



УДК 616.438-008.931:577.152.-02

## РОЛЬ АЛЬДЕГІДІВ У РОЗВИТКУ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ ІЗ ГЛІЦЕРОЛ-СТИМУЛЬОВАНИМ РАБДОМІОЛІЗОМ І СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ

**К. О. Токарчук, І. П. Крисюк, Л. Г. Капустяненко, С. Г. Шандренко**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ 01601, Україна  
e-mail: kate\_tokarchuk@ukr.net*

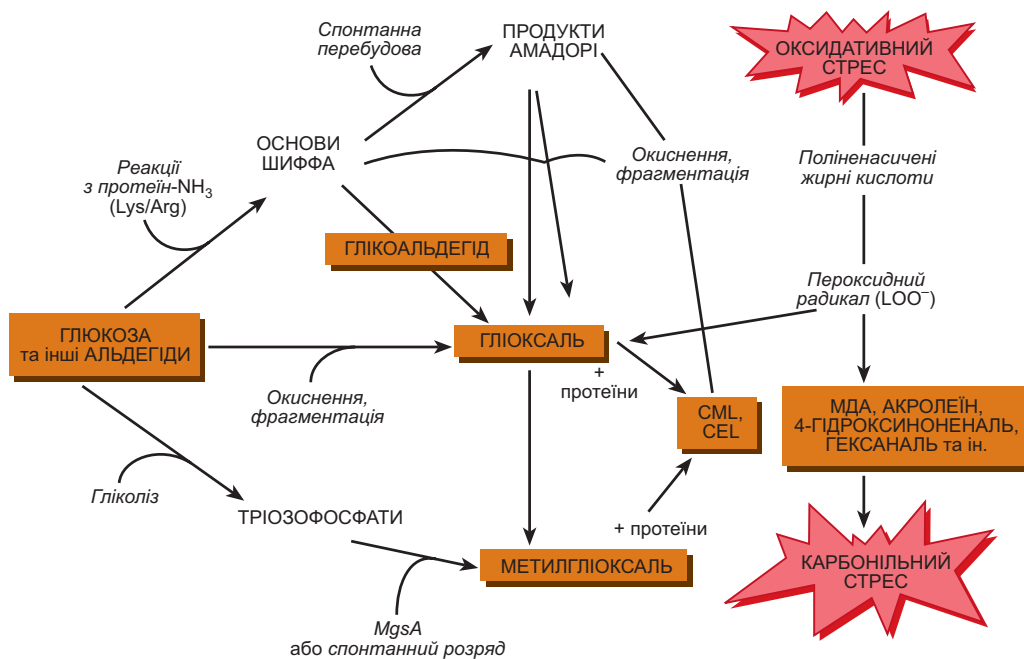
Розвиток карбонільного стресу як результат гіперпродукції альдегідів є наслідком, головним чином, двох процесів: перекисного окиснення ліпідів і неферментативного глікозилювання протеїнів. Ми припускаємо, що пул ендogenous альдегідів може суттєво впливати на кінцеві показники оксидативного стресу. Мета даної роботи: з'ясувати роль альдегідів у формуванні таких показників оксидативного стресу як вміст СО-груп протеїнів, ТБК-позитивних продуктів, відновлених SH-груп низькомолекулярних сполук, карбоксиметиллізину в експериментальних моделях карбонільного стресу: гліцерол-стимульований рабдоміоліз (модель оксидативного стресу) та стрептозотоцин-індукований діабет (модель моносахаридного стресу) у щурів. Для зв'язування альдегідів в умовах *in vivo* був використаний акцептор альдегідів – димедон. На обох моделях було показано зростання загального вмісту альдегідів у печінці в 3 рази при гліцерол-стимульованому рабдоміолізі та у 2,7 разу при стрептозотоцин-індукованому діабеті порівняно з контролем. Введення щурам димедону (10 мл/кг маси тіла) призвело до зменшення вмісту альдегідів у печінці в 4,7 разу при гліцерол-стимульованому рабдоміолізі й у 3 рази при стрептозотоцин-індукованому діабеті. У цьому разі показники оксидативного стресу змінилися у бік нормалізації: вміст протеїнових СО-груп зменшився у плазмі крові обох груп тварин на 38 і 58 %, відповідно, в печінці приблизно на 50 і 40 %; вміст ТБК-позитивних продуктів у печінці знизився на 62 та 80 % у відповідних груп щурів. Крім цього, у разі стрептозотоцин-індукованого діабету спостерігалось зменшення вмісту карбоксиметиллізину в плазмі на 38 % та підвищення концентрації відновлених SH-груп у печінці на 70 %.

