіолдисульфідний обмін, метаболізм АК, вираженою антиокислювальною і детоксуючою дією - як результат нормалізації вмісту в печінці

SH-груп, ТБК-реактивів, ЗСБ, НКЗ, ТХВ₂, підвищення активності ЕГ та продукції гепатоцитами ПГЕ₂.

10. В умовах профілактичного застосування при гострих отруєннях ЕС клофібрат попереджує інтенсифікацію ПОЛ, спричиняє істинну індукцію ферментів ЕГ, Г-S-T і компонентів монооксигеназної системи, а омепразол – істинну індукцію ЕГ та пригнічення функціонування мікросомальної системи, що в обох випадках супроводжується посиленням детоксикаційних процесів зі зниженням концентрації ЕХГ у крові і сечі щурів. Своєрідний вплив омепразолу на ферментні системи детоксикації епоксисполук, амідопіріну і гексеналу досягається перш за все за рахунок підвищення ним продукції гепатоцитами цАМФ, а також пригніченням синтезу ЛТВ₄, ТХВ₂ і збільшення в плазмі крові концентрації ПГІ₂ та ПГЕ₂.

11. Застосування ліпіну, ацетилцистеїну, кверцетину або флавінату у тварин, отруєних ЕС, суттєво зменшує кількість та об'єм некротичних ділянок мульти – і монолобулярного типу, а також явища зернистої гіаліново-крапельної та жирової дистрофії в гепатоцитах. Це супроводжується менш вираженими деструктивними процесами з боку мітохондрій, гладкої і гранулярної частин ендоплазматичного ретикулула, ядерного апарату, появою перихроматинових гранул, зменшенням явищ каріопікнозу, каріолізу і вмісту ліпідних включень у цитоплазмі. Лікувально-профілактичний ефект кверцетину відрізняється значним посиленням процесів внутрішньоклітинної репаративної регенерації, а флавінату – високим збереженням і збільшенням кількості мітохондрій.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При гострій інтоксикації леткими компонентами епоксидних смол доцільним є комбіноване застосування препаратів з різними механізмами впливу на патологічний процес (ацетилцистеїну з флавінатором, ацетилцистеїну з ліпіном або кверцетину з ліпіном).

2. Не слід застосовувати при даній патології індуктори монооксигеназної системи, зокрема фенобарбітал, бензонал, а також препарати, що знижують активність НАДФН-цитохром-С-редуктази (цистаміну дигідрохлорид), епоксидгідролази і виснажують фонд глутатіону, оскільки це веде до зростання токсичності летких компонентів епоксидних смол.

3. Для підвищення ефективності фармакотерапії гострих отруєнь леткими компонентами епоксидних смол доцільно протягом 3-5 днів проводити ентеросорбцію з використанням карбовіту або карбовіту-М.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Синтез и антиоксидантная активность некоторых производных ди- и тетрагидротиофендиоксида / И.Ю. Высоцкий, П.Г. Дульнев, А.И. Луйк, В.Д. Лукьянчук, Л.В. Савченкова // Вісник СумДУ. - 1998. - № 1(9). - С. 125-131. (Дисертант вивчив антиоксидантну активність, проаналізував результати досліджень, оформив статтю).

2. Высоцкий И.Ю., Дульнев П.Г. Химическое строение и антиоксидантная активность некоторых производных N-оксипиридина // Вісник СумДУ. – 1999. - № 1(12). – С. 137-144. (Дисертант вивчив антиоксидантну активність, проаналізував і узагальнив результати, підготував текст статті).

3. Высоцкий И.Ю. Морфологическая оценка эффективности фармакотерапии при экспериментальном поражении печени летучими компонентами эпоксидных композиций // Проблеми екології та медицини. – 1999. – Т. 3, № 3-4. – С. 26-30.

4. Высоцкий И.Ю. Патоморфологические критерии эффективности ацетилцистеина и липина при токсическом поражении печени летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20 // Вісник СумДУ. - 1999. - № 2(13). - С. 142-149.

5. Высоцкий И.Ю. Изменения ультраструктуры клеток печени при острой интоксикации летучими компонентами эпоксидных смол и лекарственная коррекция возникших нарушений // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 1999. - № 3(14). - С. 19-27.

