ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Багмут И.Ю.
УДК 614.777:543.39:547.42

СОПРЯЖЕННОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ И ПРООКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПОДОСТРОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОЛИГОЭФИРОВ

Багмут И.Ю.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков

Нова група олігоефірів на основі окису етилену і пропилену абсолютно не вивчена, а наявні відомості за параметрами їх гострої токсичності не розкривають патофізіологічні основи розвитку структурно-метаболічних порушень гомеостатичної функції організму. Необхідність вивчення системно-антисистемних взаємодій за умов оцінки станів гомеостазу диктується, насамперед, їх важливістю в забезпеченні сталості внутрішнього середовища організму і прогностичною оцінкою можливого ризику розвитку дисфункції оксидантно-антиоксидантної системи, які формують мембранну патологію. Метою роботи було вивчення стану кооперативної взаємодії оксидантоантиоксидантної системи білих щурів, що піддавалися впливу олігоефірів в підгострому досліді, і обгрунтування критериально-значущих показників діагностики молекулярної патології. У роботі на 100 білих щурах (9 дослідних і 1 контрольна група, всього N=100) у підгострому досліді була вивчена дія малих субтоксичних доз нових хімічних речовин, які відносяться до простих поліефірів - Л-501-2-100, Л-1601–2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р». Використовувалися наступні дози: 1/10 LD_{50}, 1/100 LD_{50} і 1/1000 LD_{50}. Контрольна група тварин отримувала відповідні обсяги питної води. У крові та сироватці крові оцінювалася активність антиоксидантної і прооксидантної системи. Статистична обробка результатів дослідження здійснювалася з використанням t-критерію Стьюдента-Фішера. Відмінності між контролем та дослідом вважалися достовірними при рівні значимості p <0,05. Дослідження виявило суттєві зміни досліджуваних показників у щурів, що піддавалися впливу олігоефіров в дозах 1/10 і 1/100 LD_{50}. При 1/1000 LD_{50} ксенобіотики не чинили впливу на активність антиоксидантної та прооксидантної системи. Більш конкретно, виявлені підвищення вмісту 2,4-ДНФКГ на 78,5%; 38,9% і 561%; 2,4-ДНФКГ- 100,6%; 52,3% і 73,07%; шифових основ - 43,6%; 20,4% і 28,96%; ДК - 103,5%; 58,3% і 78,2%; малонового діальдегіду - 255,5%; 156,5% і 192,9%; а також активності АсАТ на 285,1%; 192,5% і 235,8%, АлАТ - 333,3%;229,6% і 296,3% γ -ГТ - 61,7%; 40,1% і 50,3%, відповідно під впливом Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» і Л-1601 -2-50 «Р» у порівнянні з показниками контрольної групи.Дослідження свідчать, що олігоефіри у 1/10 та 1/100 LD_{50} активують вільнорадикальні процеси, перекисне окислення ліпідів, активність системи анти радикального та антиперекисного захисту на тлі значного напруження адапатційно-пристосувальних механізмів. При більш високої дозі 1/10 LD_{50} олігоефіри приводять до інгибіції активності антиоксидантної системи та системи детоксикації ксенобиотиків за умов активації вільно радикальних процесів, перекисного окислення ліпідів. Таким чином, олігоефіри Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» та Л-1601-2-50 «Р» дозою 1/100 LD_{50} в умовах підгострої дії на білих щурів стимулюють в організмі вільнорадикальні (ВР) процеси, перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), активність системи антирадикального та антиперекисного захисту на тлі значної напруги адаптаційних механізмів. При більш високій дозі 1/10 LD50 олігоефіри інгібують активність антиоксидантної системи та системи детоксикації ксенобіотиків в умовах активації ВР процесів, ПОЛ, що свідчить про зрив адаптаційних механізмів і дисфункцію системно - антисистемних взаємодій оксидантної та антиоксидантної систем. При 1/1000 LD_{50} ксенобіотики не чинили впливу на активність антиоксидантної та прооксидантної системи у крові та сироватці крові білих щурів.

