

ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ НАДХОДЖЕННІ АМІННОЇ СОЛІ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

Українська медична стоматологічна академія, Полтава

У світі щороку реєструється більш ніж 1 млн отруєнь пестицидами, при цьому на кожні 500 випадків інтоксикації припадає 1 випадок із летальним кінцем. Більшість отруєнь пестицидами пов'язані з порушенням правил їх застосування, виготовлення робочих розчинів й нагромадженням залишкової кількості в об'єктах навколишнього середовища [1; 2]. Аналіз етіології та структури отруєнь у хворих за минулі 15 років підтверджує, що серед групових професійних інтоксикацій 47,3 % припадає на отруєння пестицидами на основі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д) [1]. При довготривалому впливі пестицидів — похідних 2,4-Д — на організм людини можуть виникати морфофункціональні зміни різних органів і систем [2; 3], що, на думку деяких авторів, зумовлено активацією вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) ліпідів [2; 4]. Вищевказане свідчить про раціональність використання для профілактики та лікування наслідків отруєння пестицидами цієї групи препаратів з антиоксидантною дією.

Метою даної роботи є вивчення впливу комплексу антиоксидантів на показники ВРПО ліпідів й активність антиоксидантних ферментів у щурів при хронічному надходженні аміної солі 2,4-Д.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на 5 групах щурів-самців лінії Вістар масою 170–190 г. Десять щурів увійшли до інтактної групи, яка протягом експерименту утримувалася в умовах віварію по 5 тварин у клітках (1-ша група); 2-га і 3-тя групи містили по 7 щурів-самців, яким протягом 15 діб вводили внутрішньошлунково пестицид 2,4-Д дозою 120 мг/кг. Третя група додатково отримувала комплекс антиоксидантів: α -токоферолу ацетат (0,01 г/кг маси), кверцетин (0,02 г/кг маси), аскорбінову кислоту (0,02 г/кг маси) внутрішньошлунково. Щурам-самцям 4-ї та 5-ї груп (по 14 тварин) вводили токсикант внутрішньошлунково протягом 30 діб такою ж дозою, а тваринам 5-ї групи додатково вводили комплекс антиоксидантів вищевказаною дозою протягом 30 діб.

Евтаназію щурів здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) шляхом взяття крові з серця до його зупинки. Проводили оцінку загальносоматичних показників — маси, стану шерсті, рухливості — та дослідження біохімічних показників. У крові визначали рівень спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ), для чого досліджували

фізико-хімічні властивості еритроцитів при інкубації в фосфатному буфері (рН — 7,4) протягом 4 год при температурі 37 °С. Рожеве забарвлення, яке реєструється, зумовлене гемоглобіном еритроцитів внаслідок перекисного окиснення фосфоліпідів мембран, що дозволяє зробити висновок про забезпеченість мембран еритроцитів гідрофобними антиоксидантами [5]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за здатністю адреналіну самоокиснюватись у лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикалу; в присутності СОД швидкість реакції знижується. Порівняння швидкості окиснення контрольної та дослідної проби дозволяє зробити висновок про активність ензиму [6]. Активність каталази печінки та мозку досліджували за властивостями перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [7]. У сироватці визначали активність церулоплазміну за реакцією окиснення *n*-фенілендіаміну, яка відбувається у його присутності [8]. Рівень ВРПО ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів [3], принцип методу базується на їх властивості поглинати світлове випромінювання в ультрафіолетовій ділянці спектра. У тканинах печінки та мозку досліджували рівень

ВРПО-продуктів, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [9]. Принцип ґрунтується на здатності малонового діальдегіду реагувати з ТБК з утворенням триметинового комплексу, який має рожеве забарвлення; інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації ТБК-реактантів. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Хронічне надходження пестициду 2,4-Д щурам-самцям обумовило зміни загальносоматичних і біохімічних показників крові та тканин. Твари-