Отже, експериментально доведено, що вміст ендogenous альдегідів впливає на показники оксидативного стресу в щурів зі гліцерол-індукованим рабдоміолізом і стрептозотоциновим діабетом, а введення акцептора альдегідів димедону сприяє зниженню пулу цих карбонільних сполук в організмі модельних тварин. Тому препарати – акцептори альдегідів, є перспективними як складові комплексних програм лікування патологій, які супроводжуються оксидативним стресом та/або гіперглікемією.

**Ключові слова:** оксидативний стрес, альдегіди, рабдоміоліз, діабет, димедон.

## ВСТУП

Існують два основні шляхи гіперпродукції ендogenous альдегідів – розвитку карбонільного стресу: подальша трансформація ліпідних радикалів, які утворюються при перекисному окисненні ліпідів (оксидативний стрес) і модифікації комплексів глюкози з протеїнами (глікозилювання) [20]. Як результат, посилюється утворення широкого спектра альдегідів: насичені (етаналь, пропаналь), ненасичені (акролеїн [26], 4-гідроксиналеналь [23]) та дикарбоніли (глюксаль [25], метилглюксаль [9]). Спрощена схема цих процесів наведена на рис.1. Завдяки своїм редуруючим властивостям ці сполуки здатні алкілувати  $\text{NH}_2$ -групи амінокислот і азотисті основи нуклеїнових кислот, взаємодіяти з протеїнами і пептидами з утворенням стабільних інтермедіатів, таких як основи Шиффа чи N-гідроксиметильні адукти. Крім того, вони можуть утворювати метиленові містки між зближеними ділянками протеїнів [18] і, як результат, формуються кінцеві продукти глікозилювання та пероксидації. Ці реакції призводять до порушення функціонування протеїнів і нуклеїнових кислот [7, 21, 28], що може бути одним із чинників розвитку таких захворювань як хвороби Альцгеймера, Паркінсона, ускладнення діабету тощо.



**Рис. 1.** Шляхи утворення альдегідів при глікозилюванні та перекисному окисненні ліпідів.

CML – карбоксиметиллізин; CEL – карбоксіетиллізин; МДА – малоновий діальдегід; MgsA – метилглюксаль синтаза

**Fig. 1.** The ways of aldehydes formation under glycosylation and lipid peroxidation.

CML – carboxymethyl lysine; CEL – carboxyethyl lysine; МДА – malonicialdehyde; MgsA – methylglyoxal synthase

У деяких експериментах *in vitro* досліджено здатність альдегідів викликати оксидативний стрес [17]. Так, наприклад, авторами Li, Jiang et al. на клітинній лінії НерG2 показано, що у разі введення акролеїну зростає рівень активованих форм кисню та продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також знижується рівень відновленого глутатіону [16]. Ці результати безпосередньо не відображають перебіг відповідних процесів в умовах *in vivo*, але свідчать про актуальність таких досліджень.

У роботі було використано дві експериментальні моделі карбонільного стресу: гліцерин-стимульований рабдоміоліз (РМ), який є моделлю оксидативного стресу [3], та стрептозотоцин-індукований діабет (СТЦД) – модель моносахаридного стресу в щурів.

РМ – патологічний стан, спричинений пошкодженням м'язів, який характеризується вивільненням вмісту м'язових клітин (електроліти, міоглобін та інші саркоплазматичні протеїни) у кров'яне русло. За рахунок катаболізму ферумвмісних протеїнів відбувається розвиток оксидативних процесів. Застосування хелаторів феруму призводить до послаблення наслідків РМ [4].

СТЦД характеризується хронічною гіперглікемією, яка призводить до метаболічних порушень і посилення оксидативного стресу [27, 22].

Метою даної роботи було з'ясувати вплив концентрації ендогенних альдегідів на показники оксидативного стресу в двох експериментальних моделях карбонільного стресу у щурів: РМ та СТЦД.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Гліцерол-стимульований рабдоміоліз.** Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar вагою 180–220 г. Було сформовано вісім груп по шість тварин у кожній: гр. 1 – інтактні тварини, тваринам інших груп (гр. 2–7) вводили в обидва стегнові м'язи 50%-ний водний розчин гліцеролу (10 мл/кг). Тварини гр. 7 додатково отримували перорально 0,5%-ний водний розчин димедону (50 мг/кг маси тіла тварини) один раз на добу протягом трьох діб. Тварини гр. 8 отримували 0,5%-ний водний розчин димедону (50 мг/кг маси тіла тварини) один раз на добу протягом трьох діб. Тварин виводили з експерименту декапітацією під ефірним наркозом через один день (гр. 2), три дні (гр. 3), чотири дні (гр. 6–7), шість днів (гр. 4), десять днів (гр. 5) після введення гліцеролу. Для досліджень відбирали зразки крові та тканини печінки.

