

СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ТА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ЦИКЛУ КРЕБСА У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ, СЕРЦЯ І НИРОК ЗА ДІЇ РІЗНИХ КУМУЛЯТИВНИХ ДОЗ ДОКСОРУБІЦИНУ

В. О. Дзюба¹, О. Б. Кучменко^{1,2}, О. В. Яковійчук¹
dziuba-v-v@yandex.ua

¹Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького, вул. Гетьманська, 20, м. Мелітополь, 72312, Україна

²Національний університет «Києво-Могилянська Академія», вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04070, Україна

Доксорубіцин — потужний антрацикліновий антибіотик, який широко використовується для лікування різноманітних злоякісних новоутворень у людей. Однак при довготривалому застосуванні доксорубіцину препарат може спричинювати розвиток кардіо-, гепато- та нефротоксичності, що обмежує його клінічне застосування. Особливо небезпечним проявом цитотоксичності доксорубіцину є імовірність розвитку незворотних хронічних побічних ефектів.

У дослідженні використано 30 самців щурів із середньою масою тіла 240 г. Піддослідних тварин розділили на 3 групи (контроль, 3 тижні та 5 тижнів прийому доксорубіцину). Біохімічні показники антиоксидантної та енергетичної систем визначались у тканинах серця, печінки та нирок. Використання доксорубіцину призвело до зростання кількості ТБК-активних продуктів у всіх досліджуваних тканинах, що вказує на прооксидантні властивості препарату. Окрім того, доксорубіцин може безпосередньо впливати на активність антиоксидантних ензимів. У нашому дослідженні доксорубіцин викликав зростання активності антиоксидантних ензимів у тканинах серця та печінки, однак призводив до зниження їхньої активності у нирках. У результаті застосування доксорубіцину активність ензимів циклу лимонної кислоти в тканинах печінки зростала, а в нирках, навпаки, знижувалась. Що стосується серця, то в ньому активність ензимів циклу Кребса збільшувалась тільки протягом перших трьох тижнів терапії, а потім починала знижуватись. У результаті прийому доксорубіцину активність аспаратамінотрансферази у тканинах щурів змінювалася таким же чином, як і активність дегідрогеназ циклу Кребса.

Встановлено, що підвищення активностей сукцинатдегідрогенази та альфа-кетоглутатдегідрогенази може виступати як компенсаторна реакція на виникнення функціональних дефектів в енергетичному обміні. Оцінка комплексного впливу доксорубіцину на внутрішньоклітинні процеси допоможе у розробленні нових систем захисту організму від його цитотоксичності, однак робота у такому напрямі потребує більш детальних досліджень.

Ключові слова: АСПАРТАТАМІТОТРАНСФЕРАЗА, ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ, ТБК-АКТИВНІ ПРОДУКТИ, КАТАЛАЗА, СУПЕРОКСИДДІСМУТАЗА, ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ, АНТРАЦИКЛІН

STATUS OF PROOXIDATIVE-ANTIOXIDATIVE BALANCE AND ACTIVITY OF KREBS CYCLE ENZYMES IN LIVER, HEART AND KIDNEY TISSUES FOR ACTION OF VARIOUS CUMULATIVE DOSES OF DOXORUBICIN

V. O. Dziuba¹, O. B. Kuchmenko^{1,2}, O. V. Yakoviichuk¹
dziuba-v-v@yandex.ua

¹Melitopol State Pedagogical University named after Bogdan Khmelnytsky, 20 Hetmanska str., Melitopol 72312, Ukraine

²National University "Kyiv-Mohyla Academy", 2 Hryhoriya Skovorody str., Kyiv 04070, Ukraine

Doxorubicin is a powerful anthracycline antibiotic used to treat many human neoplasms. Doxorubicin may also cause cardiotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity when used for a prolonged period of time, thereby limiting its clinical use. The cytotoxic effect of doxorubicin is very dangerous, since it can lead to the development of irreversible chronic side effects.

30 male rats with an average body weight of 240 g were used in this study. Animals were randomly assigned to one of three groups (control, 3 weeks of therapy, or 5 weeks of therapy). Heart, liver and kidney tissues were used to study the biochemical markers of antioxidant and energy systems. The use of doxorubicin led to a growing number of TBA-active products in all experimental tissues, indicating the pro-oxidant properties of drug. Moreover, doxorubicin can directly affect the activity of antioxidant enzymes. In our study, it was found that doxorubicin caused an increase the activity of antioxidant enzymes in the tissues of heart and liver, and decreased it in kidneys. The activity of citric acid cycle enzymes increased in the liver and decreased in the kidneys after doxorubicin therapy. Activity of the enzymes of Krebs cycle in heart increased only for 3 first weeks of therapy and after that began to decrease. After treatment with doxorubicin, the activity of aspartate aminotransferase in rat tissues varied similar to the enzymatic activity of Krebs cycle dehydrogenases.

Increased activity of succinate dehydrogenase and alpha ketoglutarate dehydrogenase may represent a compensatory or survival response to the onset of functional defects. Assessment of the complex effect of doxorubicin on intracellular processes will help to develop new protecting systems from doxorubicin-induced cytotoxicity, but work in this direction requires more detailed research.

Keywords: ASPARTATE AMINOTRANSFERASE, CITRIC ACID CYCLE, TBA-ACTIVE PRODUCTS, CATALASE, SUPEROXIDE DISMUTASE, CYTOTOXICITY, ANTHRACYCLINE

СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ И АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ ЦИКЛА КРЕБСА В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ КУМУЛЯТИВНЫХ ДОЗ ДОКСОРУБИЦИНА

В. А. Дзюба¹, Е. Б. Кучменко^{1,2}, А. В. Яковейчук¹
dziuba-v-v@yandex.ua

¹Мелитопольский государственный педагогический университет имени Богдана Хмельницкого, ул. Гетьманская, 20, г. Мелитополь, 72312, Украина

²Национальный университет «Киево-Могилянская Академия», ул. Г. Сковороды, 2, г. Киев, 04070, Украина

Доксорубицин является мощным антрациклиновым антибиотиком, широко используемым для лечения различных злокачественных новообразований у людей. Однако при длительном применении доксорубицина препарат может вызывать развитие кардио-, гепато- и нефротоксичности, тем самым лимитируя его клиническое использование. Особая опасность цитотоксического влияния доксорубицина заключается в возможном возникновении необратимых хронических побочных эффектов.