ни 2-ї групи повільно набирали масу (з $180,0 \pm 1,8$ г до $189,0 \pm 2,2$ г, $P < 0,1$), у них знизився апетит, спостерігались агресивність, кволість, тьмяна волога шерсть. Аналіз біохімічних показників свідчить, що у тварин цієї групи вірогідно підвищився рівень проміжних продуктів ВРПО ліпідів — дієнових кон'югатів ($P < 0,001$) і ТБК-реактантів у тканинах печінки та мозку ($P < 0,001$). Знизилася забезпеченість еритроцитарних мембран гідрофобними антиоксидантами ($P < 0,001$) порівняно з показниками інтактних тварин (табл. 1). Вивчення активності антиоксидантних ферментів у крові та тканинах (печінка, мозок) тва-

рин 2-ї групи показало, що при хронічному надходженні токсиканту вірогідно знизилась активність досліджуваних ферментів — СОД, каталази та церулоплазмину — порівняно з інтактними тваринами. Лише в печінці спостерігалася тенденція до зниження активності каталази (див. табл. 1).

Тварини 3-ї групи на фоні хронічного введення 2,4-Д додатково отримували комплекс антиоксидантів. У дослідних щурів підвищився апетит, зросла маса тіла (середня маса до експерименту — $170,3 \pm 3,3$ г; наприкінці досліду — $193,2 \pm 3,1$ г ($P < 0,002$)). Введення комплексу антиоксидантів знизило рівень продук-

Таблиця 1

Вплив 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти на біохімічні показники в крові й тканинах щурів та їх корекція комплексом антиоксидантів протягом 15 діб

Біохімічні показники	Інтактні тварини (1-ша група)	Введення 2,4-Д (2-га група)	Введення 2,4-Д + комплекс антиоксидантів (3-тя група)
СГЕ, %	$7,2 \pm 1,9$	$23,6 \pm 2,8$ $P_{1-2} < 0,001$	$10,5 \pm 1,2$ $P_{1-3} < 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$
Дієнові кон'югати, ммоль/л	$3,80 \pm 0,56$	$10,06 \pm 1,02$ $P_{1-2} < 0,001$	$6,4 \pm 1,9$ $P_{1-3} < 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$
ТБК-реактанти, нмоль/г печінка	$79,5 \pm 5,7$	$191,0 \pm 18,4$ $P_{1-2} < 0,001$	$110,3 \pm 8,2$ $P_{1-3} < 0,002$ $P_{2-3} < 0,001$
мозок	$31,2 \pm 3,9$	$67,4 \pm 6,4$ $P_{1-2} < 0,001$	$44,04 \pm 3,33$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,002$
Каталаза, ммоль/(хв·г) печінка	$2,01 \pm 0,32$	$1,54 \pm 0,02$ $P_{1-2} < 0,1$	$2,25 \pm 0,04$ $P_{1-3} < 0,5$ $P_{2-3} < 0,05$
мозок	$0,204 \pm 0,016$	$0,104 \pm 0,013$ $P_{1-2} < 0,001$	$0,229 \pm 0,017$ $P_{1-3} < 0,5$ $P_{2-3} < 0,01$
СОД, % кров	$78,9 \pm 3,2$	$62,4 \pm 3,1$ $P_{1-2} < 0,002$	$73,21 \pm 1,70$ $P_{1-3} < 0,25$ $P_{2-3} < 0,01$
печінка	$71,2 \pm 3,5$	$54,29 \pm 4,90$ $P_{1-2} < 0,01$	$66,27 \pm 4,70$ $P_{1-3} < 0,25$ $P_{2-3} < 0,1$
мозок	$83,4 \pm 4,6$	$70,5 \pm 3,8$	$80,03 \pm 1,20$
Церулоплазмін, ОД/мл	$56,7 \pm 3,1$	$34,5 \pm 2,4$ $P_{1-2} < 0,001$	$48,5 \pm 2,4$ $P_{1-3} < 0,1$ $P_{2-3} < 0,002$

тів ВРПО ліпідів — рівень ТБК-реактивів вірогідно знизився у тканинах печінки ($P < 0,001$) та мозку ($P < 0,002$); також сповільнювалося зниження забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофобними антиоксидантами — рівень СГЕ у щурів 3-ї групи становив ($10,5 \pm 1,2$) %, тимчасомі як під впливом токсиканту він становив ($23,6 \pm 2,8$) % ($P < 0,001$). При цьому спостерігалось зниження рівня дієнових кон'югатів у крові: у щурів 3-ї групи він дорівнював ($6,4 \pm 1,9$) ммоль/л, а під впли-

вом токсиканту — ($10,06 \pm 1,02$) ммоль/л ($P < 0,05$). Вивчення активності антиоксидантних ферментів у щурів 3-ї групи довело, що активність СОД і каталази у тканинах печінки та мозку суттєво не відрізнялася від показників у інтактних тварин (див. табл. 1). Активність церулоплазміну збільшилася порівняно з показниками тварин 2-ї групи ($P < 0,002$).