**Стрептозотоцин-індукований діабет.** Моделювання діабету I типу проводили згідно з описаною методикою [29] на щурах лінії Wistar. Експериментальним тваринам тричі з інтервалом у сім діб інтраперитоніально вводили 1 мл неповного ад'юванта Фрейнда, а через 24 год так само вводили стрептозотоцин (25 мг/кг) в 0,5 мл цитратного буферу (рН 4,5). Кожне введення проводили після 12 год голодування. Через один тиждень після останнього введення стрептозотоцину в зразках крові з хвостової вени за допомогою глюкометра "Глюкофот-Плюс" визначили рівень глюкози. За результатами тесту цих тварин розділили на дві дослідні групи по десять тварин у кожній: гр. 2Д – (11,4±1,1) ммоль/л; гр. 3Д – (10,9±1,7) ммоль/л, у яких було зафіксовано розвиток предіабетичного стану. Для контрольної групи 1Д цей показник становив (6,3±0,9) ммоль/л.

Через десять днів після третього введення стрептозотоцину тваринам гр. ЗД і 4Д перорально вводили 0,5%-ний розчин димедону щоденно протягом 21 дня до кінця експерименту. Через 1,5 місяця від початку досліджу тварин вивели з експерименту декапітацією під ефірним наркозом. Для досліджень відбирали зразки крові та тканини печінки.

На обох моделях печінку відбирали на холоді та перфузували охолодженим розчином 0,15 М КСІ. Гомогенати печінки шурів отримували в *трис*-НСІ буфері (рН 7,4), який містив 0,25 М сахарозу. Кров відбирали у пластикові пробірки з гепарином і методом центрифугування (3 000 об/хв, 10 хв) отримували плазму.

На моделі РМ у тканині печінки визначали активність гемоксигенази (ГО) за накопиченням білірубину [14], в плазмі – вміст вільного гему піридингемохромним методом, активність креатинкінази – набором “Audit Diagnostics” (Ireland). Вміст білірубину, креатиніну, сечової кислоти, сечовини, загального феруму, зв’язаного феруму, ферумзв’язувальну здатність і % зв’язування феруму визначали в плазмі крові з використанням наборів “Філісіт-діагностика” (Україна). Рівень лужної фосфатази визначали з використанням набору “Реагент” (Україна), аланінамінотрансферази (АЛС) і аспартатамінотрансферази (АСТ) – набором “BIO-LA-TEST” (Чехія).

Рівень лабільного феруму плазми визначали спектрофотометричним методом із власною модифікацією, використавши набір фірми “Філісіт-Діагностика” для визначення феруму. У наборі реактивів замінили гліцин/НСІ (0,2 М) буфер на фосфатний, рН 7,4 (0,1 М), оскільки в кислому середовищі гліцин/НСІ буферу ферум вивільнюється із ферумзв’язувальних протеїнів (трансферину). За фізіологічного рН трансферин (ТР) захищає включений у нього ферум від хімічної взаємодії. У разі проведення реакції при рН 7,4 доступним до хімічної взаємодії є лабільний ферум, що складається з  $Fe^{+2}$ , який потрапляє у кров із шлунково-кишкового тракту і в подальшому включається до трансферину, та  $Fe^{+3}$ , який може з’являтися при катаболізмі металопротеїнів і “випадає” з фізіологічної схеми обміну [4].

На моделі СТЦД з використанням комерційного набору ELISA визначали вміст N(6)-карбоксиметиллізину (CML) (Shanghai BlueGene Biotech CO., LTD, China). Рівень відновлених SH-груп низькомолекулярних сполук визначали флуориметричним методом з використанням о-фталевого альдегіду методом М. Л. Ну [12].

На обох моделях з використанням комерційного набору ELISA (“Sigma”) визначали протеїнові карбонільні групи (СО-групи) [6]. Вміст протеїну оцінювали методом М.М. Bradford [8]. Концентрацію альдегідів визначали з використанням реактиву Purpald (Sigma, США) [15]. Для побудови калібрувальної кривої використовували стандартні розчини формальдегіду, які готували безпосередньо перед вимірюванням. Вміст продуктів ПОЛ у печінці проводили реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивні продукти) [13].

Статистичну вірогідність результатів оцінювали у програмі “Microsoft Excel 2007” з використанням *t*-критерію Стьюдента. Різницю між середніми значеннями показників, що порівнювалися, вважали вірогідною при  $p < 0,05$ .