В исследовании использовано 30 самцов крыс со средней массой тела около 240 г. Животные были разделены на 3 группы (контроль, 3 недели и 5 недель приема доксорубицина). Биохимические показатели антиоксидантной и энергетической систем определялись в тканях сердца, печени и почек. Использование доксорубицина привело к увеличению количества ТБК-активных продуктов во всех исследуемых тканях, что указывает на прооксидантные свойства препарата. Более того, доксорубицин может непосредственно влиять на активность антиоксидантных ферментов. В нашем исследовании доксорубицин вызывал увеличение активности антиоксидантных ферментов в тканях сердца и печени, однако уменьшение их активности в почках. После применения доксорубицина активность ферментов цикла лимонной кислоты в печени возрастала, а в тканях почек — наоборот, уменьшалась. Что касается сердца, то в нем активность ферментов цикла Кребса увеличивалась только в течении первых 3-х недель терапии, а затем падала. В результате приема доксорубицина активность аспаратаминотрансферазы в тканях крыс изменялась таким же образом, как и активность дегидрогеназ цикла Кребса.

Повышение активности сукцинатдегидрогеназы и альфа-кетоглутаратдегидрогеназы может выступать в качестве компенсаторной ответной реакции на возникновение функциональных дефектов в энергетическом обмене. Оценка комплексного влияния доксорубицина на внутриклеточные процессы поможет в разработке новых систем защиты организма от его цитотоксичности, однако работа в этом направлении требует более детальных исследований.

Ключевые слова: АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗА, ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ, ТБК-AКТИВНЫЕ ПРОДУКТЫ, КАТАЛАЗА, СУПЕРОКСИДИСМУТАЗА, ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ, АНТРАЦИКЛИН

Доксорубіцин — антибіотик антрациклінового ряду, який широко використовується як антинеопластичний агент [24]. Доксорубіцин вперше було виділено зі *Streptomyces peucetius var caesius* у 60-х рр. минулого століття. Молекула складається з гідроксильованого тетрациклінхінону із глікозильованим дуаносаміновим цукровим залишком, який легко гідролізується *in vivo*. З моменту відкриття цитостатичної біологічної активності доксорубіцин став одним із найбільш широко вживаних протипухлинних агентів у США, передусім через його потужний та широкий спектр активності [34]. Механізм його впливу полягає у взаємодії з ДНК, утворенні вільних радикалів, пригніченні синтезу нуклеїнових кислот. Хіміотерапевтична протипухлинна дія доксорубіцину опосередковується інтеркалюванням антрациклінового кільця у подвійну спіраль ДНК для завади точному зчитуванню, що блокує поділ швидко проліферуючих пухлинних клітин [11]. Доксорубіцин переважно метаболізується у печінці, після внутрішньовенного введення швидко потрапляє із крові до печінки, нирок, міокарду, селезінки, легень. Препарат застосовують для лікування лімфобластного лейкозу, саркоми м'яких тканин, остеогенної саркоми, саркоми Юінга, раку молочної залози, раку щитоподібної залози та інших онкологічних захворювань. Доксорубіцин проявляє значну кількість побічних ефектів, у тому числі виражені гепато-, нефро- та кардіотоксичні ефекти, що лімітує можливість його клінічного застосування [4, 19].

На сьогодні вченими описано багато механізмів прояву токсичності доксорубіцину, найрозповсюдженішими серед яких є: 1) пошкодження мітохондрій та аутофагія, викликана продукцією активних форм Оксигену (АФО) та редукцією ендогенних антиоксидантів; 2) ліпідна пероксидація; 3) інгібування активності топоізомерази-2; 4) активація р38 MAPK/JNK сигнального шляху; 5) пошкодження структури ДНК та вплив на експресію протеїнів; 6) активація убіквітин-протеасомної системи, такої, як Nrdp1, що призводить до активізації процесів деградації структурних протеїнів та антиапоптичних факторів; 7) дисрегуляція внутрішньоклітинного кальцію та заліза [36, 30]. Вважається, що основним проявом цитотоксичності

доксорубіцину є порушення нормальної роботи мітохондрій та генерація надлишкової кількості активних форм Оксигену [30].

Доксорубіцин володіє високою спорідненістю до мітохондріальної мембрани (а саме до кардіоліпіну), в результаті чого накопичується у ній. Кардіоліпін — кислий фосфоліпід, що локалізується лише у внутрішній мітохондріальній мембрані та відіграє важливу роль в алостеричній регуляції численних мітохондріальних процесів та роботі транспортерів. Комплексоутворенням із кардіоліпіном доксорубіцин заважає активації низки залежних від кардіоліпіну протеїнів, таких, як транспортери пірувату та фосфат внутрішньої мембрани мітохондрій [34]. До порушень енергетичного метаболізму при введенні доксорубіцину належать зниження окиснювальної здатності мітохондрій, зміна профілю використання енергетичних субстратів, порушення процесів транспорту енергії між місцями її виробництва та споживання [31, 32].

Виокремлюють два основних шляхи продукції АФО доксорубіцином. Перший — ензимний, його суть полягає у тому, що завдяки своєму високому окисно-відновному потенціалу доксорубіцин забирає електрони від першого комплексу дихального ланцюга. Це, своєю чергою, призводить до запуску циклічних окисно-відновних перетворень молекули доксорубіцину і сприяє продукуванню надлишкової кількості АФО [13, 3]. Другий шлях виробництва АФО під впливом доксорубіцину — неензимний, він полягає у взаємодії доксорубіцину із залізом. Утворений в результаті цієї взаємодії комплекс здатен відновлювати Оксиген до супероксид-аніон радикалу та гідроген пероксиду [1]. Активація процесів вільнорадикального окиснення та/або активація ендогенних механізмів генерування радикалів призводять до порушення фізико-хімічної структури та властивостей мембран, інгібуванню мембранозв'язаних та цитоплазматичних ензимів, порушенню біоенергетичних процесів, що сприяє формуванню оксидативного стресу, який є важливим патогенетичним фактором розвитку багатьох патологічних процесів [2].

Найбільше зазнають впливу доксорубіцину саме ті клітини, що мають значну

кількість мітохондрій (насамперед це клітини серця та печінки) [21]. Доксорубіцин викликає пошкодження на декількох ділянках енергетичного метаболізму, зокрема падіння базального рівня високоенергетичних фосфатів, зниження окиснювальної здатності мітохондрій, зміну профілю використовуваного субстрату з помітним зменшенням окиснення жирних кислот, порушення передачі енергії між місцями виробництва та споживання енергії, а також дефекти в АМРК сигнальному шляху. На основі цих даних вченими було висунуто припущення, що саме підтримка мітохондріальних функцій при терапії доксорубіцином відіграє ключову роль у захисті клітин від доксорубіцин-індукованої цитотоксичності [8].

