

УДК 616-099:543.393/395:612.015.14:577.325:577.16

О.А. Наконечна

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У РОБІТНИКІВ ВИРОБНИЦТВА ПРОСТИХ ПОЛІЕФІРІВ

Харківський національний медичний університет МОЗ України (м. Харків)

Роботу виконано у Харківському національному медичному університеті згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біохімії у рамках теми: „Вивчення механізмів біологічної дії простих поліефірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища” (№ ДР 0110U001812).

Вступ. Науково-технічний прогрес поєднаний з розвитком хімізації народного господарства, яка стосується всіх його галузей. При цьому не завжди враховується ступінь забруднення навколишнього середовища при використанні хімічних сполук, дія яких може мати негативні наслідки для біосфери і становить потенційну небезпеку здоров'ю населення та робітників виробництва хімічних речовин. Зростаюче навантаження організму ксенобіотиками може призвести до дисбалансу основних інтегративних систем, а на рівні популяції людей матиме наслідки у розвитку спектру патологічних станів, які об'єднуються під однією етіологією та носять назву «екопатологічні захворювання».

У даний час для хімічних виробництв характерним є вплив на організм працюючих різних за своєю природою професійних факторів, які впливають на стан функціональних систем організму, викликаючи патологічні зміни. У робітників, які тривалий час контактують з чужорідними хімічними речовинами, зокрема простими поліефірами (ППЕ), може розвиватися синдром печінково-клітинної недостатності, вторинного імунодефіциту, розгортання процесів збудження на фоні пригнічення процесів гальмування, напруга у функціонуванні ендокринної системи [10,11].

ППЕ характеризуються великими об'ємами виробництва та широким використанням у різних галузях народного господарства [14]. Це, у свою чергу, диктує необхідність всебічного вивчення механізмів їхньої біологічної дії на організм людини та тварин.

Метою дослідження було вивчення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів шляхом визначення інтенсивності біохемілюмінесценції та фосфоресценції сечі, вмісту дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-активних продуктів у сироватці крові та дослідження активності системи антиоксидантного захисту у робітників виробництва ППЕ.

Об'єкт і методи дослідження. Визначення показників стану оксидантної та антиоксидантної систем організму проводили у 67 робітників НВО „Синтез ПАВ” (м. Шебекіно, Росія). Контрольну групу складали 29 науково-технічних робітників, які ніколи не мали прямого контакту зі шкідливими факторами хімічного виробництва. Вік робітників основної групи коливався від 38 до 50 років, у середньому - $43 \pm 5,4$ роки. Всі обстежені були особами чоловічої статі. Серед обстежува-

них основної групи - 29 чоловіків за професією – апаратчики синтезу, 21 – апаратчики перегонки, 17 – апаратчики окиснення та гідратації. Професійний стаж обстежуваних робітників коливався від 5 до 15 років (у середньому - $11 \pm 3,8$ роки).

Метод біохемілюмінесценції (БХЛ) базується на реєстрації електро-магнітних випромінювань оптичного діапазону різних біологічних об'єктів. Інтенсивність БХЛ вимірювали на медичному біохемілюмінометрі ХЛМЦ1-01 відповідно до загальноприйнятих методик [6]. Інтенсивність фосфоресценції проводили наступним чином: на кварцеву пластинку розміром 5×15 мм наносили 50 мкм сечі. При температурі 30°C краплі висушували у термостаті протягом 20 хвилин для створення твердої плінки. Пластину розміщали у фосфороскоп та вимірювали її фосфоресценцію. Як джерело збуджуючого світла використовували ртутну лампу ДРК-120. За допомогою монохроматора ДМР-4 визначали лінії збудження: 297, 313, 334, 365, 404, 434 нм. Ширина вихідної щілини монохроматора складала 2 мм, область спектральної чутливості ФЕУ - 130 (300-830 нм).

Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) у крові робітників досліджували спектрофотометричним методом, виходячи з гальмування швидкості відновлення нітросинього тетразолію у присутності феназин-метасульфату та нікотинамідного коферменту. Оптичну щільність зразків вимірювали на спектрофлуориметрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм [3]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали, виходячі зі швидкості розщеплення пероксиду водню [5]. Вміст ТБК-активних продуктів у крові оцінювали методом Федорової та співавт. [13], що базується на реакції між малоновим діальдегідом і тіобарбітуровою кислотою, яка за умов високої температури та кислого середовища відбувається з утворенням забарвленого триметинового комплексу з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість ТБК-активних продуктів розраховували, виходячи з молярного коефіцієнта екстинції $=1,56 \cdot 10^5$ моль $^{-1}$ см $^{-1}$. Вміст дієнових кон'югатів у крові визначали спектрофотометричним методом [4]. Кількість ДК розраховували, виходячи із коефіцієнта молярної екстинції $=2,2 \cdot 10^5$ моль $^{-1}$ см $^{-1}$.

Вміст відновленого глутатіону у крові визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 412 нм [12]. Активність глутатіон-редуктази (КФ 1.6.4.2) у крові визначали за методом [1] за кількістю окисненого глутатіону, що утворився при знешкодженні пероксиду водню в глутаті-

онпероксидазній реакції. У супернатанті визначали екстинкцію окисленого глутатіону при 262 нм на спектрофотометрі СФ-46. Активність ферменту розраховували з використанням калібрувального графіку [2]. Активність глутатіонтрансферази (КФ 2.5.1.18) оцінювали за методом І.Ф. Мецишена [8]. Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) у крові визначали за методом Моїна [9]. Мірою активності ферменту була швидкість окиснення глутатіону у присутності гідроперексиду третинного бутилу. Активність розраховували за допомогою коефіцієнта молярної екстинкції при довжині хвилі 412 нм, що складав 11400 з урахуванням розведення.

Аналіз отриманих результатів проводили з використанням загальноприйнятих методів статистичної обробки результатів медико-біологічних досліджень, параметричних методів перевірки гіпотез з використанням t-критерія Ст'юдента

з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант.

Результати досліджень та їх обговорення. Про стан ПОЛ у робітників виробництва ППЕ судили за інтенсивністю спонтанної БХЛ та фосфоресценції сечі і вмістом ДК та ТБК-активних продуктів у сироватці крові. Інтенсивність БХЛ сечі перевищувала контрольні показники майже на 350 імпульсів, що свідчить про стимулювання процесів вільнорадикального ПОЛ. На фоні підвищення інтенсивності БХЛ спостерігалася статистично достовірне підвищення й інтенсивності спонтанної фосфоресценції сечі майже у 2 рази (на 103%), порівняно з контролем (табл. 1).

Одержані результати свідчать про зростання кількості молекул, які перебувають у триплетному збуджуючому стані. Ці молекули є дуже реакційно здатними, мають більш тривалий час існування. Поява у довгохвильовій спектральній області збудження та зростання кіль-

Таблиця 1

Інтенсивність біохемілюмінесценції та фосфоресценції сечі робітників виробництва простих поліефірів ($M \pm m$, $n=67$)

Групи	Біохемілюмінесценція	Фосфоресценція
Контроль	960 \pm 47	2935 \pm 82
Робітники	1321 \pm 102*	5963 \pm 114*

Примітка: інтенсивність виражена в імпульсах; * - $p < 0,05$ відносно контролю.

кості молекул у триплетному стані свідчить про роз'єднання окислювального фосфорилування та тканинного дихання, що супроводжується розсіюванням значної кількості енергії у вигляді тепла. Ці дані дозволяють зробити припущення, що в основі впливу ППЕ на організм робітників лежать порушення енергетичного обміну, які пов'язані із функціонуванням мітохондріального електронно-транспортного дихального ланцюга біологічного окиснення. Крім того, результати реєстрації фосфоресценції сечі можуть свідчити про конформаційні зміни білкових молекул, наслідком яких є порушення структури та функцій клітин, їх дистрофічні зміни та виникнення гіпоксії. Збільшення інтенсивності БХЛ та фосфоресценції також пов'язано зі збільшенням у сечі білків і ліпідів. Це є наслідком підвищення

синтезу ліпо-протеїнів та уявляє собою реакцію печінки на зміни в мембранах клітин.

В обстежуваних робітників спостерігалися виражені зміни вмісту у сироватці крові продуктів ПОЛ на фоні зниження активності антиокислювальних ферментів – супероксиддисмутази і каталази, що також підтверджує порушення процесів ліпопероксидації (табл. 2).

Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові робітників підвищувався на 105%, а вміст дієнових кон'югатів – на 76%, порівняно з контрольною групою. При цьому активність СОД та каталази достовірно зменшувалася відповідно на 42% та 39%.