Усі втручання та декапітацію тварин проводили з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) та згідно з „Науково-методичними рекомендаціями з утримання лабораторних тварин” [1].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Після внутрішньом'язового введення щурам розчину гліцеролу спостерігали зміни біохімічних показників, що характеризували розвиток РМ (детально описаний у попередніх роботах [4, 5]). Було показано, що вже на першу добу після введення гліцеролу загальний вміст вільного гему в плазмі збільшився в 10 разів. Це можливо завдяки вивільненню гемопротеїнів, таких як міоглобін, з пошкоджених м'язових клітин. У період із третьої до десятої доби цей показник зменшувався впродовж експерименту, але залишався на підвищеному рівні та на десяту добу був утричі вищим, порівняно з контролем. Стрімке зростання активності креатинкінази є характерною ознакою руйнування м'язових клітин. На перший день цей показник був більш як у 10 разів вищим, ніж у контролі, та поступово зменшувався, так само як і вміст гему. Коефіцієнт кореляції Пірсона (MS Excel 2007) між змінами цих двох параметрів становив 0,99, що свідчить про руйнування м'язів і вивільнення внутрішньоклітинних компонентів у кров'яне русло. Одним із механізмів захисту організму від токсичних ефектів гему є його утилізація в гемоксигеназній (ГО) реакції. На першу–третю добу після введення гліцеролу рівень ГО активності в тканині печінки був у 5–6 разів вищим за контроль. Як результат ГО активності гемова група перетворюється в білірубін, що спричиняє швидке підвищення вмісту останнього у крові. На першу–третю добу експерименту рівень білірубину в плазмі дослідних тварин був у 7 разів вищим, ніж у контролі. Поступово цей показник зменшувався та на 10-ту добу був у 4 рази вищим, ніж у контрольній групі. Динаміка вмісту таких метаболітів як креатинін, сечовина і сечова кислота у плазмі свідчить про порушення екскреторної функції нирок, що є одним із наслідків РМ [3].

Було проведено детальний аналіз параметрів, які характеризують вміст різних форм феруму в крові. Вже на першу добу після введення тваринам гліцеролу кількість лабільного (не включеного до ТР) феруму майже удвічі перевищує вміст феруму в ТР крові контрольних тварин. Рівень лабільного феруму зберігається на такому високому рівні до шостої доби, поповнюючись продуктами ГО активності й каталізуючи окисні процеси в організмі. Отже, зміна вищенаведених показників доводить факт розвитку РМ у разі введення тваринам гліцерину [5].

Під час розвитку РМ відбувається посилення окисних процесів. Результатом взаємодії вільних радикалів і альдегідів з амінокислотними залишками протеїнів є утворення протеїнових СО-груп, збільшення вмісту яких характеризує розвиток оксидативного стресу. Наведені в табл. 1 результати свідчать, що на четверту добу вміст протеїнових СО-груп підвищився у 3,5 разу в плазмі крові та в 2,8 разу в тканині печінки. Продукти переокисного окислення ліпідів, що реагують з ТБК, у тканині печінки зросли на 60 %. Можна припустити, що одним із основних ініціаторів вільнорадикальних процесів на цій моделі є накопичення лабільного феруму в крові, яке в реакціях Фентона призводить до генерації активних окисних радикалів. Унаслідок розвитку оксидативного стресу відбувається формування карбонільного стресу. Так, на четверту добу в зразках печінки реєстрували підвищення загального вмісту альдегідів у 2,9 разу порівняно з контролем.

На моделі СТЦД карбонільний стрес розвивається, в основному, як наслідок моносахаридного стресу. Загальний вміст альдегідів у печінці підвищився у 2,4 разу

порівняно з контролем. Найбільшу частку в загальному пулі альдегідів має формальдегід (ФА), але його концентрація в організмі змінюється несуттєво внаслідок великої ємності однокарбонового обміну. Наприклад, існують експериментальні дані про те, що при інгаляційній експозиції тварин (щурів, мавп) у збагаченому ФА (14,4 ppm) газовому середовищі протягом 2-х год концентрації ФА у зразках крові та тканині органів не відрізнялися від цього показника в контрольній групі [10]. Аналогічні результати отримані в дослідженнях із добровольцями, які протягом 40 хв вдихали повітря з 1,8 ppm ФА [11]. Виходячи з цих даних, можна припустити, що основний внесок у збільшення загального вмісту альдегідів припадає на інші альдегіди, такі як гліюксаль, метилгліюксаль, акролеїн. Інтенсифікація карбонільного стресу призводить до накопичення кінцевих продуктів постсинтетичної модифікації протеїнів. CML є кінцевим продуктом глікозилювання, який характеризує рівень інтенсивності формування посттрансляційних модифікацій протеїнів як основний наслідок посилення карбонільного стресу. В цьому досліді було показано, що вміст CML-адуктів збільшився в плазмі крові у 2,5 разу порівняно з контролем, як свідчать результати, наведені в табл. 2. Водночас, спостерігається зростання показників оксидативного стресу. Вміст протеїнових СО-груп у плазмі крові збільшився в 4,5 разу, в тканині печінки – в 4 рази, що пояснюється рівномірним розподілом альдегідів як джерела СО-груп, в організмі. Вміст ТБК-позитивних продуктів у печінці підвищився удвічі порівняно з контролем. Зареєстровано зниження рівня низькомолекулярних відновлених SH-метаболітів (цистеїн, глутатіон, тіосульфат та ін.) на 52 %.