Продукція надлишкової кількості АФО призводить до активізації процесів окиснення ліпідів, протеїнів та нуклеїнових кислот у клітинах організму. Порушення структурно-функціонального стану мембран мітохондрій внаслідок підсилення процесів ліпопероксидації змінює редокс-статус мітохондрій, завдяки чому стає можливим окиснення сульфгідрильних груп протеїнів мітохондріальної пори перехідної проникності, вихід проапоптичних факторів із міжмембранного простору у цитозоль та запуск програми клітинної смерті. Окрім того, накопичення первинних продуктів ПОЛ може призводити до порушення іонної проникності мітохондріальних мембран. У системі прооксиданти-антиоксиданти динамічна рівновага порушується не тільки у зв'язку із надлишковою генерацією активних форм Оксигену, але і за рахунок глибокої дисфункції антиоксидантного ензимного каскаду. Ці процеси формують порочне коло — гіперпродукція активних форм Оксигену викликає окиснювальне пошкодження макромолекул (у тому числі й ензимів-антиоксидантів), що, своєю чергою, призводить до підсилення генерації АФО [22, 13]. Окрім того, електроннедефіцитні атоми доксорубіцину активно вступають у реакції з тіолами, такими, як глутатіон, додатково пригнічують клітинний пул антиоксидантів і тим самим забезпечують подальше пошкодження тканин [35].

Для боротьби з процесами деструктивного окиснення в клітинах функціонують високомолекулярна та низькомолекулярна анти-

оксидантні системи [10]. Активізація пероксидного окиснення ліпідів є наслідком порушення роботи антиоксидантних ензимів. Супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КАТ) є ензимами першої лінії захисту клітини від АФО. СОД каталізує дисмутацію супероксидів в гідроген пероксиди та молекулярний Оксиген. Каталаза, своєю чергою, нейтралізує пероксиди, перетворюючи їх на воду та Оксиген [23]. Таким чином, підвищення активності антиоксидантних ензимів з метою послаблення доксорубіцин-індукованої цитотоксичності має терапевтичний потенціал.

Метою роботи було дослідження впливу доксорубіцину в різних кумулятивних дозах на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги і активність ензимів циклу Кребса у тканинах печінки, серця та нирок. Об'єктом досліджень були активність антиоксидантних ензимів і ензимів циклу Кребса та вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Ця робота відрізняється від попередніх досліджень цього напрямку проведенням комплексного аналізу компонентів системи АОЗ і циклу Кребса, що розглядається як єдина redox-система тканин. Ідентифікація найбільш чутливих до дії доксорубіцину внутрішньоклітинних процесів допоможе в розробці нових систем захисту, спрямованих на ліквідацію конкретних дефектів доксорубіцин-індукованого пошкодження, і може бути корисною для отримання нових знань про механізми впливу доксорубіцину на окремі ланки клітинного метаболізму.

Матеріали і методи

Експеримент провели на 30 білих безпородних щурах-самцях масою 220–260 г. В експерименті використовували саме самців, оскільки підвищений рівень естрогену в організмах самок може викликати кардіопротекторний ефект, а більш високі рівні теломеразної активності — сприяти значно швидшій регенерації тканин [9]. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. Доксорубіцин — доксорубіцин, доксорубіцин гідрохлорид («Сіндан Фарма СРЛ», Румунія) вводили тваринам внутрішньом'язово в дозі 5 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень [18]. Тварин було

розділено на 3 групи: щурам 1-ї групи доксорубіцин вводили впродовж трьох тижнів, щурам 2-ї групи — 5-ти тижнів, щурам із контрольної групи замість препарату вводили фізіологічний розчин. Тварин декапітували через тиждень після останньої ін'єкції. Маніпуляції з тваринами проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Як об'єкт дослідження використовувалися тканини серця, печінки та нирок дослідних щурів. Зібраний біологічний матеріал попередньо промивали у фізіологічному розчині і гомогенізували в 50 мМ фосфатному буфері (рН=7,4). Рівень активності дегідрогеназ циклу Кребса визначали за ступенем відновлення Калію гексоціаноферату (III) з використанням інкубаційних середовищ. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.5.1) визначали за методикою Eshhenko and Volskij [12], а α -кетоглутаратдегідрогенази (α -КГДГ, КФ 1.2.4.2) — Gupta and Dekker [14]. Активність дегідрогеназ виражали у нМоль відновленого $K_3[Fe(CN)_6]$ на 1 г протеїну за одиницю часу — нМоль/(хв·г). Активність каталази (КАТ, КФ 1.11.1.6) визначали за здатністю гідроген пероксиду утворювати стійкий забарвлений комплекс із солями Молибдену [17]. Активність каталази виражали в мМоль на 1 г протеїну за одиницю часу — мМоль/хв·г. Метод визначення активності супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) базується на здатності ензиму інгібувати аутоокиснення адреналіну гідротартрату в лужному середовищі [25]. Активність СОД виражали в умовних одиницях (у.о.) 10^{-3} у перерахунку на 1 г протеїну. За 1 умовну одиницю брали 1 % інгібування. Інтенсивність пероксидних процесів оцінювали за вмістом кінцевих продуктів окиснення ліпідів (ТБКАП) в гомогенаті та за ініціації пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) Fe^{2+} (ТБКАПі), а також за вмістом гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [15]. Кількість ТБК-активних продуктів виражали у нМоль/г протеїну, а концентрацію гідропероксидів — як різницю оптичної густини контрольної та дослідної проб на 1 г протеїну ($\Delta D_{480}/g$). Визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ, КФ 2.6.1.1)

проводили з використанням стандартних лабораторних тест-наборів (ПрАТ «Реагент», м. Дніпро, Україна) за методами Reitman and Frankel [28] згідно з протоколом фірми виробника. АСТ-активність виражали у мМоль/хв·г протеїну. Вміст протеїну для перерахунку активності ензимів визначали за допомогою барвника *Coomassie Brilliant Blue*, що утворює забарвлений синій комплекс із протеїнами [5].

Статистичну обробку матеріалу проводили із застосуванням методів математичної статистики, багатовимірного кореляційного та кластерного аналізів з використанням стандартних вбудованих функцій пакету спеціалізованого програмного забезпечення *SPSS v23* та *MS Office Excel 2010*. Для перевірки статистичних гіпотез використовували *t*-критерій Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності при рівні значущості $P < 0,05$. В умовах проведення кореляційного аналізу вірогідними вважалися зв'язки при $P < 0,05$, а при $P < 0,1$ вважались як тенденції до кореляції.

Результати й обговорення

Після трьох тижнів введення препарату вміст ТБКАП в тканинах печінки збільшився на 56 % ($P \leq 0,01$), а вміст ТБКАПі — на 109 % ($P \leq 0,001$) порівняно з контролем (табл.).

П'ятитижневе введення препарату призвело до збільшення вмісту ТБКАП на 82 % ($P \leq 0,001$), а ТБКАПі — на 76 % ($P \leq 0,001$) порівняно з контролем. Окрім того, застосування доксорубіцину призвело до зростання кількості гідропероксидів у тканинах печінки. Трьох- та п'ятитижневе застосування препарату призвело до підвищення вмісту гідропероксидів, відносно показників контрольної групи — на 31,6 % ($P \leq 0,01$) та 75,3 % відповідно.