Розраховували інтегральний коефіцієнт (ІК) співвідношення про- та антиоксидантних властивостей крові обстежуваних робітників за фор-

Таблиця 2

Вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів та активність СОД і каталази крові робітників виробництва ППЕ ($M \pm m$, $n=67$)

Ферменти	Контроль	Робітники
Дієнові кон'югати	8,98 \pm 1,20	15,71 \pm 0,83*
ТБК-активні продукти	3,54 \pm 0,25	7,28 \pm 0,54*
Супероксиддисмутаза	27,6 \pm 2,4	15,8 \pm 1,2*
Каталаза	384,0 \pm 18,5	234,0 \pm 7,3*
Інтегральний індекс	2994,0 \pm 27,0	508,0 \pm 16*

Примітка: ^a – мкмоль/л; ^b - МО/мг Нв; * - $p < 0,05$ відносно контролю.

мулою: $IK = \text{СОД} \times \text{КТ} / \text{ТБК-активні продукти}$. При аналізі значення індексу, який сумарно відбиває потенціал крові, виявлено, що він суттєво знижувався в 6 разів порівняно з контрольною групою. В антиоксидантному захисті важлива роль належить глутатіоновій системі, що перш за все забезпечує життєдіяльність гепатоцитів. Показники стану системи глутатіону у сироватці крові робіт-

ників та групи умовно-здорових людей наведено в таблиці 3.

За умов тривалого впливу ППЕ на організм робітників спостерігалися суттєві зміни активності системи глутатіону, а саме зниження вмісту відновленого глутатіону (на 47%), функціональна недостатність ферментів редокс-системи глутатіону за рахунок зменшення активності ГП

Таблиця 3

Показники стану системи глутатіону в еритроцитах робітників виробництва простих поліефірів ($M \pm m, n=67$)

Показники	Контроль	Робітники
Відновлений глутатіона	1,42 \pm 0,08	0,68 \pm 0,03*
Глутатіонпероксидаза _{ab}	148,4 \pm 7,5*	112,5 \pm 8,6*
Глутатіонредуктаза с	33,1 \pm 1,8	23,2 \pm 1,5*
Глутатіонтрансфераза _{ab}	140,4 \pm 6,2	91,3 \pm 6,1*

Примітка: ^a - ммоль/л; ^b - ммоль відновленого глутатіону/хв-г Нв, ^c - НАДФ₂/хв-г Нв; * - $p < 0,05$ відносно контролю.

(на 24%), ГР (на 30%) та ГТ (на 35%), порівняно з контролем.

Висновки.

1. У робітників виробництва простих поліефірів спостерігаються зміни оксидантно-антиоксидантного гомеостазу: активується ПОЛ, про що свідчить підвищення інтенсивності біохемілюмінесценції та фосфоресценції сечі, вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів на фоні пригнічення активності антиоксидантної системи шляхом зниження активності СОД, каталази.

2. В еритроцитах обстежуваних робітників спостерігається зниження відновленого глутатіону на фоні виявленого раніше підвищення ТБК-активних продуктів.

3. Розбалансування окислювально-відновних перетворень білкових та небілкових компонентів тіолдисульфідної системи супроводжується затримкою нейтралізації та утилізації ТБК-активних продуктів.

4. Підвищення рівня ТБК-активних продуктів як показників ендogenous інтоксикації свідчить про зниження компенсаторних можливостей систем детоксикації у робітників виробництва простих поліефірів.

Перспективи подальших досліджень. Виявлені порушення в організмі робітників виробництва простих поліефірів є базовою основою для розробки комплексної програми профілактично-оздоровчих заходів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Власова С.Н. Активність глутатіонзависимих ферментів зритроцитів при хронічних захворюваннях печені у дітей / С.Н. Власова, Е.И. Шабуніна, І.А. Переслегіна // Лабораторное дело. – 1990. – № 8. – С.19-21.
- Геруш І.В. Стан глутатіонові системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової / І.В. Геруш, І.В. Мешищен // Вісник проблем біології та медицини. – 1998. – № 7. – С.10-15.

