

Я. А. Тарасенко

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ТКАНИНАХ КРОВІ ТА МОЗКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕСТИЦИДАМИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ СИНТЕТИЧНИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна

УДК 615.916'13-092.9-085.356

Я. А. Тарасенко

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ТКАНЯХ КРОВИ И МОЗГА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПЕСТИЦИДАМИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава, Украина

Среди множества экотоксикантов не последнее место занимают средства химической защиты растений — пестициды, а именно производные 2,4-феноксиуксусной кислоты (2,4-ДА).

Цель работы — изучить влияние синтетических антиоксидантов на биохимические показатели в тканях крови и мозга крыс при длительном воздействии аминной соли 2,4-ДА. В крови и тканях мозга исследовали уровень спонтанного гемолиза эритроцитов и продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, а также активность каталазы, СОД и церулоплазмينا.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения синтетических антиоксидантов мексидола и тиотриазолина с профилактической и лечебной целями при токсическом влиянии на организм пестицида аминной соли 2,4-ДА.

Ключевые слова: антиоксиданты, пестициды, свободнорадикальное окисление липидов.

UDC 615.916'13-092.9-085.356

Ya. A. Tarasenko

BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD AND BRAIN TISSUE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC INTOXICATION WITH PESTICIDES AND THEIR CORRECTION BY SYNTHETIC ANTIOXIDANTS

Higher Medical Educational Institution of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava, Ukraine

Recently the problem of ecological safety of the human is the more actual: intoxication with chemicals of anthropogenous origin increases. Means of chemical protection of plants, such as pesticides, namely derivatives of 2,4-phenoxyacetic acid (2,4-DA), are important among other ecotoxicants.

The purpose is to study influence of synthetic antioxidants (SA) on biochemical indicators in blood and brain of rats at long influence of amine salt 2,4-DA.

The experiment was conducted with 60 rat males were administered a toxicant (amine salt 2,4-DA) and synthetic antioxidants thiotriazoline and mexidol. In the blood and brain tissues it was examined the level of spontaneous haemolysis of erythrocytes and the products reacting with 2-thiobarbituric acid, and the activity of catalase, SOD and ceruloplasmin.

The results indicate the possibility of using synthetic antioxidants mexidol and thiotriazoline with the prophylactic and therapeutic purposes at the toxic effects of pesticide amine salt 2,4-DA on the organism.

Key words: antioxidants, pesticides, free radical oxidation of lipids.

Останнім часом усе більш актуальною є проблема екологічної небезпеки людини: підвищується частота отруєнь хімічними речовинами антропогенного походження. До ксенобіотиків, що надходять у процесі життєдіяльності до організму людини і тварин, здатних зумовлювати ураження різних органів і систем, належать промислові отрути, пестициди, канцерогени, синтетичні лікарські речовини, хімічна продукція побутового при-

значення тощо [9; 10]. За даними ВООЗ, у світі щороку нараховується понад 1,5 млн випадків отруєнь людей тільки зареєстрованими пестицидами. Крім гострих отруєнь, повідомляється також про випадки хронічної інтоксикації населення у багатьох країнах, у переліку яких не останнє місце посідає Україна [5]. Одними з найбільш поширених пестицидів, що застосовуються у сільському господарстві, є похідні 2,4-дихлорфеноксі-

оцтової кислоти (2,4-ДА). Деякі дані літератури свідчать про вільнорадикальний механізм їх ушкоджувальної дії, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів (АО) з лікувально-профілактичною метою [12].

Мета даної роботи — вивчення впливу синтетичних АО тиотриазоліну та мексидолу на біохімічні показники у тканинах мозку та крові щурів при хронічному надходженні аміної солі 2,4-ДА.



Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на чотирьох групах щурів-самців лінії Вістар масою 170–195 г: 15 щурів утворили інтактну групу, яку протягом експерименту утримували в умовах віварію по 5 тварин у клітках (1-ша група), і 15 щурів-самців, яким протягом 30 діб вводили внутрішньошлунково гербіцид 2,4-ДА дозою 120 мг/кг (2-га група). Щури 3-ї та 4-ї груп (по 15 тварин) на тлі введення токсиканта відповідно отримували АО: мексидол дозою 50 мг/кг і тіотріазолін дозою 100 мг/кг внутрішньошлунково.