У тканинах серця введення доксорубіцину впродовж трьох та п'яти тижнів призвело до зростання вмісту ТБКАП на 35 % ($P \leq 0,05$) та 26 % відповідно. Що стосується ТБКАПі, то в ході застосування препарату протягом 3- та 5-ти тижнів його вміст збільшився, відповідно, на 24,8 % та 78,2 % ($P \leq 0,001$), порівняно з інтактними тваринами. Порівняння показників ТБКАП 3-го та 5-го тижня експерименту свідчить, що продовження ін'єкцій

Біохімічні показники дослідних тканин при застосуванні доксорубіцину (M±m, n=10)
Biochemical parameters of experimental tissues under the use of doxorubicin (M±m, n=10)

Показники Parameters	Група / Group	Тканина / Tissue		
		Печінка / Liver	Серце / Heart	Нирки / Kidney
ТБКАП, нМоль/г TBARS, nmol/g	контроль / control	100,09±5,28	118,11±8,4	155,29±15,3
	3 тижні / 3 weeks	157,69±13,4*	160,5±11,7*	181,86±10,56
	5 тижнів / 5 weeks	166,63±13,3*	149,51±11,62	256,76±21,65**
ТБКАПі, нМоль/г TBARSi, nmol/g	контроль / control	121,2±2,98	236,56±11,1	280,48±19
	3 тижні / 3 weeks	253,26±11,6*	295,19±33,5	293,37±17,9
	5 тижнів / 5 weeks	213,74±5,58**	421,58±13,9**	391,06±26,5**
ГПЛ, ΔD480/г LHP, ΔD480/g	контроль / control	93,46±3,46	318,1±31,04	105,02±4,5
	3 тижні / 3 weeks	122,97±7,07*	296,14±38,4	130,74±9,06*
	5 тижнів / 5 weeks	163,83±10,8**	312,48±22,1	182±5,9**
КАТ, мМоль/хв·г CAT, mmol/min·g	контроль / control	467,12±12,3	24,75±1,12	435,05±28,4
	3 тижні / 3 weeks	655,83±8,54*	24,67±0,93	310,98±6,76*
	5 тижнів / 5 weeks	600,6±15,14**	26,76±0,39	240,16±23,7**
СОД, у.о.·10 ⁻³ /г SOD, с.у. 10 ⁻³ /g	контроль / control	200,08±2,05	49,46±0,68	777,8±14,99
	3 тижні / 3 weeks	205,33±1,81	55,63±2,13*	542,68±34,3*
	5 тижнів / 5 weeks	233,82±12**	58,25±3,09*	602,45±40,1*
СДГ, нМоль/хв·г SDH, nmol/min·g	контроль / control	8,79±0,52	32,9±5,45	4,87±0,13
	3 тижні / 3 weeks	10,05±1,01	42,48±1,26*	3,72±0,2*
	5 тижнів / 5 weeks	14,22±0,84**	24,66±4,09#	3,54±0,047*
α-КГДГ, нМоль/хв·г α-KGDH, nmol/min·g	контроль / control	2,32±0,17	1,79±0,82	4,26±0,52
	3 тижні / 3 weeks	3,38±0,07*	5,88±1,36*	2,99±0,25
	5 тижнів / 5 weeks	4,37±0,23**	4,68±0,61*	3,35±0,15
АСТ, мМоль/хв·г AST, mmol/min·g	контроль / control	4910±246	12156±2083	4316±51,6
	3 тижні / 3 weeks	7084±200*	14226±1369	2753±138*
	5 тижнів / 5 weeks	12230±164**	11126±1047	3077±149*

Примітка: * — P<0,05 порівняно з контрольною групою; # — P<0,05 порівняно з показниками тварин із групи трьохтижневої терапії.

Note: * — P<0.05 compared with the control group; # — P<0.05 compared with the indicators of animals from the three-week therapy group.

доксорубіцину супроводжується тенденцією до зменшення ТБКАП та зростанням ТБКАПі на 42,8 % (P≤0,001). Отже, прийом доксорубіцину викликав дозозалежне підвищення рівня ПОЛ у тканинах серця. Однак прийом доксорубіцину майже не вплинув на концентрацію гідропероксидів у кардіоміоцитах, оскільки ці зміни не були статистично значущими.

Трьох- та п'ятитижневий прийом препарату призвів до зростання вмісту ТБКАП у тканинах нирок на 17 та 65 % (P≤0,01) відповідно стосовно контролю; вміст ТБКАПі вірогідно збільшився на 39,4 % (P≤0,001) тільки за п'ятитижневого прийому доксорубіцину. Що стосується концентрації гідропероксидів, то трьохтижнева терапія призвела до збільшення цього показника у тканинах нирок на 24,5 % (P≤0,05), а п'ятитижнева — до збільшення на 73,3 % (P≤0,001). Таким чином, прийом до-

ксорубіцину викликав дозозалежне зростання концентрації ТБКАП, ТБКАПі та ГПЛ у тканинах нирок.

Після трьох тижнів застосування препарату активність каталази у печінці зросла на 40 % (P≤0,001). Активність ензиму після 5-ти тижнів експерименту дещо знизилась порівняно з показниками тварин після трьохтижневої терапії, однак вона була більшою на 29 % (P≤0,001) відносно показників контрольної групи. Зміни в активності СОД через три тижні застосування доксорубіцину не були статистично значущими, однак показники активності СОД наприкінці експерименту (після п'яти тижнів терапії) були більшими на 17 % (P≤0,05) порівняно з контролем.

Зміни каталазої активності у тканинах серця не були статистично значущими. Після трьох тижнів терапії активність цього ензиму

залишилась на вихідному рівні, а після п'яти — зросла на 8 %. Однак у кардіоміоцитах внаслідок введення доксорубіцину спостерігалось вірогідне зростання СОД-активності. Порівняно з інтактними тваринами, після трьох та п'яти тижнів введення препарату активність СОД зросла на 12 % ($P \leq 0,05$) та 17,8 % ($P \leq 0,05$) відповідно.

У нирках прослідковувалося вірогідне зниження активності антиоксидантних ензимів. Так, порівняно з контролем, після трьох і п'яти тижнів ін'єкцій активність КАТ знизилася на 28,5 % ($P \leq 0,01$) та 55 % ($P \leq 0,001$), а активність СОД — на 30,2 % ($P \leq 0,001$) та 22,5 % ($P \leq 0,01$) відповідно.

Динаміка змін активності дегідрогеназ циклу Кребса в результаті прийому доксорубіцину була індивідуальною для всіх досліджених тканин. У тканинах печінки після трьох тижнів прийому доксорубіцину активність СДГ зросла на 14 %, а активність α -КГДГ — на 45 % ($P < 0,001$). У результаті п'ятитижневого застосування препарату активність СДГ зросла на 62 % ($P < 0,001$) та на 41 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем та першою групою відповідно. Що стосується α -КГДГ, то після п'яти тижнів терапії її активність зросла на 88 % ($P < 0,001$) і на 29 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем та першою групою відповідно. Прийом доксорубіцину викликав дозозалежне підвищення активності АСТ в гепатоцитах. Після трьох тижнів прийому препарату активність АСТ збільшилась на 44,3 %, а після п'яти — у 2,5 разу.

