

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В ГОМОГЕНАТІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ МІДІ ТА СУБТОКСИЧНИХ ДОЗ СТЕАРАТІВ КАЛІЮ І НАТРІЮ

Токсична дія важких металів на організм тварин і людини зростає на фоні наявності у воді поверхнево-активних речовин. Метою даної роботи було встановити особливості перебігу вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту в організмі теплокровних тварин, а саме в печінці піддослідних щурів, при вживанні питної води із субтоксичними дозами стеаратів калію і натрію в комбінації з міддю. Аналіз усіх показників дає змогу стверджувати, що в гомогенаті печінки піддослідних щурів спостерігалася активація процесів вільнорадикального окиснення, інтенсивність якої залежала від концентрації стеаратів у питній воді. Більш виражені зміни були у тварин, які вживали воду зі стеаратом калію. Щодо антиоксидантної системи, то при дії стеарату калію відзначали її пригнічення, а при дії стеарату натрію – її активацію. При комбінації стеаратів з міддю зміни показників були більш вираженими.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стеарат калію, стеарат натрію, міді сульфат, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

ВСТУП. Забезпечення населення якісною питною водою є однією з глобальних проблем сучасності, які з кожним роком загострюються [1]. Одними з найнебезпечніших компонентів, що забруднюють навколишнє середовище, є сполуки важких металів (ВМ). До цієї групи належить і мідь, яка навіть у невеликій концентрації проявляє сильну токсичну дію на живий організм [2]. З одного боку, мідь є есенціальним елементом і тому повинна постійно надходити в живі організми для забезпечення нормального перебігу метаболічних процесів. Вона входить до складу цілої низки життєво важливих ферментів, таких, як: гексоксидаза, галактоксидаза, катехолоксидаза, аміноксидаза, супероксиддисмутаза (СОД), церулоплазмін, цитохром-с-оксидаза та ін. [3]. З іншого боку, мідь – це високотоксична речовина, яка посилює процеси вільнорадикального окиснення (ВРО) у тканинах [4].

Токсична дія ВМ на організм тварин і людини зростає на фоні наявності поверхнево-активних речовин (ПАР), які проявляють мембранотропну дію і відіграють роль прискорювачів ВРО [5].

В останні роки чимало досліджень присвячено процесам вільнорадикального пероксид-

© О. В. Лотоцька, 2016.

ного окиснення ліпідів (ПОЛ), які здатні суттєво знизити резистентність організму до впливу на нього несприятливих чинників зовнішнього та внутрішнього середовища. Для оцінки інтенсивності ПОЛ найчастіше проводять кількісне визначення дієнових кон'югатів (ДК), трієнових кон'югатів (ТК) та активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП). Вони призводять до пошкодження клітинних мембран і стінок судин, що є одним із провідних факторів розвитку запального процесу та його хронізації [6].

Метою даної роботи було встановити особливості перебігу вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту (АОЗ) в організмі теплокровних тварин, а саме в печінці піддослідних щурів, при вживанні питної води із субтоксичними дозами стеаратів калію і натрію в комбінації з міддю. Печінка, будучи основним місцем метаболізму хімічних сполук і біологічних компонентів, особливо зазнає їх шкідливого впливу. Стеарати належать до аніонних ПАР, що входять до складу синтетичних мийних засобів і широко використовуються більш ніж у 100 галузях народного господарства [7]. Токсичність стеаратів пов'язана з деструкцією їх в організмі на кислотний радикал і катіон металу, який в основному проявляє токсичну дію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 78 білих безпородних щурах-самцях масою 180–200 г. Групи відбирали методом рандомізації. Експерименти проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) і Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001).

Щури перебували на загальноприйнятому раціоні віварію в однакових умовах і відрізнялися лише за якістю питної води, яку вживали з автопоїлок. Тварини контрольної групи (К) вживали воду з міського водогону (6 щурів). Експериментальні групи (по 12 щурів) вживали питну воду з різною концентрацією стеаратів калію і натрію. Тварини 1-ї групи (StK1) вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 125,0 мг/дм³ (що дорівнювало максимально недіючій дозі (МНД) речовини), 2-ї групи (StK2) – 62,5 мг/дм³ (або 1/2 МНД), 3-ї групи (StK3) – 31,2 мг/дм³ (або 1/4 МНД), щури 4-ї групи (StNa1) вживали питну воду з вмістом стеарату натрію в кількості 125,0 мг/дм³ (що дорівнювало МНД речовини), 5-ї групи (StNa2) – 62,5 мг/дм³ (або 1/2 МНД), 6-ї групи (StNa3) – 31,2 мг/дм³ (або 1/4 МНД). Через 25 днів від початку експерименту кожен дослідну групу поділили на 2 підгрупи по 6 щурів, одній з яких було внутрішньошлунково введено міді сульфат у дозі 1/20 від ЛД₅₀. Тварини після цього ще 5 днів утримувалися в умовах досліді і продовжували вживати воду. Через 30 днів від початку досліді всіх щурів виводили з експерименту шляхом кровопускання під тіопентал-натрієвим наркозом.