6. Высоцкий И.Ю., Лукьянчук В.Д., Грызунова Г.К. Связывание эпихлоргидрина сывороткой крови и ее белковыми фракциями // Современные проблемы токсикологии. - 1999. - № 2. - С. 33-36. (Здобувачем виконано дослідження, проведено статистичне оброблення результатів, здійснено аналіз літератури, написано текст статті).

7. Высоцкий И.Ю. Влияние кверцетина, липина и ацетилцистеина на печень, пораженную летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20 // Вісник проблем біології і медицини. - 1999. - № 10. - С. 91-98.

8. Высоцкий И.Ю. Влияние кверцетина, флавинола и никотинола на електронно-мікроскопічну картину гепатоцитів при гострому токсичному ураженні печінки епоксидними сполуками // Проблеми екології та медицини. - 1999. - Т.3, № 6. - С. 43-46.

9. Высоцкий И.Ю., Комаревцева И.А. Эндогенный биосинтез простагландинов и циклических нуклеотидов в ткани печени под влиянием эпихлоргидрина, его фармакологическая регуляция // Проблеми екології та медицини. - 2000. - Т.4, № 1. - С. 22-26. (Дисертантом сплановано експеримент, розроблена модель патологічного процесу, обґрунтовані дози препаратів, проаналізовані отримані дані, підготовлена стаття до друку).

10. Высоцкий И.Ю. Токсичность и метаболизм эпоксидных соединений // Український медичний альманах. - 2000. - Т.3, № 2. - С. 43-46.

11. Высоцкий И.Ю. Метаболические реакции и механизмы повреждения био-мембран гепатоцитов в условиях острого токсического поражения печени летучими компонентами эпоксидных соединений // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 2000. - № 18. - С. 3-11.

12. Высоцкий И.Ю. К токсикологии эпоксидных смол ЭД-20 и Э-40 // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 2001. - № 12(33). - С. 16-23.

13. Высоцкий И.Ю. Фармакологическая регуляция активности ферментов, принимающих участие в метаболизме эпоксидных соединений // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 2002. - № 8(41). - С. 39-48.

14. Висоцький І.Ю. Вплив деяких лікарських засобів на стан ПОЛ за умов гострого токсичного ураження печінки щурів // Ліки. - 2003. - № 1-2. - С. 86-90.

15. Высоцкий И.Ю. Циркадные и цирканнуальные ритмы токсичности эпихлоргидрина // Современные проблемы токсикологии. - 2003. - № 2. - С. 45-49.

16. Высоцкий И.Ю. Хронотоксикология эпоксидных смол // Український медичний альманах. - 2003. - Т. 6, № 4. - С. 37-41.

17. Висоцький І.Ю. Вплив деяких лікарських засобів на рівень АКТГ і циклічних нуклеотидів у щурів за умов гострого токсичного ураження печінки // Ліки. - 2003. - № 3-4. - С. 92-98.

18. Высоцкий И.Ю., Гребеник Л.И. Лекарственная регуляция тиол-дисульфидного обмена в печени животных при острой токсической гепатопатии // Український медичний альманах. - 2003. - Т. 6, № 5. - С. 36-41. (Здобувачем виконано всі експериментальні дослідження і написано текст статті).

19. Высоцкий И.Ю. Состояние НАДФН-зависимой монооксигеназной гидроксилующей ферментной системы печени крыс, отравленных летучими компонентами эпоксидных смол после лекарственного воздействия // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 2003. - № 9(55). - С. 16-27.

20. Высоцкий И.Ю. Функциональная активность антиоксидантной системы организма в условиях острой токсической гепатопатии, индуцированной эпоксидами на фоне применения фармакотерапевтических средств // Український медичний альманах. - 2003. - Т. 6, № 6 (додаток). - С. 17-21.

21. Высоцкий И.Ю. Влияние лекарственных средств с различными механизмами действия на концентрацию эпихлоргидрина в биологических средах организма в условиях острой интоксикации летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20 // Вісник СумДУ. Серія Медицина. - 2004. - № 7(66). - С. 15-24.

22. Висоцький І.Ю. Роль ендогенних ейкозаноїдів у патогенезі токсичної гепатопатії і фармакотерапія деякими лікарськими засобами // Ліки. - 2004. - № 3-4. - С. 74-80.

23. Высоцкий И.Ю., Савченкова Л.В. Динамика парамагнетизма печеночной ткани при острой токсической гепатопатии, вызванной эпихлоргидрином и на фоне фармакотерапевтического воздействия кверцетина // Медицина сегодня и завтра. - 2004. - № 4. - С. 60-65. (Здобувачем особисто виконано моделювання патологічного процесу, проведено статистичну обробку результатів, здійснено аналіз літератури, написано текст статті).