Евтаназію щурів здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) шляхом взяття крові з серця до його зупинки. Оцінювали загальносоматичні показники: масу тіла, стан шерсті, рухливість, а також біохімічні дані. У крові визначали рівень спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ), для чого досліджували фізико-хімічні властивості еритроцитів при інкубації у фосфатному буфері (рН 7,4) протягом 4 год при температурі 37 °С. Рожеве забарвлення, яке реєструється, зумовлене гемоглобіном еритроцитів унаслідок перекисного окиснення фосфоліпідів мембран, що дозволяє судити про забезпеченість мембран еритроцитів гідрофобними АО [10].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за здатністю адреналіну самоокиснюватись у лужному середовищі з генерацією супероксид-аніонрадикалу; у присутності СОД швидкість реакції знижується. Порівняння швидкості окиснення контрольної та дослідної проби дає змогу судити про активність ензиму [2].

Рівень вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів [8]. Принцип методу базується на їх властивості поглинати світло-

ве випромінювання в ультрафіолетовому відрізку спектра. У тканинах мозку досліджували вміст продуктів, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [4]. Принцип ґрунтується на здатності малонового діальдегіду реагувати з ТБК з утворенням триметинового комплексу, який має рожеве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації ТБК-реактантів. Активність каталази мозку досліджували за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [7]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

За час проведення інтоксикації загинуло 2 тварини. При вивченні біохімічних показників крові виявлено, що вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові тварин 2-ї групи дорівнює (12,1±2,3) ммоль/л, тимчасом як у інтактних — (3,9±0,9) ммоль/л, тобто спостерігається вірогідне його зростання порівняно з показниками в інтактних тварин ($p_{1-2}<0,002$). При дослідженні ВРПО ліпідів у тканинах мозку визначено вірогідне підвищення ТБК-реактантів до (49,5±4,2) нмоль/г ($p_{1-2}<0,01$) і зростання рівня СГЕ до (27,3±3,7) % ($p_{1-2}<0,001$) порівняно з показниками в інтактних тварин. При вивченні активності антиоксидантних ферментів (АФ) у крові зареєстровано зниження активності СОД (57,3±3,7) % і церулоплазміну — (39,8±2,4) ОД/мл. У тканинах мозку спостерігається вірогідне зниження активності СОД порівняно з показниками в інтактних тварин у 1,4 разу ($p<0,001$), а каталази — у 1,7 разу ($p<0,001$).

Тварини 3-ї групи на тлі хронічного надходження токсиканту отримували мексидол протягом 30 діб. При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофоб-

ними АО виявлена нормалізуюча дія мексидолу. Рівень дієнових кон'югатів суттєво не відрізнявся від показників у інтактних тварин (табл. 1). Мексидол вірогідно нормалізував рівень ТБК-реактантів у тканинах мозку ($p_{2-3}<0,5$). При дослідженні рівня відновленого глутатіону спостерігалось вірогідне його підвищення у крові до (2,00±0,09) мкмоль/л порівняно з показниками у щурів, які отримували 2,4-ДА протягом 30 діб — (1,10±0,06) мкмоль/л ($p_{2-3}<0,01$), але він залишається вірогідно нижчим за показники в інтактних тварин — (2,76±0,14) мкмоль/л ($p_{1-3}<0,02$).

Активність каталази після введення мексидолу наближалася до показників у інтактних тварин (див. табл. 1). Аналіз активності СОД виявив її нормалізацію в усіх вивчених тканинах, у крові спостерігалось вірогідне підвищення її активності порівняно з показниками у щурів 2-ї групи ($p_{2-3}<0,05$), аналогічна динаміка зафіксована щодо активності церулоплазміну (див. табл. 1).