Після трьох тижнів застосування доксорубіцину активність СДГ у тканинах серця збільшилась на 29 % ($P < 0,01$), а α -КГДГ — у 3,3 разу ($P < 0,001$). Однак після 5-ти тижнів застосування препарату в кардіоміоцитах реєструвалося зниження активності дегідрогеназ циклу Кребса. Зокрема, активність СДГ знизилася на 25 % відносно контролю та на 42 % ($P < 0,01$) порівняно з показниками першої групи. На 5-й тиждень застосування доксорубіцину, порівняно з результатами трьохтижневого курсу терапії, реєструвалося зниження активності α -КГДГ на 20,5 %, однак, порівняно з показниками контрольної групи, активність ензиму залишалась більшою в 2,6 разу ($P < 0,01$). Подібна динаміка була характерна і для активності АСТ. Після трьох тижнів застосування

доксорубіцину активність цього ензиму зросла на 17 %, однак подальше введення препарату призвело до зниження його активності, внаслідок чого на 5-й тиждень терапії активність АСТ була на 8,5 % меншою порівняно з контрольною групою.

Прийом доксорубіцину викликав зменшення активності СДГ та α -КГДГ у тканинах нирок. Так, 3- та 5-тижневий прийом препарату призвів до зниження показників активності СДГ на 23,6 % ($P < 0,01$) та 27,2 % ($P < 0,001$), а α -КГДГ — на 29,8 та 21,2 % відповідно. Що стосується активності АСТ, то трьохтижнева терапія призвела до зниження активності ензиму на 36,2 % ($P < 0,001$). Подальший прийом препарату викликав підвищення ензиматичної активності, внаслідок чого на кінець 5-го тижня експерименту активність АСТ була нижчою за показники контрольної групи лише на 28,7 % ($P < 0,001$).

Для візуалізації характеру узгодженості змін досліджених показників за дії доксорубіцину було залучено кореляційний аналіз, на базі якого скомпільовано ряд кластерів ($n=3$). Отриманий в результаті кореляційного аналізу досліджуваних показників кластер для тканин печінки вказує на складний характер реалізації шляхів підтримки антиоксидантної системи, рівня енергетичного обміну та амінотрансферазної активності. Найвищий рейтинг серед досліджених показників має СОД та СДГ, оскільки обидва ці ензими мають по три кореляційних зв'язки, два із яких — високої вірогідності (порівняно з іншими кореляціями цієї плеяди). Окрім того, СОД та СДГ пов'язані між собою прямим кореляційним зв'язком ($r=0,997$ при $P \leq 0,05$), а також прямою кореляцією із АСТ. У цій плеяді саме АСТ виступає ключовою ланкою, оскільки зв'язок із системою антиоксидантного захисту забезпечується через кореляції активності АСТ із СОД ($r=0,989$ при $P \leq 0,1$) та АСТ із вмістом гідропероксидів ($r=0,991$ при $P \leq 0,1$), а із системою енергетичного обміну — через кореляцію активностей АСТ та СДГ ($r=0,998$ при $P \leq 0,05$). Оскільки концентрація гідропероксидів прямо корелює як із активністю α -КГДГ ($r=0,994$ при $P \leq 0,1$), так і з активністю АСТ, можна казати про опосередкований кореляційний зв'язок між АСТ та

α -КГДГ. Окрім того, було встановлено сильний прямий зв'язок високого ступеня значущості між кількістю ТБКАПі та активністю каталази ($r=1,0$ при $P\leq 0,01$), однак цей кореляційний зв'язок не увійшов до основної плеяди.

У тканинах серця кореляції між досліджуваними біохімічними показниками прослідковувалися слабо. В кардіоміоцитах відмічався вірогідний сильний прямий зв'язок між активністю α -КГДГ та вмістом ТБКАП ($r=0,999$ при $P\leq 0,05$), а також помірний прямий зв'язок між активностями АСТ та СДГ ($r = -0,989$ при $P\leq 0,01$).

У нирках найвищий рейтинг серед досліджених показників посіла СОД, оскільки вона мала два вірогідних сильних зв'язки. Активність СОД прямо корелювала із активністю АСТ ($r=0,999$ при $P\leq 0,05$) та активністю α -КГДГ ($r=1,0$ при $P\leq 0,05$). Окрім того, активності АСТ та α -КГДГ безпосередньо корелювали між собою ($r=0,997$ при $P\leq 0,1$). Також було встановлено помірні прямі зв'язки між концентраціями ТБКАП та ТБКАПі ($r=0,989$ при $P\leq 0,1$) і вмістом ТБКАП та ГПЛ ($r=0,997$ при $P\leq 0,1$). Частково тут прослідковується та сама тенденція, що й і в печінці: АСТ виступає у ролі «посередника» системи АОЗ та енергетичної системи клітини. Однак у нирках наявна і безпосередня пряма кореляція між компонентами енергетичної та антиоксидантної систем.

Застосування доксорубіцину призвело до вірогідного дозозалежного збільшення вмісту ТБКАП, ТБКАПі та ГПЛ у тканинах печінки щурів. Що стосується серця, то тут прийом доксорубіцину призвів до зростання кількості ТБКАП та ТБКАПі, однак препарат майже не вплинув на вміст гідропероксидів, оскільки його концентрація після 5-ти тижнів терапії була майже такою, як і в міокарді інтактних тварин. У нирках зростання кількості проміжних та кінцевих продуктів ліпопероксидації в результаті прийому доксорубіцину також мало дозозалежний характер, однак зміни не завжди були статистично значущими. Зростання вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенатах тканин дослідних тварин, які отримували доксорубіцин, свідчить про інтенсифікацію процесів ПОЛ на тлі застосування цитостатиків. Можливо, зростання показників

ТБКАП, ТБКАПі та ГПЛ свідчить про доксорубіциніндуковане пошкодження клітин досліджуваних органів.

Що стосується антиоксидантних ензимів — в результаті прийому доксорубіцину було відмічено збільшення активності КАТ та СОД у тканинах печінки та серця, однак в нирках активність цих ензимів знижувалась.