Вміст ТБК-АП визначали в гомогенаті печінки за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [8], кількість ДК – за інтенсивністю поглинання світла гептановою фракцією [9]. Стан ферментної ланки антиоксидантної системи оцінювали за ак-

тивністю супероксиддисмутази, яку визначали за ступенем інгібування відновлення нітротетразолію синього [10], та активністю каталази (КТ), яку досліджували фотоколориметричним методом за інтенсивністю забарвлення комплексу, що утворюється при взаємодії пероксиду водню з молібдатом амонію [11].

Достовірність відмінностей між групами оцінювали із застосуванням непараметричного методу за U-критерієм Уїлкоксона (Манна-Уїтні) [12]. Математично-статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що при вживанні води з різною концентрацією стеаратів калію і натрію змінювались показники ПОЛ (рис. 1). Концентрація ТБК-АП у гомогенаті печінки тварин контрольної групи дорівнювала (1,18±0,03) мкмоль/кг. На 30 добу експерименту при вживанні води з різною концентрацією стеарату калію в гомогенаті печінки щурів 1-ї групи відмічали зростання концентрації ТБК-АП у 2,4 раза (p<0,01), 2-ї групи – в 1,6 раза (p<0,01) порівняно з контролем. При вживанні води з різною концентрацією стеарату натрію в гомогенаті печінки тварин 4-ї групи відзначали підвищення концентрації ТБК-АП у 2,2 раза (p<0,01), 5-ї групи – в 1,7 раза (p<0,01) порівняно з контролем. У щурів 3-ї і 6-ї груп концентрація показника була практично на рівні контрольних величин.

Концентрація ДК у гомогенаті печінки, як видно на рисунку 1, також збільшилася порівняно з контрольною групою, хоча дещо менше. Так, у 1-й групі показник зріс у 2,2 раза (p<0,01), а в 2-й – в 1,5 раза (p<0,01). У 3-й групі різниці з контрольною групою практично не було. Аналогічні зміни відмічали при вживанні води зі стеаратом натрію. У 4-й групі показник зріс у 2,2 раза (p<0,01), а в 5-й – в 1,5 раза (p<0,01). У 6-й групі

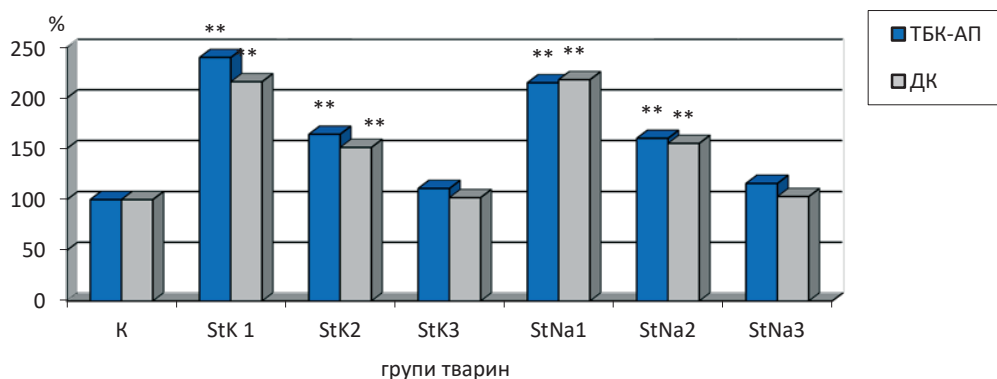


Рис. 1. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію.

Примітка. Тут і на рисунках 2–4: * – достовірність відмінностей показників дослідних і контрольної груп (* – p<0,1; ** – p<0,01).

різниця з контрольною групою була недостовірною.

Введення щурам міді сульфату на фоні вживання води з різною концентрацією стеаратів калію і натрію призвело до ще більшої активації процесів ПОЛ (рис. 2). Так, кількість ТБК-АП у щурів 1-ї групи зросла в 3,9 раза порівняно з контрольними величинами ($p < 0,01$), а у тварин 2-ї групи – у 2,5 раза ($p < 0,01$). У 3-й групі кількість ТБК-АП також перевищувала контрольні величини в 1,5 раза ($p < 0,1$).