24.Высоцкий И.Ю. Изучение сорбционных свойств углеродных и поли-мерных энтеросорбентов на модельных растворах эпихлоргидрина в равновесных условиях // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2004. - № 11(70). – С. 14-22.

25.Высоцкий И.Ю. Фармакологическая коррекция нарушения простаглицлин-тромбоксанового равновесия при остром токсическом поражении печени летучими компонентами диановой эпоксидной смолы // Современные проблемы токсикологии. – 2005. - № 1. – С. 51-56.

26.Высоцкий И.Ю. Эффективность энтеросорбентов при острой интоксикации летучими компонентами эпоксидной смолы марки ЕД-20 и эпихлоргидрином // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2005. - № 3(75). – С. 15-21.

27.Высоцкий И.Ю. Изменение уровня никотинамидных нуклеотидов в печени крыс под влиянием летучих компонентов эпоксидной смолы ЭД-20 // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2006. - № 2(86). – С. 31-36.

28. А.с. 1624954 СССР, МКИ А 61 К 31/44. α -(Пиридин-2-ил)- α -(3,4-ди-оксинафтил-1)-ацетонитрил, обладающий антиоксидантной активностью / В.П. Маковецкий, В.Д. Лукьянчук, И.Ю. Высоцкий (СССР). - № 4662950/04; Заявл. 16.03.89; Оpubл. 30.01.1991, Бюл. № 4. (Дисертантом вивчена антиоксидантна активність, гостра токсичність, оформлена заявка на винахід).

29. Декларацийний патент 0031641А Україна, МКВ С 08F 26/10, С 07С 57/04, С 07С 211/04. Сополімер N-вінілпірролідону, N,N-диметиламіно-етилметакрилату та вінілбутилового ефіру, що проявляє детоксикуючу активність по відношенню до алкілюючих агентів / І.Ю. Висоцький, І.П. Федорова, В.Д. Лук'янчук, М.О. Коршунов (Україна). - № 98105284; Заявл. 07.10.1988; Оpubл. 15.12.2000, Бюл. № 7-11. (Здобувачем вивчена детоксикуюча активність співполімеру, гостра токсичність, оформлена заявка на винахід).

30. Патент 52658 Україна, МКВ С07Д333/48, А61К31/38, А 61Р39/06. Сполука, що має антиоксидантну та детоксикуючу активність / П.Г. Дульнев., І.Ю. Висоцький (Україна). - №98116032; Заявл. 13.11.1998; Оpubл. 15.01.2003, Бюл. № 1. (Здобувачем вивчена антиоксидантна та детоксикуюча активність, гостра токсичність, оформлена заявка на винахід).

31.Высоцкий И.Ю. Динамика нарушений простаглицлин-тромбоксанового баланса при острой токсической гепатопатии, вызванной летучими компонентами эпоксидной смолы марки ЭД-20 // Тези доповідей II з'їзду токсикологів України (12-14 жовтня 2004 р.). – Київ, 2004. – С. 47-48.

32.Высоцкий И.Ю. Влияние кверцетина и флаваната на активность детоксицирующей ферментной системы печени в условиях острой токсической гепатопатии // Актуальні питання фармакології: Матеріали IV Української науково-практичної конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (7-8 жовтня 2004 р.). – Вінниця, 2004. – Ч. II. – С. 33-34.

33.Высоцкий И.Ю. Сорбционная и детоксицирующая активность некоторых энтеросорбентов // Достижения та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Матеріали VI Національного з'їзду фармацевтів України 28-30 вересня 2005 р.). – Харків: НФаУ, 2005. – С. 500-501.

34. Висоцький І.Ю. Фармакологічна регуляція рівня ейкозаноїдів в умовах токсичної гепатопатії спричиненої леткими компонентами эпоксидної смоли // Актуальні проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини: Тези доповідей VI Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження академіка АМН СРСР Л.І. Медведя (1-3 жовтня 2005 р.). – Київ, 2005. – С. 105-106.

35. Висоцький І.Ю. Фармакологічна регуляція рівня простаглицліну і тромбоксану в умовах гострого токсичного ураження печінки леткими компонентами эпоксидної смоли ЕД-20 // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє: Тези доповідей III Національного з'їзду фармакологів України (17-20 жовтня 2006 р.). – Одеса, 2006. – С. 33-34.