Ключові слова: ксенобіотики, оксидантний та антиоксидантний гомеостаз, білі щури, підгострий дослід.

Данная работа является фрагментом НИР ХНМУ «Вивчення механізмів біологічної дії простих поліефірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища», государственный регистрационный номер 0110U001812.

Введение

В условиях возросшей антропогенной химической нагрузки на биосферу одной из важнейших задач медицинской науки является диагностика ранних нарушений гомеостатической функции организма, обоснование механизмов развития экологически обоснованных патологических состояний и разработка методов их патогенетической коррекции [1 - 4]. В связи с этим актуальным является изучение патогенеза структурно-метаболических нарушений и выявление ведущих метаболических показателей на основе системно-антисистемной оценки состояний гомеостаза. Необходимость изучения системно-антисистемных взаимодействий диктуется, прежде всего, их важностью в обеспечении постоянства внутренней среды организ-

ма и прогностической оценкой возможного риска развития дисфункции оксидантно-антиоксидантной системы, которые формируют мембранную патологию. Анализ литературы [1 – 4] показал, что новая группа олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена совершенно не изучена, а имеющиеся сведения по параметрам их острой токсичности не раскрывают патофизиологических основ развития структурно-метаболических нарушений гомеостатической функции организма.

Исходя из вышесказанного, целью работы являлось изучение состояния кооперативного взаимодействия оксиданто-антиоксидантной системы у белых крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров в подостром опыте, и обоснование критериально-значимых показателей диагностики молекулярной патологии.

Материалы и методы исследования

Выбор новой группы олигоэфиров обоснован большими объемами производства, широким использованием и ассортиментом продукции на их основе в различных отраслях народного хозяйства и отсутствием прогностической оценки их потенциальной опасности для теплокровных животных и человека. В работе использовано три марки олигоэфиров: Л-501-2-100 (ацетали монометилового эфира полиоксиэтиленгликоля), Л-1601–2-50«Б» (бутилаллиловый эфир полиоксипропиленоксиэтиленгликоля) и Л-1601-2-50«Р» (ацетали монобутилового эфира полиоксипропиленоксиэтиленгликоля) с регламентированными физико-химическими свойствами. Наличие в молекуле олигоэфиров гидрофильных групп и гидрофобных радикалов обеспечивает им поверхностно-активные свойства, что является прогностически значимым при выборе и обосновании методов исследования. На основании результатов острого токсикологического опыта данные олигоэфиры относятся к умеренно- и малотоксичным соединениям, не обладающими кумулятивными свойствами. Среднесмертельные дозы (LD_{50}) для белых крыс были установлены на уровнях: 3,46; 3,85 и 5,17 г/кг массы животного, а коэффициенты кумуляции (Кк) на уровнях: 9,8; 9,17; и 7,13, соответственно для Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Программа исследования предусматривала проведение подострого токсикологического эксперимента на половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар массой 0,18-0,20 кг. Находясь в виварии в стандартных условиях содержания и кормления, животным ежедневно утром до кормления на протяжении 45 суток вводили перорально водные растворы изучаемых олигоэфиров внутрижелудочно с помощью металлического зонда. Использовались следующие дозы: 1/10 LD_{50}, 1/100 LD_{50} и 1/1000 LD_{50}. Контрольная группа животных получала соответствующие объемы питьевой воды. В эксперименте использовано 100 крыс. В девяти опытных и одной контрольной группе находилось по 10 животных (всего N=100). Эксперименты проводили при соблюдении требований биоэтики и принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Для оценки состояния оксидантно-антоксидантного гомеостаза после подострого воздействия олигоэфиров определялась интенсивность свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию конечных и промежуточных продуктов окисления белков и липидов на фоне изучения системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма. В сыворотке крови, общепринятыми биохимическими методами [5 - 7], определялись содержания карбонилированных белков – 2,4-динитрофенилальдогидразонов (2,4-ДНФАГ), 2,4-динитрофенил-кетогидразонов – 2,4-ДНФКГ, флюоресцирующих продуктов типа шиффовых оснований; диеновых конъюгатов (ДК); ТБК – активных продуктов; восстановленного глутатиона; сульфгидрильных групп [SH]; гаптоглобина; церулоплазмина, а также активности ферментов каталазы; супероксиддисмутазы (СОД); глутатионпероксидазы (ГП); глутатионтрансферазы (ГТ); аспарагиновой (АсАТ) и аланиновой аминотрансферазы (АлАТ), гамма-глутаматтрансферазы (ɣ-ГТ). Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с использованием t-критерия Стьюдента-Фишера. Различия между контролем и опытом считались достоверными при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение

Исследование выявило существенные изменения оценочных показателей у крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD_{50}. При 1/1000 LD_{50} ксенобиотики не оказывали влияния на активность антиоксидантной и прооксидантной системы – эта доза оказалась не значима для ниже приведенных выводов. Результаты изучения воздействия олигоэфиров в дозе 1/10 LD_{50} на состояние оксидантно-антиоксидантного гомеостаза представлены в таблиці 1. Как видим, ксенобиотики в сыворотке крови повышали в целом содержание 2,4 – ДНФАГ, 2,4 – ДНФКГ, шиффовых оснований, ДК, малонового диальдегида и активность ферментов АлАТ, АсАТ, ɣ-ГТ. На этом фоне отмечалось снижение уровней восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп, гаптоглобина, церулоплазмина и активности каталазы, СОД, ГП, ГТ. Более конкретно, выявлено повышение содержания 2,4-ДНФКГ на 78,5%; 38,9% и 56,1%; 2,4-ДНФКГ– 100,6%; 52,3% и 73,07%; шиффовых оснований – 43,6%; 20,4% и 28,96%; ДК – 103,5%; 58,3% и 78,2%; малонового диальдегида – 255,5%; 156,5% и 192,9%; а также активности АсАТ на 285,1%; 192,5% и 235,8%, АлАТ – 333,3%; 229,6% и 296,3%; ɣ -ГТ – 61,7%; 40,1% и 50,3%, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р» по сравнению с показателями контрольной группы.

При этом концентрации восстановленного глутатиона снижались на 69,24%; 58,9% и 51,3%; сульфгидрильных групп – 57,1%; 44,9% и 38,5%; гаптоглобина – 54,9%; 36,4% и 47,9%; церулоплазмина – 60%; 31,15% и 42,8%; уменьшались активности каталазы на 46,6%; 30,15% и 42,5%; СОД – 56,96%; 26,8% и 45,24%; ГП – 45,75%; 23,94% и 33,6%; ГТ – 60,03%; 45,13% и 55,24%, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Анализ полученных результатов обнаружил, что олигоэфиры в дозе 1/10 LD_{50} оказывают значительное воздействие на активацию свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, белков и ингибирование системы антирадикальной и антиперекисной защиты организма. Изучаемые ксенобиотики приводят к истощению активности антиоксидант-

ной системы и нарушению функции органов их детоксикации, в первую очередь, печени, что свидетельствует о срыве защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостаза.

Таблица 1

Подострое воздействие олигоэфиров при дозе 1/10 LD_{50} на показатели оксидантно-антиоксидантного гомеостаза в организме белых крыс