Таблиця 1. Біохімічні показники плазми щурів після введення димедону (0,5% водний розчин) (n=6)

Table 1. Rat's plasma biochemical parameters after dimedone injection (0.5% water solution) (n=6)

| Показники                               | Група 1 контроль | Тривалість введення димедону |                  |
|---|------------------|------------------------------|------------------|
|   |                  | Група 8 3 доби               | Група 4Д 21 доба |
| Сечовина, ммоль/л                       | 2,7±0,7          | 2,2±0,5                      | 1,3±0,3          |
| Сечова кислота, мМ                      | 0,23±0,02        | 0,14±0,02                    | 0,07±0,01        |
| Креатинін, мкмоль/л                     | 88±7             | 115±13                       | 96±10            |
| Холестерин, ммоль/л                     | 4,1±0,3          | 3,5±0,9                      | 3,7±1            |
| Лужна фосфатаза, (од/л)×10 <sup>3</sup> | 1,2±0,2          | 0,9±0,1                      | 0,86±0,2*        |
| АЛТ мккат/л                             | 0,23±0,06        | 0,27±0,06                    | 0,13±0,02*       |
| АСТ мккат/л                             | 0,72±0,04        | 0,84±0,1                     | 0,52±0,1*        |

Примітка: \* – вірогідні зміни щодо групи 1 – контроль (p(t)<0,05).

Comment: \* – significant changes relative to group 1 – control (p(t)<0.05).

Для дослідження участі альдегідів у формуванні показників оксидативного стресу був використаний акцептор альдегідів – димедон (5,5-диметил-1,3-цикло-

гександіон,  $C_8H_{12}O_2$ ). Ця сполука є важливим реагентом для специфічної ідентифікації та розділення альдегідів і кетонів, оскільки взаємодіє лише з альдегідами (з утворенням стабільних комплексів) та не реагує з кетонами (рис. 2). Реакція між димедоном і альдегідом є стехіометричною, це проста конденсація однієї молекули альдегіду і двох молекул димедону з елімінацією однієї молекули води [24].

Таблиця 2. Показники оксидативного стресу щурів на 4-ту добу після введення гліцеролу (n=6)

Table 2. Rat's oxidative stress parameters at day 4 after glycerol injection (n=6)

| Показники                                    |         | Група 1<br>контроль | Група 6<br>рабдоміоліз | Група 7<br>рабдоміоліз+<br>димедон | Група 8<br>димедон |
|--|---------|---------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------|
| СО-групи протеїнів,<br>нмоль/мг протеїну     | Плазма  | 1,0±0,1             | 3,4±0,8*               | 2,1±0,4**                          | 0,76±0,03          |
| ТВК-позитивні продукти,<br>нмоль/мг протеїну | Печінка | 2,5±0,3             | 4,0±0,4*               | 1,5±0,4**                          | 0,4±0,1            |
| СО-групи протеїнів,<br>нмоль/мг протеїну     |         | 1,3±0,2             | 4,0±1,0*               | 2,0±0,5**                          | 1,6±0,2            |
| Вміст альдегідів,<br>мкмоль/г тканини        |         | 0,13±0,02           | 0,4±0,1*               | 0,08±0,01**                        | 0,10±0,1           |

Примітки: \* – вірогідні зміни щодо групи 1 – контроль ( $p(t)<0,05$ ); \*\* – вірогідні зміни щодо групи 6 – рабдоміоліз ( $p(t)<0,05$ ).

Comments: \* – significant changes relative to group 1 – control ( $p(t)<0.05$ ); \*\* – significant changes relative to group 6 – rhabdomyolysis ( $p(t)<0.05$ ).

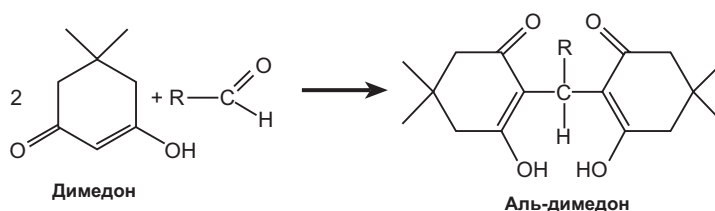


Рис. 2. Схема комплексоутворення димедону з альдегідами [2]

Fig. 2. The scheme of complex formation of dimedone with aldehydes [2]

Димедон не взаємодіє ні з лабільним залізом, ні з глюкозою. Тому його застосування на обох експериментальних моделях дало змогу виокремити роль саме альдегідів. Крім того, димедон є нетоксичним для тварин. Відомо, що гостра оральна токсичність для тварин (щурів) ( $LD_{50}$ ) становить  $>500$  мг/кг маси тварини [19], накопичення цієї сполуки в організмі не відбувається. Було визначено ряд показників – сечовина, сечова кислота, креатинін, холестерин, рівень лужної фосфатази, АЛТ і АСТ, що характеризують токсичність димедону, і показано, що використана нами доза димедону є нетоксичною для щурів. Отримані результати наведено в табл. 1.