36. Vysotsky I.Y. Influence of some medicines on the dynamics of ACTG and cyclic nucleotides changes under acute toxic liver disease // Abstracts of the VII International Scientific Conference "Current and Future Challenges in Environmental Health, Toxicology, and Food Safety in Eastern and Central Europe" (May 2-5, 2006). – Kyiv, 2006. – P. 69-70.

37. Висоцький І.Ю. Зміна рівня аденілових нуклеотидів в печінці щурів під впливом летких компонентів эпоксидних смол // Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини:

Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (25-26 квітня 2007 р.). – Суми: СумДУ, 2007. – Ч. 2. – С. 7-8.

АНОТАЦІЯ

Висоцький І.Ю. Токсикодинаміка та терапія гострих інгаляційних отруень епоксидними смолами (експериментальне дослідження). – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук із спеціальності 14.03.06 – токсикологія. – Державна установа “Інститут фармакології та токсикології” АМН України. – Київ, 2007.

Дисертація присвячена установленню параметрів токсичної дії і провідних ланок патогенезу гострих інгаляційних отруень леткими компонентами (ЛК) діанових епоксидних смол (ЕС) марок ЕД-20, Е-40 і експериментально-теоретичному обґрунтуванню ефективних шляхів їх фармакологічної корекції.

Встановлено, що ЛК ЕС проявляють високу токсичність, яка залежить від циркадних і циркануальних біоритмів, становлять високу небезпеку розвитку гострого смертельного і несмертельного отруєння, утворюють зворотні комплекси з сироватковим альбуміном і є некрозогенними отрутами. В основі патогенезу досліджуваної патології лежать порушення окисно-антиоксидантної рівноваги, аденілат- і гуанілатциклазних механізмів передачі внутрішньоклітинного сигналу, зниження рівня SH-груп, активності епоксидгідролази у печінці, а також зміщення метаболізму арахідонової кислоти в бік утворення ЛТВ₄, ПГФ_{2α} і ТХВ₂. Важливе місце у формуванні токсичної гепатопатії займає гальмування ЛК ЕС енергозабезпечувального і мікросомального окислення.

В експерименті на білих щурах при гострій інтоксикації ЛК ЕС доведена доцільність застосування препаратів метаболітного і антиоксидантного типів дії (кверцетин, флавінат і ліпін), ацетилцистеїну, індукторів епоксидгідролази (клофібрат, омепразол), синтетичних високомолекулярних сполук (співполімер N-ві-нілпіролідону з N,N-диметиламіноетилметакрилатом і вінілбутиловим ефіром), синтетичних антиоксидантів ([2-(3'-сульфоланілокси)етил]триметиламоній йодид) і ентеросорбентів (карбовіт, карбовіт-М).

Ключові слова: епоксидні смоли, епіхлоргідрин, токсичне ушкодження печінки, патогенез, медикаментозна терапія, кверцетин, флавінат, ліпін, ацетилцистеїн, клофібрат, омепразол, високомолекулярні сполуки, ентеросорбенти.

АННОТАЦИЯ

Высоцкий И.Ю. Токсикодинамика и терапия острых ингаляционных отравлений эпоксидными смолами (экспериментальное исследование). – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – токсикология. – Государственное учреждение “Институт фармакологии и токсикологии” АМН Украины. – Киев, 2007.

Диссертация посвящена установлению параметров токсического действия и ведущих звеньев патогенеза острых ингаляционных отравлений летучими компонентами диановых эпоксидных смол (ЭС) марок ЭД-20, Э-40 и экспериментально-теоретическому обоснованию эффективных путей их фармакологической коррекции.

Установлено, что ЭС ЭД-20 и Э-40 являются высокотоксичными соединениями, представляют высокую опасность развития острого смертельного и несмертельного отравления, проявляют гепатоспецифическое действие, имеют четко выраженную суточную и сезонную ритмичность развития токсического процесса.