Щурам 4-ї групи на тлі 30-денного отримування пестициду 2,4-ДА вводили тіотріазолін. Тварини добре переносили препарат. Загибелі тварин не зареєстровано, щури задовільно набирали масу, мали здоровий вигляд. Введення препарату призвело до вірогідного зниження активності ВРПО — вміст дієнових кон'югатів у крові щурів 4-ї групи вірогідно зменшився порівняно з показниками в контрольній групі — до (6,4±1,3) ммоль/л ($p_{2-4}<0,002$) і наблизився до показників у інтактних тварин — (3,80±0,56) ммоль/л ($p_{1-4}<0,1$). Також спостерігалось вірогідне зниження ТБК-реактантів у тканинах мозку до (37,25±2,40) нмоль/г порівняно з показниками у тварин 2-ї групи; але порівняно з показниками в інтактних тварин він є вірогідно високим ($p_{1-4}<0,05$). При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофоб-



Таблиця 1

**Вплив 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти
на біохімічні показники щурів
та їх корекція антиоксидантами протягом 30 діб**

Біохімічний показник		Інтактні щури (1-ша група)	Введення 2,4-ДА (2-га група)	Введення 2,4-ДА + мексидол (3-тя група)	Введення 2,4-ДА + тіотріазолін (4-та група)
СГЕ, %		7,2±1,9	27,3±3,7 $p_{1-2}<0,001$	9,7±2,2 $p_{1-3}<0,5$ $p_{2-3}<0,002$	10,10±1,12 $p_{1-4}<0,25$ $p_{2-4}<0,001$
Дієнові кон'югати, ммоль/л		3,80± ±0,56	12,3±1,4 $p_{1-2}<0,001$	6,04±1,90 $p_{1-3}<0,25$ $p_{2-3}<0,01$	6,4±1,3 $p_{1-4}<0,1$ $p_{2-4}<0,002$
ТБК-реактанти, нмоль/г, мозок		31,2±3,9	49,5±4,2 $p_{1-2}<0,01$	36,02±1,87 $p_{1-3}<0,5$ $p_{2-3}<0,02$	37,52±2,40 $p_{1-4}<0,05$ $p_{2-4}<0,002$
Каталаза, ммоль/(хв·г), мозок		0,204± ±0,016	0,121± ±0,017 $p_{1-2}<0,001$	0,191± ±0,012 $p_{1-3}<0,5$ $p_{2-3}<0,02$	0,165± ±0,010 $p_{1-4}<0,02$ $p_{2-4}<0,02$
СОД, %	кров	78,9±3,2	57,3±3,7 $p_{1-2}<0,001$	66,28±2,90 $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}<0,05$	67,05±1,90 $p_{1-4}<0,01$ $p_{2-4}<0,05$
	мозок	83,4±4,6	59,2±3,7 $p_{1-2}<0,001$	74,8±3,9 $p_{1-3}<0,25$ $p_{2-3}<0,01$	79,0±3,0 $p_{1-4}<0,25$ $p_{2-4}<0,002$
Церулоплазмін, ОД/мл		56,7±3,1	39,8±2,4 $p_{1-2}<0,001$	49,2±2,3 $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}<0,002$	51,80±2,02 $p_{1-4}<0,25$ $p_{2-4}<0,01$

рофобними АО виявлено вірогідне зниження показника СГЕ до (10,10±1,12) % порівняно з тваринами 2-ї групи, що наближався до рівня СГЕ в інтактних тварин ($p_{1-4}<0,25$). При вивченні рівня відновленого глутатіону спостерігалось вірогідне його підвищення у крові до (2,32±0,10) мкмоль/л порівняно з показниками у щурів, які отримували 2,4-ДА протягом 30 діб — (1,10±±0,06) мкмоль/л ($p_{2-4}<0,001$). При цьому показник вірогідно нижчий, ніж у тварин інтактної групи, у якій він становив (2,76±±0,14) мкмоль/л ($p_{1-4}<0,02$). При вивченні активності АФ у крові тварин 4-ї групи виявлено вірогідне підвищення активності СОД у 1,2 разу та церулоплазміну в 1,3 разу порівняно з показниками в контрольній групі ($p_{2-4}<0,05$ та $p_{2-4}<0,01$ від-

повідно). При цьому активність СОД залишалася вірогідно нижчою за показники в інтактній групі ($p_{1-4}<0,01$), але активність церулоплазміну наближалася до показників 1-ї групи ($p_{1-4}<0,25$). У тканинах мозку теж спостерігалось вірогідне підвищення АФ порівняно з показниками в контрольній групі, а порівняно з показниками в інтактних тварин вірогідно нижчою залишилася активність каталази ($p_{1-4}<0,02$; див. табл. 1).