Показатели (сыворотка, кровь)	Группа наблюдения, M±m			
	Контроль	Л-501-2-100	Л-1601-2-50 «Б»	Л-1601-2-50 «Р»
2,4-ДНФАГ (ед.опт.плотн/1г белка, λ=370нм), сыворотка	26,5±2,4	47,30±3,5*	36,82±1,73*	41,35±2,68*
2,4-ДНФКГ (ед.опт.плотн/1г белка, λ=370нм), сыворотка	22,8±1,7	45,74±3,2*	34,73±2,65*	39,46±3,17*
Шиффовые основания (мкмоль/л), сыворотка	270,4±9,5	388,3±17,6*	325,6±12,8*	348,7±15,3*
Диеновые конъюгаты (мкмоль/л), сыворотка	20,3±1,6	41,32±3,60*	92,14±2,63*	36,18±2,74*
Малоновый диальдегид (мкмоль/л), сыворотка	4,95±0,53	17,6±1,4*	12,7±0,96*	14,5±1,23*
Восстановленный глутатион (мкмоль/л), кровь	2,340,16	0,72±0,05*	0,96±0,06*	1,14±0,12*
Сульфгидрильные группы (мкмоль/л), сыворотка	24,7±1,8	10,6±1,4*	13,6±1,7*	15,2±1,2*
Гаптоглобин (г/л), сыворотка	1,73±0,16	0,78±0,06*	1,1±0,08*	0,9±0,05*
Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка	2,15±0,23	0,86±0,05*	1,48±0,13*	1,23±0,10*
Каталаза (мкат/г Нв), кровь	7,3±0,62	3,9±0,25*	5,1±0,46*	4,2±0,35*
СОД (ЕД/ мл сыворотки·мин)	1,68±0,05	0,74±0,04*	1,23±0,07*	0,92±0,05*
ГП (мкмоль/мл сыворотки·мин)	9,4±0,58	5,10±0,48*	7,15±0,68*	6,24±0,53*
ГТ (нмоль/мл сыворотки·мин)	38,6±2,8	15,43±0,97*	21,18±1,14*	17,28±1,32*
АсАТ (мкмоль/л·час), сыворотка	0,67±0,05	2,58±0,32*	1,96±0,12*	2,25±0,18*
АлАТ (мкмоль/л·час), сыворотка	0,540,63	2,34±0,26*	1,78±0,16*	2,14±0,21*
ɣ-ГТ (мкмоль/л·час), сыворотка	1,75±0,14	2,83±0,32*	2,45±0,22*	2,63±0,19*

Примечание: – различия с контролем достоверные, p<0,05.*

При токсификации животных дозой 1/100 LD_{50} наблюдалась иная динамика оценочных показателей: все вещества усиливали свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов и активность системы антиоксидантной защиты (табл.2). Так, выявлено в сыворотке крови повышение содержания 2,4-ДНФАГ на 42,64%; 33,6% и 23,4%; 2,4-ДНФКГ – 52,26%; 35,1% и 41,6%; шиффовых оснований – 21,4%; 14,8% и 22,2%; ДК – 64,5%; 41,4% и 30,54%; малонового диальдегида – 145,9%; 93,9% и 136,4%; восстановленного глутатиона – 14,53%; 19,2% и 23,07%; сульфгидрильных групп – 19,43%; 15,8% и 27,5%; гаптоглобина – 46,8%; 52,02% и 60,1%; церулоплазмина – 44,2%; 27,9% и 33,02%; активность каталазы повышалась на 21,9%; 24,6% и 27,9%, СОД – 36,9%; 54,15% и 47,02%, ГП – 35,3%; 54,6% и 47,4%: ГТ – 17,4%; 20,5% и 16,13%, АсАТ – 101,5%; 117,9% и 135,8%, АлАТ – 118,5%;127,7% и 150% и ɣ - ГТ – 36%; 39,4% и 28,6%, соответственно под воздействием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» по сравнению с показателями референтной группы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне усиления свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов в организме опытных животных активированы антиокислительные механизмы и система детоксикации ксенобиотиков под влиянием дозы 1/100 LD_{50}, в то время, как при дозе 1/10 LD_{50} олигоэфиры вызывают ингибирование антиоксидантной и активацию прооксидантной систем.