В основе молекулярных токсикодинамических эффектов ЭС лежит их способность вызывать выраженную мембранопатию за счет усиления процессов свободнорадикального окисления липидов, уменьшения уровня SH-групп, нарушения антиоксидантной системы, усиления метаболизма арахидонової кислоти с повышением продукции ЛТВ₄, ПГФ_{2α} и ТХВ₂, а также фазовых изменений уровня АКТГ в крови, содержания цАМФ и цГМФ в печени отравленных животных. Важная роль принадлежит нарушениям биоэнергетических процессов, о чем свидетельствует резкое уменьшение уровня АТФ, соотношения АТФ/АДФ и отдельных компонентов митохондриальной электрон-транспортной цепи (FeS-белки, семихинонные свободные радикалы) при существенном по-

вышении образования нитрозильных комплексов железа (НКЖ), а также дисбаланс пула никотинамидных коферментов преимущественно за счет окисленных форм. Максимальное снижение в условиях патологии уровня SH-групп совпадало во времени с появлением некротических изменений в гепатоцитах.

Центральные этапы токсикокинетики летучих компонент в условиях ингаляционной интоксикации ЭС характеризуются обратимым комплексобразованием эпихлоргидрина (ЭХГ) с сывороточным альбумином, угнетением первой и второй фаз биотрансформации ксенобиотиков, снижением активности эпоксидгидролазы и повышением времени циркуляции ЭХГ в крови.

Применение в условиях острой ингаляционной интоксикации ЭХГ по лечебно-профилактической схеме кверцетина, флавинола, липина или ацетилцистеина реализуется увеличением выживаемости животных по сравнению с контролем на 53%, 83%, 33% и 74% соответственно. Профилактическая и лечебная схемы введения препаратов были менее эффективными.

Антидотно-лечебные свойства кверцетина, используемого в условиях интоксикации летучими компонентами ЭС, реализуются за счет пролонгированного повышения уровня цАМФ и цГМФ, модифицирующего влияния на метаболизм арахидоновой кислоты в сторону повышения образования ПГ₂ при одновременном уменьшении продукции ЛТВ₄, ПГF_{2α} и ТХВ₂. Препарат увеличивает сродство ЭХГ к сывороточному альбумину, а также предупреждает уменьшение уровня основных компонентов микросомальной (цитохром P₄₅₀, Mo⁵⁺-содержащие парамагнитные комплексы) и митохондриальной (FeS-белки, семихиноновые свободные радикалы) электрон-транспортных цепей гепатоцитов, существенно уменьшая при этом образование маркеров патологии химической этиологии – НКЖ. В основе механизма детоксицирующего действия флавинола при отравлении животных летучими компонентами ЭС лежит его способность эффективно регулировать процессы микросомального, свободнорадикального и энергообеспечивающего окисления в гепатоцитах. Это проявляется ускорением биотрансформации ксенобиотиков, резким снижением уровня НКЖ в печени, укорочением времени гексеналового сна, выраженным протекторным влиянием на активность ферментов эпоксидгидролазы, глутатион-S-трансферазы и γ-глутамилтрансферазы, а также снижением концентрации ЭХГ в крови и моче. Наряду с этим флавинол модифицирует процессы передачи внутриклеточного сигнала путем активации аденилат- и гуанилатциклазных систем в печени и снижения концентрации ТХВ₂ в плазме крови отравленных животных. Мембраностабилизирующее действие липина заключается в его антиоксидантных свойствах, повышении уровня цАМФ и простагландин-тромбоксанового соотношения. Кроме того, липин проявляет модулирующее влияние на активность мембраносвязанных ферментов митохондрий (Fe,S-белки), эпоксидгидролазы и глутатион-S-трансферазы.

Лечебно-профилактический эффект ацетилцистеина при интоксикации ЭС базируется на его антиоксидантном действии, которое включает синхронное повышение активности каталазы в крови, перекисной резистентности эритроцитов и уровня SH-групп в печени. Важную роль в механизме детоксицирующего эффекта ацетилцистеина играет увеличение в гепатоцитах концентрации цАМФ, цГМФ и продуктов циклооксигеназного звена метаболизма арахидоновой кислоты – ПГ₂, ПГЕ₂, а также снижение содержания ТХВ₂. Одновременно использование ацетилцистеина предотвращает деградацию компонентов микросомальной и митохондриальной цепей транспорта электронов, ингибирование эпоксидгидролазы и гиперпродукцию НКЖ.