Отже, застосування димедону на моделі РМ сприяло зменшенню загального вмісту альдегідів у печінці на 78 %. Усунення участі альдегідів у розвитку патологічного процесу привело до зниження показників оксидативного стресу: на четверту добу вміст протеїнових СО-груп у плазмі крові зменшився на 38 %, у печінці – на 50 %, вміст ТБК-позитивних продуктів у тканині печінки – на 62 % (див. табл. 2).

На моделі СТЦД у разі застосування димедону спостерігалось зниження загального вмісту альдегідів у печінці на 35 %. Таке гальмування карбонільного стресу привело до послаблення постсинтетичних модифікацій протеїнів: вміст СМЛ у сироватці крові знизився на 38 %. Унаслідок цього показники оксидативного стресу також зазнали змін: вміст протеїнових СО-груп у плазмі крові знизився на 58 %, у тканині печінки – на 40 %, вміст ТБК-позитивних продуктів зменшився на 80 %, рівень SH-груп у структурі низькомолекулярних сполук у печінці збільшився на 70 % (табл. 3). Зміни останнього показника можуть також свідчити про безпосередню участь ендогенних альдегідів у регулюванні пулу тіоловмісних сполук.

Таблиця 3. Показники оксидативного стресу в плазмі крові та печінці щурів на моделі стрептозоточин-індукованого діабету (n=6)

Table 3. Oxidative stress parameters in rat's plasma and liver under streptozotocin-induced diabetes (n=6)

| Показники                                    |         | Група 1Д<br>контроль | Група 2Д<br>діабет | Група 3Д<br>діабет+<br>димедон | Група 4Д<br>димедон |
|--|---------|----------------------|--------------------|--------------------------------|---------------------|
| СО-групи протеїнів,<br>нмоль/мг протеїну     | Плазма  | 0,8±0,1              | 4±1*               | 1,7±0,4**                      | 0,90±0,03           |
| СМЛ, мг/л                                    |         | 0,33±0,02            | 0,8±0,1            | 0,5±0,1                        | не визначали        |
| ТБК-позитивні продукти,<br>нмоль/мг протеїну | Печінка | 2,1±0,1              | 3,5±0,2*           | 0,7±0,1**                      | 0,9±0,2             |
| СО-групи протеїнів,<br>нмоль/мг протеїну     |         | 1,1±0,2              | 4,3±0,9*           | 2,5±0,5**                      | 1,4±0,2             |
| Вміст альдегідів,<br>мкмоль/г тканини        |         | 0,11±0,02            | 0,3±0,1*           | 0,09±0,02**                    | 0,10±0,03           |
| Рівень SH-груп,<br>мкмоль/г тканини          |         | 8±1                  | 4,1±0,6*           | 7±1**                          | 10±2                |

**Примітки:** \* – вірогідні зміни щодо групи 1Д – контроль ( $p(t)<0,05$ ); \*\* – вірогідні зміни щодо групи 2Д – діабет ( $p(t)<0,05$ ).

**Comments:** \* – significant changes relative to group 1D – control ( $p(t)<0.05$ ); \*\* – significant changes relative to group 2D – diabetes ( $p(t)<0.05$ ).

## ВИСНОВКИ

На моделі РМ було показано, що зі збільшенням вмісту вільного гему в плазмі крові та гемоксигеназної активності в печінці відбувається значне зростання концентрації лабільного, не включеного до трансферину, феруму (III) в плазмі крові, що може бути одним із основних факторів розвитку оксидативного стресу.



За умов як РМ, так і СТЦД про розвиток карбонільного стресу свідчить суттєве збільшення загального вмісту альдегідів. Застосування *in vivo* димедону призводить до зменшення цього показника і нормалізації показників оксидативного стресу на обох експериментальних моделях. Отже, ендogenous альдегіди, концентрація яких суттєво посилюється за оксидативного стресу та гіперглікемії, безпосередньо залучені у формування досліджуваних показників оксидативного стресу. Тому препарати-акцептори альдегідів можуть бути перспективними для розробки комплексних програм лікування захворювань, у патогенезі яких оксидативний стрес та/або гіперглікемія відіграють ключову роль.