Таблица 2

Влияние олигоэфиров на показатели оксидантно-антиоксидантного гомеостаза белых крыс в условиях подострого эксперимента при дозе 1/100 LD_{50}

Показатели (сыворотка, кровь)	Группа наблюдения, M±m			
	Контроль	Л-501-2-100	Л-1601-2-50 «Б»	Л-1601-2-50 «Р»
2,4-ДНФАГ (ед.опт.плотн/1г белка, λ=370нм), сыворотка	26,5±2,4	37,8±2,2	35,4±1,6*	32,7±2,1*
2,4-ДНФКГ (ед.опт.плотн/1г белка, λ=370нм), сыворотка	22,8±1,7	35,4±1,9*	30,8±2,4*	32,3±1,7*
Шиффовые основания (мкмоль/л), сыворотка	270,4±9,5	328,3±12,5*	310,4±15,6*	330,4±10,8*
Диеновые конъюгаты (мкмоль/л), сыворотка	20,3±1,6	33,4±2,8*	28,7±1,4*	26,5±2,10*
Малоновый диальдегид (мкмоль/л), сыворотка	4,95±0,53	10,7±0,84*	9,6±0,73*	11,7±1,3*
Восстановленный глутатион (мкмоль/л), кровь	2,34±0,16	2,68±0,14*	2,79±0,16*	2,88±0,21*
Сульфгидрильные группы (мкмоль/л), сыворотка	24,7±1,8	29,5±1,3*	28,6±1,10*	31,5±2,15*

Продовження таблиці 2

Гаптоглобин (г/л), сыворотка	1,73±0,16	2,54±0,18*	2,63±0,21*	2,77±0,17*
Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка	2,15±0,23	3,10±0,24*	2,75±0,15*	2,86±0,27*
Каталаза (мкат/г Нв), кровь	7,3±0,62	8,9±0,56*	9,10±0,74*	9,34±0,68*
СОД (ЕД/ мл сыворотки·мин)	1,68±0,05	2,73±0,24*	2,59±0,18*	2,47±0,22*
ГП (мкмоль/мл сыворотки·мин)	9,4±0,58	12,72±0,83*	14,53±0,95*	13,86±0,73*
ГТ (нмоль/мл сыворотки·мин)	38,6±2,8	45,32±2,4*	46,51±2,72*	44,83±1,97*
АсАТ (мкмоль/л·час), сыворотка	0,67±0,05	1,35±0,09*	1,46±0,13*	1,58±0,16*
АлАТ (мкмоль/л·час), сыворотка	0,54±0,03	1,18±0,07*	1,23±0,09*	1,35±0,14*
ɣ-ГТ (мкмоль/л·час), сыворотка	1,75±0,14	2,38±0,17*	2,44±0,21*	2,25±0,19*

Примечание: – различия с контролем достоверные, p<0,05.*

Выводы

1. Результаты проведенных исследований позволяют судить, что олигоэфиры Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р» в дозе 1/100 LD_{50} в условиях подострого воздействия на белых крысах способствуют стимуляции свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, активности системы антирадикальной и антиперекисной защиты на фоне значительного напряжения адаптационно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма.

2. При более высокой дозе 1/10 LD_{50} олигоэфиры приводят к ингибированию активности антиоксидантной системы и системы детоксикации ксенобиотиков в условиях активации свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, что свидетельствует о срыве адаптационных механизмов и развитии мембранной патологии при дисфункции системно-антисистемных взаимодействий оксидантной и антиоксидантной систем.

3. При 1/1000 LD_{50} ксенобиотики не оказывали влияния на показатели активности антиоксидантной и прооксидантной системы в крови и сыворотке крови белых крыс.

Литература

1. Щербань Н.Г., Жуков В.И., Мясоедов В.В., Капустник В.А. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ. – Харьков: «Раритеты Украины», 2012. – 120 с.
2. Жуков В.И., Зайцева О.В., Пивень В.И. и др. Фториды: биологическая роль и механизм действия. – Белгород, 2006. – 220 с.
3. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань Н.Г. и др. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоемов. - Белгород, 2001. – 442 с.
4. Жуков В.И., Попова Л.Д., Зайцева О.В. и др. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов. – Харьков: «Торнадо», 2000. – 438 с.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков плазмы крови человека. Методы ее определения / Е.Е. Дубинина [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1995. – Т.41, №1. – С. 24-26.
6. Rice-Evans C.A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research / C.A. Rice-Evans, A.T. Diplock, M.C.R. Symons. – London. N. Y.: Acad. Press, 1991. – 346 p.
7. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. проф. В.В. Мешкова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.