При більш тривалому впливі токсиканту (4-та група) спостерігалась тенденція до зниження маси ($P < 0,1$), значне

випадання шерсті, зменшення рухливості.

Спостерігалось подальше зростання рівня СГЕ, дієнових кон'югатів, а рівень ТБК-реактивів знижувався порівняно з показниками тварин 2-ї групи, але вірогідно перевищував величини інтактних тварин (табл. 2). При дослідженні активності антиоксидантних ферментів виявлено двоякі зміни: рівень СОД у крові та тканині мозку надалі знижувався, як і рівень каталази у печінці; а рівень церулоплазміну, СОД у печінці та катала-

Таблиця 2

Вплив 2,4-дихлорфеноксицтової кислоти на біохімічні показники в крові й тканинах щурів та їх корекція комплексом антиоксидантів протягом 30 діб

Біохімічні показники	Інтактні тварини (1-ша група)	Введення 2,4-Д (4-та група)	Введення 2,4-Д + комплекс АО (5-та група)
СГЕ, %	$7,2 \pm 1,9$	$27,3 \pm 3,7$ $P_{1-4} < 0,001$	$8,45 \pm 1,87$ $P_{1-5} < 0,5$ $P_{4-5} < 0,001$
Дієнові кон'югати, ммоль/л	$3,80 \pm 0,56$	$12,3 \pm 1,4$ $P_{1-4} < 0,001$	$6,5 \pm 1,9$ $P_{1-5} < 0,1$ $P_{4-5} < 0,02$
ТБК-реактанти, нмоль/г печінка	$79,5 \pm 5,7$	$130,08 \pm 11,80$ $P_{1-2} < 0,002$	$99,3 \pm 4,1$ $P_{1-5} < 0,002$ $P_{4-5} < 0,02$
мозок	$31,2 \pm 3,9$	$49,5 \pm 4,2$ $P_{1-4} < 0,01$	$34,25 \pm 1,10$ $P_{1-5} < 0,05$ $P_{4-5} < 0,002$
Каталаза, ммоль/(хв·г) печінка	$2,01 \pm 0,32$	$1,37 \pm 0,1$ $P_{1-4} < 0,05$	$2,23 \pm 0,15$ $P_{1-5} < 0,5$ $P_{4-5} < 0,002$
мозок	$0,204 \pm 0,016$	$0,121 \pm 0,017$ $P_{1-4} < 0,001$	$0,194 \pm 0,014$ $P_{1-5} < 0,5$ $P_{4-5} < 0,05$
СОД, % кров	$78,9 \pm 3,2$	$57,3 \pm 3,7$ $P_{1-4} < 0,001$	$69,71 \pm 2,30$ $P_{1-5} < 0,05$ $P_{4-5} < 0,02$
печінка	$71,2 \pm 3,5$	$57,5 \pm 2,6$ $P_{1-4} < 0,01$	$66,4 \pm 4,3$ $P_{1-5} < 0,5$ $P_{4-5} < 0,05$
мозок	$83,4 \pm 4,6$	$59,2 \pm 3,7$ $P_{1-4} < 0,001$	$79,0 \pm 3,0$ $P_{1-5} < 0,25$ $P_{4-5} < 0,002$
Церулоплазмін, ОД/мл	$56,7 \pm 3,1$	$39,8 \pm 2,4$ $P_{1-4} < 0,001$	$49,29 \pm 2,23$ $P_{1-5} < 0,1$ $P_{4-5} < 0,02$

зи мозку підвищився порівняно з показниками тварин, які отримували пестицид протягом 15 діб (див. табл. 2).