1. *Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин.* Київ: Авіцена, 2002. 156 с.
2. *Нейланд О. Я. Органическая химия: учеб. для хим. вузов.* Москва: Высшая школа, 1990. 750 с.
3. *Токарчук К.О., Капустяненко Л.Г., Шандренко С.Г.* Роль альдегідів в розвитку оксидативного стресу при рабдоміолізі у щурів. **Фізіол. журнал**, 2013; 59 (1): 25–30.
4. *Чумаченко І.М., Капустяненко Л.Г., Шандренко С.Г.* Вплив лабільного феруму крові на розвиток нітрозативного стресу за умов експериментального рабдоміолізу у щурів. **Біологічні Студії**, 2012; 6(3): 105–114.
5. *Шандренко С.Г.* Утворення пулу лабільного заліза в крові при рабдоміолізі у щурів. **Укр. біохім. журнал**, 2012; 84(6): 124–130.
6. *Alamdari D.H., Kostidou E., Paletas K. et al.* High sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for measuring protein carbonyl in samples with low amounts of protein. **Free Rad. Biol. Med**, 2005; 39: 1362–1367.
7. *Andersen M.E., Clewell H.J., Bermudez E. et al.* Formaldehyde: integrating dosimetry, cytotoxicity, and genomics to understand dose-dependent transitions for an endogenous compound. **Toxicol. Sci**, 2010; 118(2): 716–731.
8. *Bradford M. M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**, 1976; 72: 248–254.
9. *Desai M.K., Chang T., Wang H. et al.* Oxidative stress and aging: Is methylglyoxal the hidden enemy? **Can. J. Physiol. Pharmacol**, 2010; 88(3): 273–284.
10. *Heck H., Casanova M.* The implausibility of leukemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on distant-site toxicity. **Regul. Toxicol. Pharmacol**, 2004; 40(2): 92–106.
11. *Heck H., Casanova M., Dodd P. et al.* Formaldehyde (CH<sub>2</sub>O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH<sub>2</sub>O under controlled conditions. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J**, 1985; 46(1): 1–3.
12. *Hu M.L.* Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. **Methods Enzymol**, 1994; 233: 380–385.
13. *Janero D.R.* Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biol. Med**, 1990; 9(6): 515–540.
14. *Lam C.F., Croatt A.J., Richardson D.M. et al.* Heart failure increases protein expression and enzymatic activity of heme oxygenase-1 in lung. **Cardiovasc. Res**, 2005; 65: 203–210.
15. *Lee C.H., Tsai C.M.* Quantification of bacterial lipopolysaccharides by the purpald assay: Measuring formaldehyde generated from 2-keto-3-deoxyoctonate and heptose at the inner core by periodate oxidation. **Anal. Biochem**, 1999; 267: 161–168.
16. *Li L., Jiang L., Geng C. et al.* The role of oxidative stress in acrolein-induced DNA damage in HepG2 cells. **Free Radical Res**, 2008; 42: 354–361.

17. Luo J., Robinson J. P., Shi R. Acrolein-induced cell death in PC12 cells: role of mitochondria-mediated oxidative stress. **Neurochem. Int.**, 2005; 47: 449–457.
18. Metz B., Kersten G.F., Hoogerhout P. et al. Identification of formaldehyde-induced modifications in proteins: reactions with model peptides. **J. Biol. Chem.**, 2004; 279(8): 6235–6243.
19. National Academy of Sciences, National Research Council, Chemical-Biological Coordination Center, **Review**, 1953; 5: 28.
20. Negre-Salvayre A., Coatrieux C., Ingueneau C., Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. **Br. J. Pharmacol.**, 2008; 153(1): 6–20.
21. Petersen R.D., Doorn J.A. Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. **Free Radical Biol. Med.**, 2004; 37(7): 937–945.
22. Rebolledo O.R., Actis Dato S.M. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, 2005; 9: 191–208.
23. Schneider C., Porter N.A., Brash A.R. Routes to 4-hydroxynonenal: Fundamental Issues in the Mechanisms of Lipid Peroxidation. **J. Biol. Chem.**, 2008; 283(23): 15539–15543.
24. Spencer D., Henshall T. The kinetics and mechanism of the reaction of formaldehyde with dimedone. Part I. **J. Am. Chem. Soc.**, 1955; 77(7): 1943–1948.
25. Thornalley J.P. Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems – role in ageing and disease. **Drug. Metabol. Drug. Interact.**, 2008; 23(1–2): 125–150.
26. Uchida K., Kanematsu M., Morimitsu Y. et al. Acrolein is a product of lipid peroxidation reaction. Formation of free acrolein and its conjugate with lysine residues in oxidized low density lipoproteins. **J. Biol. Chem.**, 1998; 273(23): 16058–16066.
27. Vincent A.M., Russell J.W., Low P., Feldman E.L. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. **Endocr. Rev.**, 2004; 25(4): 612–628.
28. Zhu Q., Sun Z., Jiang Y. Acrolein scavengers: reactivity, mechanism and impact on health. **Mol. Nutr. Food Res.**, 2011; 55(9): 1375–1390.
29. Пат. 2400822 RU, МПК G 09 B23/28. **Способ моделирования сахарного диабета I типа у крыс.** Закирьянов А.Р., Великий Д.А., Онищенко Н.А., Клименко Е.Д., Поздняков О.М. Опубл. 27.09.2010, Бюл. № 1.