Ушкоджувальна дія пестициду 2,4-ДА проявляється активацією ВРПО ліпідів, яка може бути зумовлена розбігом процесів окисного фосфорилування з подальшим порушенням енергетичного обміну та переведенням його на вільнорадикальний шлях, що, зрештою, призводить до посилення β-окиснення жирних кислот і

підвищення ВРПО ліпідів, що, у свою чергу, сприяє зниженню антиоксидантної забезпеченості й активності АФ у тканинах мозку та крові. Ці дані дали підставу для вивчення препаратів з антиоксидантними властивостями в умовах 30-денного надходження токсиканту.

Введення тіотріазоліну запобігає смертності тварин у групах з ізольованою дією 2,4-ДА та знижує втрату маси щурів. Застосування препарату сприяло зниженню рівня продуктів ВРПО ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-реактантів), гальмуванню зниження антиоксидантної забезпеченості організму та нормалізації активності АФ (СОД, каталаза, церулоплазмін). Також під дією препарату спостерігається нормалізація рівня відновленого глутатіону у крові. На підставі власних досліджень і численних даних літератури [11], тіотріазолін виявляє мембраностабілізуючу дію, що лежить в основі зниження інтенсивності ВРПО ліпідів і підвищення активності системи антиоксидантного захисту (САЗ) на рівні мембран. Препарату також властива антиоксидантна, протизапальна, імуномодуюча, гепатопротекторна, протишемічна та репаративна дія. Захисний вплив тіотріазоліну в умовах введення токсиканту 2,4-ДА зумовлений його здатністю відновлювати ферментативну ланку САЗ (СОД, каталаза, церулоплазмін) і нормалізувати рівень відновленого глутатіону.

Введення мексидолу позитивно впливало на загальносоматичні показники тварин: щури добре переносили препарат, не виявляли агресивності. Під час експерименту збільшилася маса тварин, але на тлі 30-денного впливу токсиканту загинула одна тварина. Під час біохімічних досліджень виявлено зниження рівня показників ВРПО ліпідів у тканинах мозку та крові, стабілізації антиоксидантної забезпеченості



організму і відновлення активності АФ при 30-денному впливі. В основі антиоксидантної дії мексидолу лежить його здатність пригнічувати стадію ініціації ВРПО ліпідів, яка зумовлена утворенням активних форм кисню та появою каталітично активних іонів заліза. Також можлива пряма взаємодія з ліпофільними та водорозчинними радикалами у фосfolіпідних мембранах у точках радикалоутворення, що зменшує напруження ферментативної ланки антиоксидантного захисту і вплив на системи енергетичного забезпечення [1; 13]. При ураженні ксенобіотиками, а саме пестицидом 2,4-ДА, препарат стимулює функції печінки і підвищує стійкість мембран до процесів ВРПО ліпідів [3; 5].

Отримані результати підтверджують дані щодо протекторних властивостей похідних 3-оксипіридину — мексидолу та вітчизняного препарату тіотриазоліну, що дає можливість застосування синтетичних антиоксидантів мексидолу і тіотриазоліну з профілактичною та лікувальною метою при токсичному впливі на організм пестициду аміної солі 2,4-ДА.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беловол А. Н. Метаболическая терапия при ишемической болезни сердца у лиц пожилого возраста / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // *Ліки України*. – 2012. – № 5. – С. 51–55.
2. Брусов О. С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О. С. Брусов, А. М. Герасимов, Л. Ф. Панченко // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 1976. – № 1. – С. 33–35.
3. Воронина Т. А. Мексидол: основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия мексидола / Т. А. Воронина // *Фарматека*. – 2009. – № 6. – С. 28–31.
4. Гаврилов В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // *Вопросы медицинской химии*. – 1987. – Т. 33, № 1. – С. 118–122.

5. Забруднення питної води залишками пестицидів, нормування, методи контролю, оцінка ризику / М. Г. Проданчук, О. П. Кравчук, І. В. Лепешкін [та ін.] // *Сучасні проблеми токсикології*. – 2007. – № 2. – С. 15–18.

6. Ковальчук В. В. Влияние мексидола на неврологический дефицит, социально-бытовую адаптацию и синдромы неглекта и «отталкивания» у пациентов после инсульта / В. В. Ковальчук // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2011. – № 12. – С. 52–57.