Введення комплексу антиоксидантів на фоні 30-денного отримання пестициду (5-та група) знизило рівень дієнових кон'югатів ($P < 0,01$), ТБК-реактантів у тканинах печінки ($P < 0,02$), мозку ($P < 0,002$) порівняно з показниками тварин 4-ї групи (див. табл. 2). При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофобними антиоксидантами виявлена нормалізація показника СГЕ. Також спостерігалася нормалізація активності досліджуваних антиоксидантних ферментів — каталази в тканинах, СОД у печінці та мозку. Активність СОД у крові була вірогідно вищою, ніж у 4-й групі тварин ($P < 0,02$). Аналогічна динаміка спостерігалася щодо активності церулоплазміну (див. табл. 2).

Отже, при хронічному надходженні пестициду 2,4-Д у тварин зростала інтенсивність ВРПО ліпідів, що може бути зумовлено початком процесів окисного фосфорилювання з наступним порушенням енергетичного обміну та спрямуванням його на вільнорадикальний шлях, що, зрештою, зумовлює посилення β -окиснення жирних кислот і підвищення ВРПО ліпідів [10]. Це сприяє активації ВРПО ліпідів і зниженню антиоксидантної забезпеченості, на що вказує підвищення рівня СГЕ та зниження активності більшості вивчених антиоксидантних ферментів.

Введення комплексу антиоксидантів в умовах експерименту сприяло нормалізації біохімічних показників, відображуючих стан ВРПО ліпідів й активність антиоксидантних ферментів. Протективні властивості комплексу антиоксидантів зумовлені прямими антирадикальними властивостями

компонентів комплексу, а також можливістю функціонувати в складі антирадикального ланцюга системи антиоксидантного захисту [11]. Усуваючи пошкоджуючу дію агресивних продуктів ВРПО ліпідів й активних форм кисню, комплексний препарат запобігає розвитку морфофункціональних змін, які спостерігаються при хронічній інтоксикації 2,4-ДА. Слід зазначити, що, за даними деяких авторів, аналогічний комплекс антиоксидантів виявляє захисні властивості при хронічній інтоксикації пестицидами інших груп [12; 13].

Висновки

Отримані дані свідчать про доцільність застосування комплексу антиоксидантів в умовах хронічного надходження похідних 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти, особливо в період недостатнього надходження екзогенних антиоксидантів (зима — весна, вплив екологічних факторів, що, ініціюють ВРПО ліпідів та ін).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Острые и хронические интоксикации пестицидами, оценка интенсивности реализованного профессионального риска и прогнозирование характера течения* / Г. М. Балан, А. И. Иванова, С. И. Иванова и др. // Тези доп. 2-го з'їзду токсикологів України. — К., 2004. — С. 147-149.
2. *Острое групповое отравление гербицидом диканит 600 на основе 2,4-дихлорфеноксуксусной кислоты и меры профилактики* / Г. М. Балан, С. Г. Сергеев, Т. В. Мымренко и др. // Современные проблемы токсикологии. — 2003. — № 3. — С. 52-58.
3. *Воскресенский О. М., Дельва В. А., Дудченко М. А.* Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное применение противоатеросклеротических средств: Метод. рекомендации. — Полтава, 1982. — 26 с.
4. *Гришук М. І.* Вплив токсикантів кадмію та пестициду 2,4-Д на стан слизової оболонки тонкої кишки // Вісник проблем біології та медицини. — 2004. — Вип. 3. — С. 63-66.

5. *Спиричев В. В., Матиус И. И., Кронштейн Л. М.* Витамин Е // Экспериментальная витаминология. — Минск: Наука и техника, 1979. — С. 18-57.

6. *Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф.* Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на аутоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1976. — № 1. — С. 33-35.

7. *Метод определения активности каталазы* / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

8. *Колб В. Г., Камышников В. С.* Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — 311 с.

9. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 252 с.

10. *Цвєткова Я. А., Бобирьов В. М.* Показники вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у щурів при хронічному надходженні пестициду — аміної солі 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти // Актуальні проблеми сучасної медицини. — 2005. — № 1-2. — С. 6-9.

11. *Параніч А. В.* Молекулярні та фізіологічні дії вітаміну Е: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 1996. — 47 с.

12. *Применение силимарина и α -токоферола для коррекции метаболических и морфофункциональных нарушений в печени крыс при интоксикации полихлорированными бифенилами* / В. А. Мышкин, Р. Б. Ибатуллина, И. Л. Гуляева и др. // Токсикол. вестник. — 2004. — № 3. — С. 30-33.