---

## PARTICIPATION OF ALDEHYDES IN OXIDATIVE STRESS PARAMETERS DEVELOPMENT UNDER RHABDOMYOLYSIS AND STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES RAT'S MODELS

**K. O. Tokarchuk, I. P. Krysyuk, L. G. Kapustianenko, S. G. Shandrenko**

*Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine  
9, Leontovych St., Kyiv 01601, Ukraine  
e-mail: kate\_tokarchuk@ukr.net*

Hyperproduction of aldehydes – carbonyl stress, is resulted from lipid peroxidation and/or glycosylation. We suggest that endogenous aldehydes can affect some oxidative stress parameters development. The aim of this research is to distinguish the role of aldehydes in oxidative stress parameters development under rat's experimental models of carbonyl stress: glycerol-stimulated rhabdomyolysis (RM, model of oxidative stress) and streptozotocin-induced diabetes (STZD, model of monosaccharide stress). To separate the influence of aldehydes an acceptor of aldehydes – dimedone was applied. It has been revealed the increasing of total aldehydes content in plasma in 2.9

times under RM and in 2.7 times under STZD. Oral administration of dimedone (10 ml/kg) resulted in the aldehydes content decreasing in 4.7 times for RM and in 3 times for STZD. It was also observed that oxidative stress parameters changed toward normalization: protein's CO-groups content in plasma and liver was reduced on 38 and 50 % respectively, TBA-reactive products in liver on 62 % under RM. On STZD model carbonyl protein's groups was decreased in plasma and liver on 58 and 42 % respectively, TBA-reactive products in liver – on 80 %. Furthermore, the decreasing of carboxymethyl lysine in plasma on 38 % and the increasing of reduced low weight SH-groups in liver on 70 % were observed. Thus, it has been experimentally proved, that endogenous aldehydes take part in some oxidative stress parameters development. Therefore, acceptors of aldehydes are promising as components of complex treatment programs for pathologies with oxidative stress and / or hyperglycemia.

**Keywords:** oxidative stress, aldehydes, rhabdomyolysis, diabetes, dimedone.

### УЧАСТИЕ АЛЬДЕГИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА МОДЕЛЯХ РАБДОМИОЛИЗА И СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС

**К. А. Токарчук, И. П. Крисюк, Л. Г. Капустяненко, С. Г. Шандренко**

*Институт биохимии им. О.В. Палладина НАН Украины  
ул. Леонтовича, 9, Киев 01601, Украина  
e-mail: kate\_tokarchuk@ukr.net*

Развитие карбонильного стресса как результат гиперпродукции альдегидов – это следствие, главным образом, двух процессов: перекисного окисления липидов и неферментативного гликозилирования протеинов. Мы предполагаем, что эндогенные альдегиды могут существенно влиять на формирование ряда конечных показателей оксидативного стресса. Цель работы: выделить участие альдегидов в формировании таких показателей оксидативного стресса как содержание СО-групп протеинов, ТБК-реагирующих продуктов, восстановленных низкомолекулярных SH-групп, карбоксиметиллизина на экспериментальных моделях карбонильного стресса у крыс: глицерол-стимулированный рабдомиолиз (РМ, модель оксидативного стресса) и стрептозотоцин-индуцированный диабет (СТЦД, модель моносахаридного стресса). Для выделения роли альдегидов использовали акцептор альдегидов – димедон в условиях *in vivo*. На обеих моделях показано увеличение общего содержания альдегидов в печени в 3 раза при РМ и в 2,7 раза при СТЦД по сравнению с контролем. Введение крысам димедона (10 мл/кг массы тела) привело к уменьшению содержания альдегидов в печени в 4,7 раза при РМ и в 3 раза при СТЦД. При этом показатели оксидативного стресса нормализовались: содержание протеиновых СО-групп уменьшилось в плазме на 38 и 53 %, в печени приблизительно на 50 и на 40 %, содержание ТБК-реагирующих продуктов в печени – на 62 и 80 % соответственно. Кроме этого, при СТЦД наблюдалось уменьшение содержания карбоксиметиллизина в плазме на 38 % и увеличение концентрации восстановленных SH-групп в печени на 70 %.

Таким образом, экспериментально доказано, что эндогенные альдегиды принимают участие в формировании исследуемых показателей оксидативного стресса. Поэтому препараты – акцепторы альдегидов, являются перспективными составляющими комплексных программ лечения патологий, которые связаны с развитием оксидативного стресса и/или гипергликемии.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, альдегиды, рабдомиолиз, диабет, димедон.

Одержано: 08.10.2013