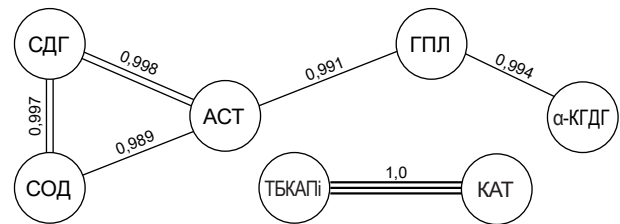


Рис. 1. Кластер показників енергетичного обміну, пероксидного окиснення та компонентів системи антиоксидантного захисту для печінки щурів

Fig. 1. Cluster of energy metabolism, lipid peroxidation and antioxidant defense system components for rat liver

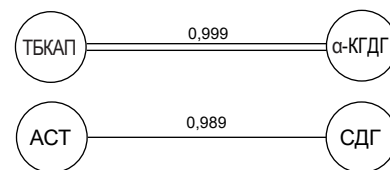


Рис. 2. Кластер показників енергетичного обміну, пероксидного окиснення та компонентів системи антиоксидантного захисту для серця щурів

Fig. 2. Cluster of energy metabolism, lipid peroxidation and antioxidant defense system components for rat heart

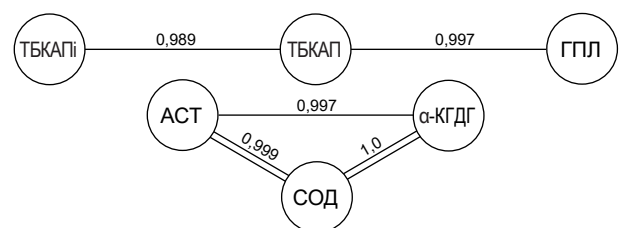


Рис. 3. Кластер показників енергетичного обміну, пероксидного окиснення та компонентів системи антиоксидантного захисту для нирок щурів

Fig. 3. Cluster of energy metabolism, lipid peroxidation and antioxidant defense system components for rat kidney

Примітки: прямі кореляції ($r>0$) зображені чорними лініями, обернені ($r<0$) — сірими; потрійними лініями — рівень значущості кореляції $P\leq 0,01$; подвійною лінією — $P\leq 0,05$; одинарною лінією — $P\leq 0,1$.

Note: direct correlations ($r>0$) are depicted by black lines, inverse ($r<0$) — by gray ones; triple lines — the level of correlation significance $P\leq 0.01$; double line — $P\leq 0.05$; single line — $P\leq 0.1$.

У низці робіт неодноразово повідомлялось про те, що застосування доксорубіцину може як призводити до зниження активності антиоксидантних ензимів, так і спричиняти їх підвищення. Вченими з різних країн було продемонстровано, що доксорубіцин може призводити до зменшення активності КАТ та/або СОД в тканинах печінки [18], нирок [29], серця [37] та яєчок [11] щурів. Однак в інших роботах наголошувалося на тому, що доксорубіцин може викликати підвищення активності КАТ та СОД в тканинах серця [16] та печінки [9] піддослідних щурів. Імовірно, ензими антиоксидантного захисту тонко реагують на дію доксорубіцину залежно від його дози та терміну введення.

Внаслідок прийому доксорубіцину у тканинах печінки, не зважаючи на інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, спостерігалось вірогідне зростання активності ензимів ЦТК. Імовірно, це пов'язано з тим, що у тканинах печінки вмикаються компенсаторні механізми, котрі, попри токсичний вплив доксорубіцину, продовжують підтримувати функціонування енергетичних систем органу на необхідному рівні.

Подібні компенсаторні механізми були характерні і для тканин серця, однак, порівняно з печінкою, тут їх прояв був менш вираженим. Активність дегідрогеназ циклу Кребса в кардіоміоцитах зростала тільки впродовж перших трьох тижнів прийому доксорубіцину, після чого починала знижуватись. Така тенденція була більш виражена у випадку з сукцинат-дегідрогеназою, активність якої наприкінці експерименту була нижчою, ніж у тварин із контрольної групи. Імовірно, це пов'язано з тим, що доксорубіцин має високу спорідненість із кардіоліпіном — маркером мітохондрій, який локалізується на внутрішній мембрані. Оскільки кардіоміоцити, порівняно з клітинами інших органів, мають найбільшу об'ємну густину мітохондрій, то й найбільша кількість доксорубіцину накопичується саме в них [37]. Кардіоміоцити, порівняно з гепатоцитами чи нефроцитами, мають значно вищий оксидативний метаболізм та містять порівняно меншу кількість компонентів антиоксидантного захисту. Це, своєю чергою, призводить до того, що деструктивний вплив доксорубіцину на тканини серця

потенційно може бути значно більшим, ніж на інші органи [26].

У нирках зменшення активності дегідрогеназ корелює зі збільшенням кількості продуктів ліпопероксидації та зменшенням активності КАТ і СОД. Імовірно, інтенсифікація процесів ПОЛ в нирках викликала сповільнення роботи ЦТК.

Під впливом доксорубіцину активність аспартатамінотрансферази змінювалася з такою ж самою динамікою, як і активність дегідрогеназ циклу Кребса. Так, у тканинах печінки прийом доксорубіцину сприяв зростанню активності АСТ, як і дегідрогеназ циклу Кребса, протягом всього експерименту, в результаті чого вона досягла свого максимуму на 5-й тиждень досліду. В серці ж активність АСТ зростала тільки протягом перших трьох тижнів експерименту, після чого починала падати. В нирках динаміка зміни активності АСТ також була схожа до динаміки дегідрогеназ (особливо α -КГДГ). Прийом доксорубіцину протягом перших трьох тижнів викликав зниження активності амінотрансферази, однак подальше застосування препарату сприяло підвищенню ензиматичної активності. Можливо, за умов застосування доксорубіцину відбувається тонке органоспецифічне налаштування процесів малатаспартатного човникового механізму, який забезпечує субстратами дихальний ланцюг і бере участь у транспорті електронів крізь мітохондріальну мембрану. Імовірно, через те, що ці процеси спряжені з синтезом АТФ та енергозабезпеченням живих клітин, і прослідковується така подібність у динаміці змін ензиматичної активності дегідрогеназ циклу Кребса та аспартатамінотрансферази [10].

У роботах останніх років описуються різноманітні механізми прояву компенсаторних ефектів, що виникають як відповідь на активізацію деструктивних процесів у результаті застосування доксорубіцину. Зокрема, деякі вчені наголошували на тому, що прийом доксорубіцину спричинював зміну основного субстрату окиснення в мітохондріях, викликаючи перехід від жирних кислот до вуглеводів. Це, своєю чергою, призводило до зростання активності дегідрогеназ (особливо піруватдегідрогенази) та спричинювало підвищення транскрипції ге-

нів, продукти яких задіяні у гліколізі та циклі Кребса [7]. Вважається, що підвищення експресії генів циклу Кребса у критичні моменти є своєрідним тимчасовим механізмом, що виникає у відповідь на початкові етапи енергетичної дисфункції, яка, як відомо, розвивається внаслідок впливу доксорубіцин-індукованої цитотоксичності [31]. В іншій публікації наголошувалось на тому, що доксорубіцин інгібував активність карнітин-пальмітоїлтрансфераз, тим самим подавляючи транспортування жирних кислот до мітохондрій [6].