13. *Островська Г. Ю., Петрова Т. А., Бобирьов В. М.* Перспективи використання природних антиоксидантів при хронічній інтоксикації похідними дітіокарбаматів // Тези доп. 2-го Нац. з'їзду фармакологів України. — Дніпропетровськ, 2001. — С. 185.

ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ НАДХОДЖЕННІ АМІННОЇ СОЛІ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

В експерименті на білих щурах моделювали хронічну інтоксикацію пестицидом аміною сіллю 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти протягом 15 та 30 діб. Описані біохімічні зміни у тканинах і крові пов'язані з активацією вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів. Застосування комплексу антиоксидантів гальмує інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів і підвищує активність антиоксидантних ферментів, що свідчить про доцільність використання цього препарату з метою лікування та профілактики наслідків токсичного впливу аміної солі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти.

Ключові слова: амінна сіль 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти, вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів, антиоксиданти.

THE INFLUENCE OF THE COMPLEX OF ANTIOXIDANTS ON INDICES OF THE FREE RADICAL PEROXYDATION OF LIPIDS AND THE ACTIVITY OF ANTIOXYDATIVE FERMENTS UNDER CHRONIC RECEIPT OF AMINE SOLT OF 2.4 DICHLORPHENOXYACETIC ACID

The chronic intoxication was modulated by pesticides amine solt of 2.4 dichlorphenoxyacetic acid administration for 15 and 30 days in white rats trials. Described biochemical changes in tissues and blood are connected with activation of the free radical peroxydation of lipids. The using of the complex of antioxidants decreases the intensity of the free radical peroxydation of lipids and increases the activity of antioxydative ferments, it indicates about the practicability of the using of this preparation with the aim of treatment and prevention of the consequences after toxic influence of amine solt of 2.4 dichlorphenoxyacetic acid.

Key words: amine solt of 2.4 dichlorphenoxyacetic acid, free radical peroxydation of lipids, antioxidants.

УДК 577.124+612.81+616.379-008.64

Ю. В. Цісельський, канд. мед. наук,
А. П. Левицький*, д-р біол. наук, проф.

ВПЛИВ ІНУЛІНУ НА СТАН ЗОРУ І ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ РЕТИНОПАТІЮ

Обласна клінічна лікарня,

*Інститут стоматології АМН України, Одеса

Майже 50–70 % хворих на цукровий діабет страждають тією чи іншою мірою від діабетичної ретинопатії, яка, залежно від клінічних проявів, поділяється на непроліферативну (НДР), препроліферативну (ППДР) та проліферативну (ПДР) форми [6; 7; 9], з яких найчастіше трапляються НДР і ПДР.

Відомо, що тяжкість перебігу цукрового діабету та його ускладнень суттєво залежить від стану мікробіоценозу кишечника [3; 11].

Одним із важливих регуляторів мікробіоценозу є пребіотики — речовини, які стимулюють ріст пробіотичної мікрофлори [12].

Як пребіотик часто використовують вуглевод інулін — поліфруктозид, в основі якого лежить β-фруктозидний зв'язок, що не розщеплюється ферментами макроорганізму, однак легко гідролізується пробіотичними бактеріями [5].

Метою даного дослідження стало вивчення впливу тривалого прийому інуліну на функціональний стан органу зору і низку біохімічних показників крові, які характеризують адаптаційно-трофічні процеси в організмі.

Матеріали та методи дослідження

Було досліджено 54 хворих (108 очей) на цукровий діабет

II типу з проявами діабетичної ретинопатії (НДР — 31 пацієнт, ПДР — 23 пацієнти). Пацієнтів було поділено на 2 групи: основну, з 34 хворих (НДР — 21 пацієнт і ПДР — 13 пацієнтів), яка отримувала базову терапію й інулін, і групу порівняння з 20 хворих (по 10 пацієнтів із НДР і ПДР), які отримували лише базову терапію. Базова терапія включала препарати, які нормалізують рівень глюкози крові (пероральні засоби й інсулін), вітаміни А, Е та С, аскорутин, доксіум, емоксипін, солкосерил, ліпоєву кислоту.

Стан органу зору та біохімічні показники сироватки крові визначали в день надхо-