Вміст ДК у гомогенаті печінки тварин усіх трьох дослідних груп перевищував як контрольні величини, так і показники щурів, яким не вводили міді сульфат. Так, у щурів 1-ї групи показники зросли в 3,5 раза, а 2-ї групи – в 3,0 раза. Навіть у 3-й групі вони в 1,6 раза перевищували контрольні величини, це може свідчити про те, що мідь змінює ступінь окиснення і токсичності стеарату калію, викликаючи посилення процесів ВРО в гомогенаті печінки.

У тварин, які вживали воду зі стеаратом натрію, спостерігали менш виражені зміни даних показників. Так, кількість ТБК-АП у щурів 4-ї групи, які вживали питну воду з найбільшою концентрацією стеарату натрію, після внутрішньошлункового введення міді сульфату зросла в 2,3 раза порівняно з контрольними величинами ($p < 0,01$), у тварин 5-ї групи – у 2,0 раза ($p < 0,01$). У 6-й групі кількість ТБК-АП також перевищувала контрольні величини в 1,6 раза ($p < 0,1$). Вміст ДК у гомогенаті печінки тварин усіх трьох дослідних груп перевищував як контрольні величини, так і показники щурів, яким не вводили мідь. Так, у щурів 4-ї групи показники зросли в 1,7 раза, а 5-ї групи – в 1,6 раза. Навіть у 6-й групі вони в 1,5 раза перевищували контрольні величини. Якщо порівняти між собою стеарати, то можна зробити висновок, що введення міді сульфату на фоні вживання води із субтоксичним

вмістом стеарату калію більш негативно впливає на печінку, ніж зі стеаратом натрію.

Причиною посилення ВРО може бути зниження активності системи АОЗ, яка здатна знешкоджувати активні форми кисню, що і є безпосередніми ініціаторами ПОЛ, а також пригнічення активності внутрішньоклітинних протеаз, які забезпечують деградацію білкових молекул. Проведені нами дослідження активності антиоксидантних ферментів підтвердили це.

У 1-й дослідній групі тварин, які вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 125,0 мг/дм³, спостерігали зниження активності КТ і СОД у 2,0 рази ($p < 0,01$), в 2-й групі щурів, які вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 65,5 мг/дм³, вміст КТ зменшився в 1,2 раза порівняно з контрольною групою, а СОД – в 1,5 раза. У 3-й групі обидва показники мало відрізнялися від контролю (рис. 3).

Вживання води з різною концентрацією стеарату натрію викликало активацію ферментів АОЗ. В 4-й групі рівень КТ у гомогенаті печінки збільшився в 1,4 раза, а СОД – у 2,0 рази ($p < 0,01$). В 5-й групі зміни були менш вираженими, хоча збереглася тенденція до зростання КТ, а кількість СОД була вищою в 1,4 раза порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). В 6-й групі показники мало відрізнялися від контрольних величин.

Введення щурам цих груп міді сульфату в дозі 1/20 від ЛД₅₀ призвело до більш виражених змін показників АОЗ. Так, у 1-й групі відмічали достовірне ($p < 0,01$) зниження обох показників в 1,8 раза (рис. 4).

У 2-й групі пригнічення показників було менш вираженим – активність КТ знизилася в 1,4 раза ($p < 0,1$), активність СОД практично не змінилася. У 3-й групі зміни були несуттєвими.

У тварин 4-ї групи, які вживали воду з найбільшою концентрацією стеарату натрію, на-