Зміна у функціонуванні роз'єднувальних UCP-протеїнів розглядалась як один із можливих механізмів забезпечення компенсаторної відповіді на дію доксорубіцину. UCP-протеїни роз'єднують окиснення із фосфорилуванням, тим самим розсіюючи деяку частину енергії у вигляді тепла та не даючи їй можливості застатись у вигляді макроергічних сполук. Не дозволяючи клітині продукувати зайву енергію, вони захищають її від надлишкового виробництва АФО. Дослідження вчених показали, що в організмі відбувається експресія мРНК UCP1 та UCP2 під час застосування доксорубіцину як терапевтичного засобу. Порушення регуляції UCP1 та UCP2 у тканинах серця викликало підвищення синтезу АТФ, що може пояснюватись як спроба компенсувати аномальний енергетичний обмін. Однак цей ефект призводив до підвищення окиснювального стресу та продукції більшої кількості АФО [6]. В іншій роботі також наголошувалося на тому, що доксорубіцин зменшував експресію генів, які кодують UCP-протеїни, тим самим викликаючи проапоптотичний ефект посилення виробництва АФО та стимуляції синтезу АТФ [20]. Окрім того, CoQ_{10} є незамінним коензимом для функціонування UCP-протеїнів, а застосування доксорубіцину, як відомо, призводить до зменшення концентрації убихінону в тканинах [33]. Описані вище регуляторні механізми узгоджуються з нашими результатами, отриманими в ході біохімічних досліджень компонентів антиоксидантної та енергетичної систем для тканин серця та печінки.

Опираючись на кореляційний аналіз, можна зробити висновок, що в печінці та нирках спостерігається тісна інтеграція між системою антиоксидантного захисту та енергетичною

системою за рахунок амінотрансферазної системи. Імовірно, це пов'язано з тим, що аспаратамінотрансфераза може сприяти синтезу додаткової кількості альфа-кетоглутарату. Альфа-кетоглутарат, своєю чергою, використовується в циклі Кребса як субстрат та, окиснюючись під впливом α -КГДГ, постачає відновлювальні еквіваленти на ланцюг переносу електронів, що призводить до запасання енергії у вигляді АТФ. Однак зростання активності α -КГДГ може підвищити навантаження на систему, оскільки відомо, що α -КГДГ здатна генерувати за рахунок особливостей будови домену E1 супероксид- та пероксидрадикали [27]. Це припущення узгоджується з описаною вище інформацією стосовно того, що активізація енергетичних процесів у клітині може призводити до інтенсифікації ПОЛ.

Висновки

Використання доксорубіцину як терапевтичного засобу може мати виражений негативний вплив на стан та функціональну активність клітин серця, печінки та нирок щурів. Цей вплив характеризується активізацією пероксидних процесів на тлі різноспрямованих змін активності ензимів системи антиоксидантного захисту та порушенням фізіологічного функціонування енергетичної системи клітин. Для боротьби із токсичними наслідками впливу доксорубіцину на клітинний метаболізм можуть запускатися різного роду компенсаторні механізми на кшталт зміни основного субстрату окиснення чи інгібування активності UCP-протеїнів.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи клінічну значимість всіх цих змін та широке використання доксорубіцину як протипухлинного препарату, можна казати про необхідність подальших досліджень в цьому напрямку для остаточного визначення механізмів дії доксорубіцину на різні ланки метаболічних процесів у різних клітинах організму в цілому та конкретно в найбільш чутливих до дії препарату органах. Ідентифікація механізмів пошкоджуючого впливу доксорубіцину допоможе в подальшій розробці стратегій захисту при доксорубіцин-індукованій кардіо-, гепато- та нефротоксичності.