Применение клофибрата у животных до острой интоксикации летучими компонентами ЭС вызывает истинную индукцию ферментов эпоксидгидролазы, глутатион-S-трансферазы и монооксигеназной системы, а омегапрозола – индукцию эпоксидгидролазы и угнетение функционирования микросомальной системы, что в обоих случаях сопровождается усилением детоксицирующих процессов со снижением концентрации ЭХГ в крови и моче крыс. Более выраженное влияние омегапрозола на функциональное состояние ферментных систем детоксикации эпоксисоединений в сравнении с клофибратом достигается прежде всего за счет повышения продукции гепатоцитами цАМФ, а также путем угнетения синтеза ЛТВ₄, ТХВ₂ и увеличения в плазме крови концентрации ПГ₂ и ПГЕ₂.

Комбинированное применение при острой интоксикации летучими компонентами ЭС ацетилцистеина с флавинолом, ацетилцистеина с липином или кверцетина с липином характеризуется

более чем аддитивным действием, более высоким индексом терапевтической эффективности по сравнению с отдельным использованием препаратов, нормализацией интенсивности активированной хемилюминесценции, существенным улучшением гистологических и электронно-микроскопических изменений в печени. При этом эффект используемых комбинаций достигается в более низких дозах, чем величины ED₅₀ или ED₃₀ отдельных препаратов.

Экспериментально обоснована целесообразность использования с целью профилактики и лечения отравлений летучими компонентами ЭС энтеросорбентов карбовит и карбовит-М, синтетических антиоксидантов ([2-(3'-сульфоланилокси) этил]триметиламмоний йодид), а также высокомолекулярных соединений (сополимер N-винилпирролидона с N,N-диметиламиноэтилметакрилатом и винилбутиловым эфиром).

Ключевые слова: эпоксидные смолы, эпихлоргидрин, токсическое поражение печени, патогенез, лекарственная терапия, кверцетин, флавионат, липин, ацетилцистеин, клофибрат, омепразол, высокомолекулярные соединения, энтеросорбенты.

ANNOTATION

Vysotsky I.Yu. Toxycodynamics and therapy of acute inhalatory poisoning by epoxy resin (experimental research). - Manuscript.

Dissertation for a Doctor's degree of Medical science. Speciality 14.03.06 –toxicology. – State institution “Institute of pharmacology and toxicology” of AMS of Ukraine. – Kyiv, 2007.

Dissertation is devoted to determination of parameters of toxic action and key links of the pathogenesis of the acute inhalatory poisoning by flying components(FC) of dianic epoxy resin (ER) mark ED-20 and E-40 and experimental-theoretical grounding of its pharmacological correction in effective ways.

It is established that ER FC display high toxicity which depends on circadian and circannual biorhythms, represent high danger of acute deadly and non-deadly poisoning, make up reversible complexes with serum albumin, are the necrosogenous poisons. Disorders of oxidizing-antioxidative balance, adenylylate- and gyanylatecyclase mechanisms of intracellular signals transmission, decrease of SH-groups level, activity of epoxydehydrolyase in liver, and also shift of arachidonic acid metabolism to LTB₄, PGF_{2α}, TXB₂ formation form the basis of pathogenesis of studied pathology. Inhibition of energysupplying and microsomal oxidation by ER FC takes an important place in formation of toxic hepatothopathy.

In experiment on white rats at acute intoxication by ER FC expediency of preparations of metabolic and antioxidative types of action (quercetinum, flavinatum and lipine), acetylcysteinum, epoxyhydrolyase inductors (clofibrate, omeprazole), synthetic highmolecular compounds (copolymers of N-vinylpyrrolidone and N,N-di-methylaminoethylmetacrilate and vinylbutylic ether), synthetic antioxidants ([2-(3'-sul-phalaniloxi)ethyl]trimethylammonium iodidum) and enterosorbents (carbovit, carbovit-M) application was proved.

Key-words: epoxy resin, epichlorhydrin, toxic liver damage, pathogenesis, medicinal therapy, quercetinum, flavinatum, lipine, acetylcysteinum, clofibrate, omeprazole, highmolecular compounds, enterosorbents.

Підп. до друку 28.11.2007. Формат 60x90/16. Ум. друк. арк. 1,9.
Наклад 100 прим. Папір офсетний. Обл.-вид. арк. 1,8. Замовлення №
Друк. офсетний.

Видавництво СумДУ. 40007, м. Суми, вул. Р.-Корсакова, 2
Свідоцтво серія ДК № 3062 від 17.12.2007 р.
Друкарня СумДУ. 40007, м. Суми, вул. Р.-Корсакова, 2