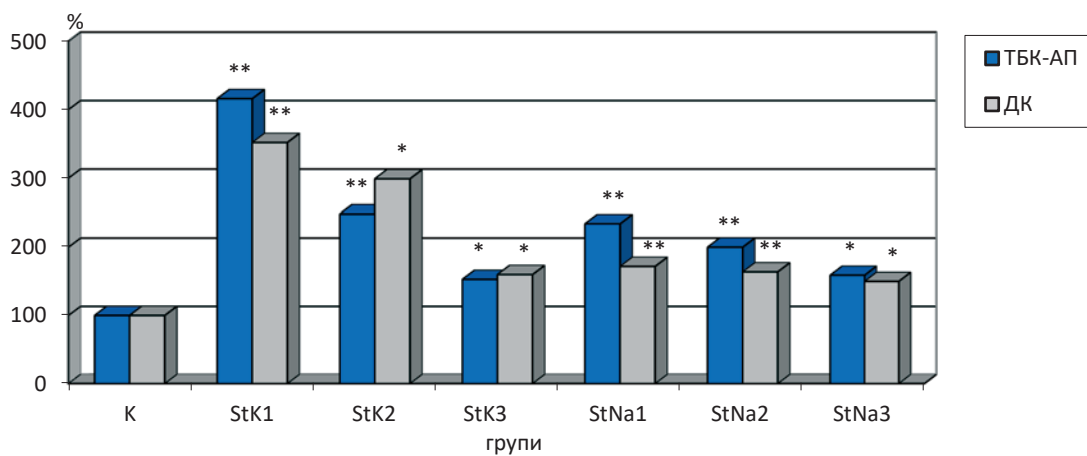


Рис. 2. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті печінки піддослідних тварин під дією субтоксичних доз міді на фоні вживання питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію.

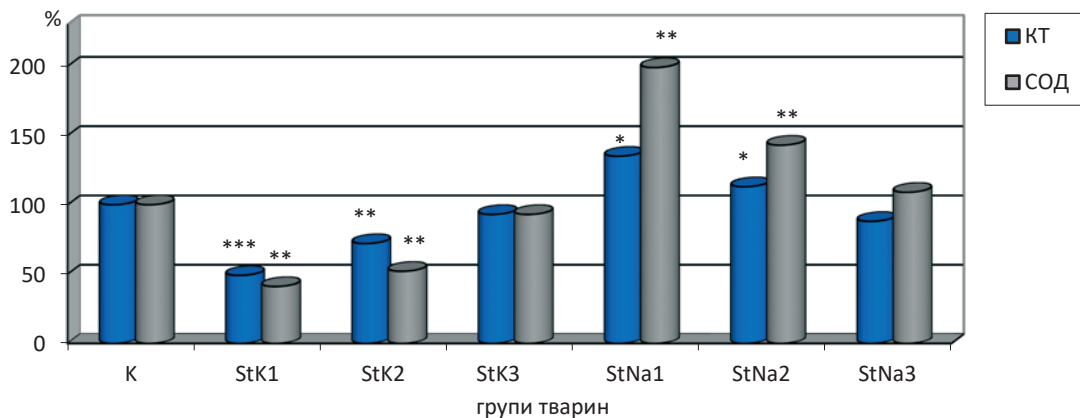


Рис. 3. Зміни показників антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію.

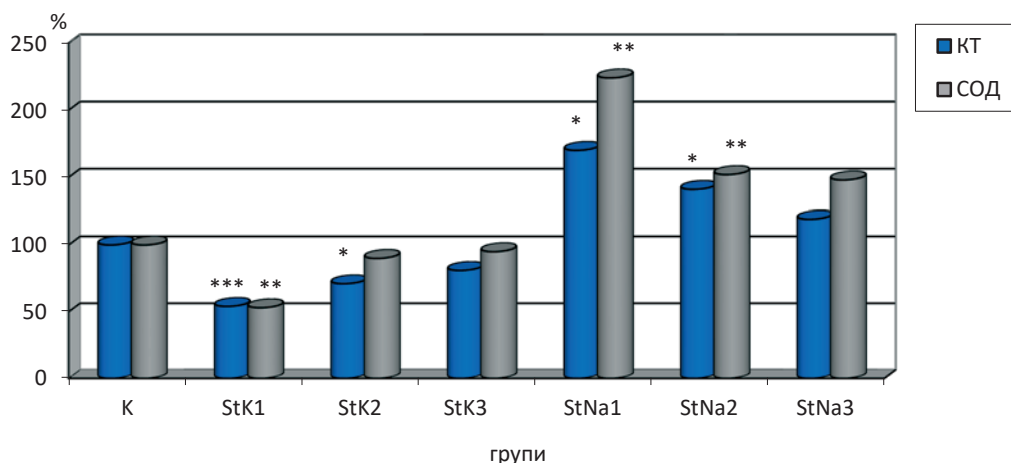


Рис. 4. Зміни показників антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки піддослідних тварин під дією субтоксичних доз міді на фоні вживання питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію.

впаки, відмічали зростання ферментів АОЗ. Рівень КТ у гомогенаті печінки зріс в 1,7 раза, а СОД – у 2,2 раза ($p < 0,01$). У 5-й групі зміни були менш вираженими, а кількість КТ підвищилася в 1,5 раза, СОД – в 1,5 раза порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). У 6-й групі показники мало відрізнялися від контрольних величин.