1. Abdel-Raheem I. T., Abdel-Ghany A. A. Hesperidin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *J. Egypt Natl. Canc. Inst.*, 2009, 21 (2), pp. 175–184.
2. Ahmed F., Urooj A. Cardioprotective activity of standardized extract of *Ficus racemosa* stem bark against doxorubicin-induced toxicity. *Pharmaceutical biology*, 2012, vol. 50, no. 4, pp. 468–473. DOI: 10.3109/13880209.2011.613848.
3. Arozal W., Suyatna F. D., Juniantito V., Rosdiana D. S., Amurugam S., Aulia R., Monayo E. R., Siswandi R. The Effects of Mangiferin (*Mangifera indica* L.) in Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Rats. *Drug Res. (Stuttg)*, 2015, vol. 65, no. 11, pp. 574–580. DOI: 10.1055/s-0034-1394457.
4. Bazikov I. A., Beyer E. V., Lukinova V. V., Maltsev A. N. Comparative evaluation of acute toxicity doxorubicin and it's in niosomes. *Medical news of north caucasus*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 403–406. DOI: 10.14300/mnnc.2015.10098.
5. 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, vol. 72, pp. 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
6. Bugger H., Guzman C., Zecher C., Palmeri M., Russell R. R. 3rd. Uncoupling protein downregulation in doxorubicin-induced heart failure improves mitochondrial coupling but increase reactive oxygen species generation. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 67 (6), pp. 1381–1388. DOI: 10.1007/s00280-010-1441-7.
7. Carvalho R. A., Sousa R. P. B., Cadete V. J. J., Lopaschuk G. D., Palmeira C. M. M., Bjork J. A., Wallace K. B. Metabolic remodeling associated with subchronic doxorubicin cardiomyopathy. *Toxicology*, 2010, 270 (2–3), pp. 92–98. DOI: 10.1016/j.tox.2010.01.019.
8. Chen C. T., Wang Z. H., Hsu C. C., Lin H. H., Chen J. H. *In vivo* protective effects of diosgenin against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nutrients*, 2015, 7 (6), pp. 4938–4954. DOI: 10.3390/nu7064938.
9. Childs A. C., Phaneuf S. L., Dirks A. J., Phillips T., Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment *in vivo* causes cytochrome c release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Research*, 2002, 62 (16), pp. 4592–4598.
10. Dyomshina O. O., Ushakova G. O., Stepchenko L. M. The effect of biologically active feed additives of humilid substances on the antioxidant system in liver mitochondria of gerbils. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2017, 8 (2), pp. 185–190. DOI: 10.15421/021729.
11. El-Sheikh A. A., Morsy M. A., Mahmoud M. M., Rifaai R. A. Protective mechanisms of coenzyme-Q10 may involve up-regulation of testicular P-glycoprotein in doxorubicin-induced toxicity. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2014, 37 (2), pp. 772–781. DOI: 10.1016/j.etap.2014.02.010.
12. Eshhenko N. D., Volskij G. G. *Determination of the amount of succinic acid and SDH activity. Methods of biochemistry research*. Leningrad, p.h.LSU, 1982, 327 p. (in Russian)
13. Gholami S., Hosseini M. J., Jafari L., Omidvar F., Kamalinejad M., Mashayekhi V., Hosseini S. H., Kardan A., Pourahmad J., Eskandari M. R. Mitochondria as a Target for the Cardioprotective Effects of *Cydonia oblonga* Mill. and *Ficus carica* L. in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Drug Res. (Stuttg)*, 2017, 67 (6), pp. 358–365. DOI: 10.1055/s-0043-101824.
14. Gupta S. C., Dekker E. E. Evidence for the Identity and Some Comparative Properties of a-Ketoglutarate and 2-Keto-4-hydroxyglutarate Dehydrogenase. *The J. Biol. Chem.*, 1980, 255 (3), pp. 1107–1112.
15. Ionov I. A., Shapovalov S. O., Rudenko E. V., Dolgaya M. N., Ahtyrskiy A. V., Zozulia Ju. A., Komissova T. E., Kostiuk I. A. *Criteria and methods of controlling metabolism in animals and birds*. Kharkiv, Institute of Animal Husbandry, 2011, 378 p. (in Ukrainian)
16. Kalender Y., Yel M., Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats the effects of vitamin E and catechin. *Toxicology*, 2005, 209, pp. 39–45. DOI: 10.1016/j.tox.2004.12.003.
17. Koroljuk M. A., Yvanova L. Y., Majorova Y. G., Tokareva V. E. Method for the determination of catalase activity. *Lab. work*, 1988, 1, pp. 16–19. (in Russian)
18. Mikuliak N. I., Kinzirska Yu. A. Experimental study of parameters of lipid peroxidation under the influence of doxorubicin and mexidol. *Vestnik VolgGMU*, 2011, 1 (37), pp. 101–103. (in Russian)
19. Mohammadrezaei F. M., Movaghar A. F., Ghraghabi M. The effect of caffeine and chk2 inhibitor on doxorubicin-induced cellular senescence in MCF-7 cells. *Drug Res (Stuttg)*, 2016, 66, pp. 250–454. DOI: 10.1055/s-0042-109390.
20. Mustafa H. N., El Awdan S. A., Hegazy G. A., Jaleel G. A. A. Prophylactic role of coenzyme Q10 and *Cynara scolymus* L. on doxorubicin-induced toxicity in rats: biochemical and immunohistochemical study. *Indian J. Pharmacol.*, 2015, 47 (6), pp. 649–656. DOI: 10.4103/0253-7613.169588.
21. Mustafa H. N., Hegazy G. A., Awdan S. A. E., AbdelBaset M. Protective role of CoQ10 or L-carnitine on the integrity of the myocardium in doxorubicin induced toxicity. *Tissue Cell*, 2017, 49 (3), pp. 410–426. DOI: 10.1016/j.tice.2017.03.007.
22. Nagai K., Fukuno S., Konishi H. Protective effects of taurine on doxorubicin-induced acute hepatotoxicity through suppression of oxidative stress and apoptotic responses. *Anticancer Drugs*, 2016, 27 (1), pp. 17–23. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000299.
23. Pal S., Sil P. C. A 43 kD protein from the leaves of the herb *Cajanus indicus* L. modulates doxorubicin induced nephrotoxicity via MAPKs and both mitochondria dependent and independent pathways. *Biochimie*, 2012, 94, pp. 1356–1367. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.03.003.
24. Panchuk R. R., Skorochyd N. R., Kozak Y. S., Lehka L. V., Chumak V. V., Omelyanchik S. N., Gurinovich V. A., Moiseenok A. G., Stoika R. S. Antioxi-

dants selenomethionine and D-pantethine decrease the negative side effects of doxorubicin in NL/Ly lymphoma-bearing mice. *Croat. Med. J.*, 2016, 57, pp. 180–192. DOI: 10.3325/cmj.2016.57.180.

25. Sirota T. V. A method for determining the antioxidant activity of superoxide dismutase and chemical compounds. Pat. 2144674 Russian Federation, G01N33/52, G01N33/68 no. 99103192/14 Publish. 24.02.1999; 20.01.2000. (in Russian)

26. Quiles J. L., Huertas J. R., Battino M., Mataix J., Ramirez-tortosa M. C. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology*, 2002, 180 (1), pp. 79–95. DOI: 10.1016/S0300-483X(02)00383-9.

27. Quinlan C. L., Goncalves R. L., Hey-Mogensen M., Bunik V. I., Brand M. D. The 2-oxoacid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289, pp. 8312–8325. DOI: 10.1074/jbc.M113.545301.

28. Reitman S., Frankel S. A coloric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 1957, 28, pp. 56–63. DOI: 10.1093/ajcp/28.1.56.

29. Sankhadeep P., Parames C. S. A 43 kD protein from the leaves of the herb *Cajanus indicus* L. modulates doxorubicin induced nephrotoxicity via MAPKs and both mitochondria dependent and independent pathways. *Biochimie*, 2012, 94 (6), pp. 1356–1367. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.03.003.

30. Sterba M., Popelova O., Vavrova A., Jirkovsky E., Kovarikova P., Gersl V., Simunek T. Oxidative stress, redox signaling, and metal chelation in anthracycline cardiotoxicity and pharmacological cardioprotection. *Antioxid. Redox Signal*, 2013, 18 (8), pp. 899–929. DOI: 10.1089/ars.2012.4795.

31. Tokarska-Schlattner M., Lucchinetti E., Zaugg M., Kay L., Gratia S., Guzun R., Saks V., Schlattner U. Early effects of doxorubicin in perfused heart: transcriptional profiling reveals inhibition of cellular response genes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2010, 298 (4), pp. 1075–1088. DOI: 10.1152/ajpregu.00360.2009.

32. Tokarska-Schlattner M., Zaugg M., Zuppinger C., Wallimann T., Schlattner U. New insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: the critical role of cellular energetics. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2006, 41 (3), pp. 389–405. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2006.06.009.

33. Turunen M., Olsson J., Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes*, 2004, 1660 (1–2), pp. 171–199. DOI: 10.1016/J.BBAMEM.2003.11.012.

34. Wallace K. B. Doxorubicin-induced cardiac mitochondriopathy. *Pharmacology and Toxicology*, 2003, 93, pp. 105–115. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2003.930301.x.

35. Wang Y., Mei X., Yan J., Lu W., Li B., Xu D. Taurine zinc solid dispersions attenuate doxorubicin-induced hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2015, 289 (1), pp. 1–11. DOI: 10.1016/j.taap.2015.08.017.

36. Wei S. N., Zhao W. J., Zeng X. J., Kang Y. M., Du J., Li H. H. Microarray and co-expression network analysis of genes associated with acute doxorubicin cardiomyopathy in mice. *Cardiovasc. Toxicol.*, 2015, 15 (4), pp. 377–393. DOI: 10.1007/s12012-014-9306-7.

37. Xu L., Jin L., Pan H., Zhang A., Wei G., Li P., Lu W. Deferiprone protects the isolated atria from cardiotoxicity induced by doxorubicin. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006, 27, pp. 1333–1339. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2006.00409.x.