- Гуревич В.С. Сравнительный анализ двух методов определения супероксиддисмутазы / В.С. Гуревич, К.Н. Конторидинона // Лабораторное дело. – 1990. – № 4. – С. 44-47.
- Каухин А.Б. Экстракция липидов смесью гептан - изопранол для определения диеновых конъюгатов / А.Б. Каухин, Б.С. Ахметова // Лабораторное дело. – 1987. – №6. – С.335-337.
- Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С.16-19.
- Красовский Г.Н. Применение метода биохемиллюминесценции в санитарно-токсикологических исследованиях / Г.Н. Красовский, В.И. Жуков, Л.А. Бондаренко // Гигиена и санитария. – 1989. – №9. – С.35-39.
- Мешищен І.Ф. Глутатіонова система організму за норми та патології / І.Ф. Мешищен, Н.П. Григор'єва // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т.74, № 4а. – С. 103.
- Мешищен І.Ф. Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови / Мешищен І.Ф. // В кн.: Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135.
- Моин В.И. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.И. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – №12. – С. 724-727.
- Наконечна О.А. Стан центральної нервової системи за умов тривалого впливу простих поліефірів / О.А. Наконечна, В.І. Жуков, С.О. Стеценко // Укр. біохім. журнал (матер. X Укр. біохім. з'їзду). – Одеса. – 13-17 вересня 2010. – № 4 – С. 287.
- Наконечна О.А. Вплив простих поліефірів на вміст імуноглобулінів та цитокінів в плазмі крові щурів / О.А. Наконечна // Український медичний альманах. – 2010. – №3. – С. 134-136.
- Спектрофотометрический метод определения восстановленного глутатиона (GSH) в крови с реактивом Эллмана // Практикум по биохимии. Под ред. С.Е. Северина, Т.А. Соловьевой. – М.: МГУ, 1989. – С. 160-161.
- Федорова Т.Н. Реакции с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида крови методом флюориметрии / Т.Н. Федорова, Т.С. Коршунова, Е.Г. Ларский // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 25-28.
- Torchilin V.P. Poly(ethyleneglycol) on the liposome surface: on the mechanism of polymer-coated liposome longevity / V.P. Torchilin, V.G. Omelyanenko, M.I. Papisov // Biochem. Biophys. Acta. – 1994. – V. 1195, № 1. – P. 11-20.

УДК 616-099:543.393/395:612.015.14:577.325:577.16

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИ-ОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ РОБІТНИКІВ ВИРОБНИЦТВА ПРОСТИХ ПОЛІЕФІРІВ

Наконечна О.А.

Резюме. У робітників виробництва ППЕ спостерігаються зміни оксидантно-антиоксидантного гомеостазу, що підтверджується підвищенням вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, інтенсивності БХЛ та фосфоресценції сечі на фоні зниження активності СОД, каталази, ферментативної системи глутатіону та вмісту відновленого глутатіону.

Ключові слова: прості полієфіри, ТБК- активні продукти, дієнові кон'югати, СОД, каталаза, ферментативна глутатіонова система.

УДК 616-099:543.393/395:612.015.14:577.325:577.16

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У РАБОЧИХ ПРОИЗВОДСТВА ПРОСТЫХ ПОЛИЭФИРОВ

Наконечная О.А.

Резюме. У работников производства ППЭ наблюдаются изменения оксидантно-антиоксидантного гомеостаза., что подтверждается повышением содержания диеновых конъюгатов, ТБК-активных продуктов, интенсивностью БХЛ та фосфоресценции мочи на фоне снижения активности СОД, каталазы, ферментативной системы глутатиона и содержания восстановленного глутатиона.

Ключевые слова: простые полиэфирсы, ТБК-активные продукты, диеновые конъюгаты, СОД, каталаза, глутатионовая система.

UDC 616-099:543.393/395:612.015.14:577.325:577.16

INTENSIVITY of PEROXYDE OXIDATION of LIPIDS and ACTIVITY of the ANTIOXIDATIVE PROTECTION SYSTEM in WOKERS of POLYETHERS PRODUCTION

Nakonechnaya O.A.

Summary. The workers of polyethers productions are observed to have alterations of their oxidant-antioxidant homeostasis which is verified by increase in dienic conjugates and TBA-active products contents and also in urine biochemoluminescence and phosphorescence intensity on the background of decrease in superoxid-dismutase, catalase, glutathione enzyme system activities as well as reduced glutathione contents.

Key words: polyethers, TBA-active products, diene conjugates, superoxid-dismutase, catalase, enzyme systems of glutathione.

Стаття надійшла 25.01.2011 р.