ВИСНОВКИ. У гомогенаті печінки піддослідних щурів спостерігали активацію процесів

вільнорадикального окиснення, інтенсивність якої залежала від концентрації стеаратів у питній воді. Більш виражені зміни були у тварин, які вживали воду зі стеаратом калію. Щодо антиоксидантної системи, то при дії стеарату калію відзначали її пригнічення, а при дії стеарату натрію – її активацію. При комбінації стеаратів з міддю зміни показників були більш вираженими.

Отримані результати вимагають подальшого вивчення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2011 році. – К. : Міністерство екології та природних ресурсів України, LAT & K, 2012. – 258 с.
2. Стусь В. П. Вміст важких металів у нирках мешканців Дніпропетровської обл. / В. П. Стусь // Довкілля та здоров'я. – 2009. – № 2 (49). – С. 20–25.

3. Агафонова Н. А. Контроль тяжелых металлов в объектах окружающей среды / Н. А. Агафонова, С. М. Близнюк. – К., 2001. – 26 с.
4. Приходько О. О. Вплив солей важных металлов на биохимические показатели крови щуров різних вікових груп / О. О. Приходько // Вісн. СумДУ. Серія "Медицина". – 2010. – № 2. – С. 42–47.

5. Современные аспекты медико-экологической проблемы загрязнения поверхностно-активными веществами источников водоснабжения / Н. Г. Щербань, В. А. Капустник, В. В. Мясоедов, К. М. Сокол // Казантип-ЭКО-2014. Инновационные пути решения актуальных проблем отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения : сб. тр. XXII Междунар. науч.-практ. конф. : в 2 т. (Харьков, июнь 2014 г.) / УкрНТЦ "Энергосталь". – Харьков : НТМТ, 2014. – Т. 1. – С. 251–255.

6. Нагорная Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки [Электронный ресурс] / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик // Здоровье ребенка. – 2010. – № 2 (23). – Режим доступа к журн. : <http://pediatric.mif-ua.com/archive/issue-12604/article-12762/>.

7. Мацієвська О. О. Еколого-гідрохімічна оцінка поверхневих водних об'єктів Львівської області / О. О. Мацієвська // Вісн. нац. ун-ту "Львівська політехніка". – 2011. – № 712. – С. 68–73.

8. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

9. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 63–64 с.

10. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.

11. Королюк М. А. Способ определения активности каталазы / М. А. Королюк // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 6–19.

12. Гельман В. Я. Медицинская информатика : практикум / В. Я. Гельман. – СПб. : Питер, 2001. – 480 с.

Е. В. Лотоцкая

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ГОМОГЕНАТЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ МЕДИ И СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ СТЕАРАТОВ КАЛИЯ И НАТРИЯ

Резюме

Токсическое действие тяжелых металлов на организм животных и человека возрастает на фоне наличия в воде поверхностно-активных веществ. Целью данной работы было установить особенности течения свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в организме теплокровных животных, а именно в печени подопытных крыс, при употреблении питьевой воды с субтоксическими дозами стеаратов калия и натрия в сочетании с медью. Анализ всех показателей позволяет утверждать, что в гомогенате печени подопытных крыс наблюдалась активация процессов свободнорадикального окисления, интенсивность которой зависела от концентрации стеаратов в питьевой воде. Более выраженные изменения были у животных, которые употребляли воду со стеаратом калия. Что касается антиоксидантной системы, то при воздействии стеарата калия отмечали ее угнетение, а при воздействии стеарата натрия – ее активацию. При комбинации стеаратов с медью изменения показателей были более выражены.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стеарат калия, стеарат натрия, меди сульфат, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита.

FEATURES OF FREE OXIDATION IN LIVER HOMOGENATES OF RATS IN COMBINED ACTION OF COPPER AND SUBTOXIC LEVEL OF STEARATE POTASSIUM AND SODIUM

Summary

Toxic effects of heavy metals on animals and humans is aggravating the presence of surfactants. The aim of our research was to identify the peculiarities of free radical oxidation and antioxidant protection in the use of drinking water with subtoxic doses of potassium and sodium stearates in combination with copper on the body of warm-blooded animals, such as the liver of experimental rats. Analysis of indicators allows asserting that in experimental rats liver homogenate observed activation of free radical oxidation, the intensity of which depended on the concentration of stearates in water. More pronounced changes were in animals that consumed water with potassium stearate. The action of potassium stearate observed inhibition of antioxidant systems while under the influence of sodium stearate – its activation. Changes in performance were more pronounced in combination stearates with copper.

KEY WORDS: potassium stearate, sodium stearate, copper sulfate, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Отримано 21.07.16

Адреса для листування: О. В. Лотоцька, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: lototska@tdmu.edu.ua.