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. Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное применение противоатеросклеротических средств : метод. рекомендації / О. Н. Воскресенский, В. А. Дельва, М. А. Дудченко. – Полтава : ПМСИ, 1982. – 26 с.

9. Мишина Т. Н. Влияние пестицидов и металлов переменной валентности на антиоксидантный статус у крыс / Т. Н. Мишина, Л. А. Чеснокова // *Успехи современного естествознания*. – 2013. – № 8. – С. 42–43.

10. Ракитский В. Н. К вопросу о патогенезе воздействия феноксисоединений на организм теплокровных / В. Н. Ракитский, Е. Г. Чхвиркия, Е. Б. Попова // *Успехи современной биологии*. – 2004. – Т. 124, № 5. – С. 461–467.

11. Шелест А. Н. Влияние лечения тиотриазолином на состояние перекисного окисления липидов и уровни иммуновоспалительных и вазоактивных эндотелиальных факторов у больных с хронической сердечной недостаточностью и helicobacter pylori-негативными гастропатиями / А. Н. Шелест, А. Н. Бойко, Я. К. Радзишевская // *Международный медицинский журнал*. – 2012. – № 1. – С. 46–49.

12. Эффективность тактивина и токоферола для коррекции гепатотоксического действия аминной соли 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты / З. А. Ахметченко, Н. А. Муфалазова, Л. Ф. Муфалазова [и др.] // *Казанский медицинский журнал*. – 2013. – Т. XCIV, вып. 5. – С. 651–655.

13. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial / V. Dzerve, D. Matisone, Y. Pozdnyakov, R. Oganov // *Sem. Cardiovasc. Med.* – 2010. – Vol. 16 (3). – P. 1–8.

REFERENCES

1. Belovol A.N., Knyazkova I.I. Metabolic therapy with heart disease in elderlies. *Liky Ukrainy* 2012; 5: 51-55.

2. Brusov O.S., Gerasimov A.M., Panchenko L.F. Influence of natural inhibitors of radical reactions on adrenalin autooxidation. *Bull. Exper. Biologii i Meditsyny* 1976; 1: 33-35.

3. Voronina T.A. Moxidol: basic neuropsychotropic effects and mechanism of action. *Farmateka* 2009; 6: 28-31.

4. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Mazhul' L.M. Analysis of methods for the determination of lipid peroxidation products in the blood serum test with thiobarbituric acid. *Voprosy med. khimii* 1987; 33 (1): 118-122.

5. Prodanchuk M.G., Kravchuk O.P., Leposhkin I.V., Medvedev V.I., Grinko A.P., Gminko P.G., Ivanova L.P. Contamination of water with the rests of pesticides, norming, control methods, risk estimation. *Suchasni problemy toksikologii* 2007; 2: 15-18.

6. Kovalchuk V.V. Moxidole influence on neurological deficit, social adaptation and syndromes neglect and "repulsion" in patients after stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii* 2011; 12: 52-57.

7. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.Ye. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoe delo* 1988; 1: 16-19.

8. Voskresensky O.N., Delva V.A., Dudchenko M.A. Methods of diagnosis of metabolic disorders in atherosclerosis and differentiated application of antisclerosis means [method. recomm.]. *Poltava, PMSI, 1982. 26 p.*

9. Mishina T.N., Chesnokova L.A. The effect of pesticides and transition metals antioxidant status in rats. *Uspekhi sovremennoy biologii* 2013; 8: 42-43.

10. Rakitsky V.N., Chhvirkiya E.G., Popov E.B. On the pathogenesis fenoxyc compound impact on warm-blooded. *Uspekhi sovremennoy biologii* 2004; 124 (5): 461-467.

11. Shelest A.N. Thyotriazolone therapy effect on the lipid peroxidation condition and levels of immune inflammatory and vasoactive endothelial factors in patients suffering from chronic heard failure and helicobacter pylori-negarive gastropathies. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal* 2012; 1: 46-49.

12. Ahmetchenko Z.A., Mufalazova N.A., Mufalazova L.F., Remezova A.D. Tactivin and tocopherol efficiency for correction of hepatotoxic action of amine salt of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Kazan Meditsin. Zhurnal* 2013; XCIV, iss. 5: 651-655.

13. Dzerve V., Matisone D., Pozdnyakov Y., Oganov R. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial. *Sem. Cardiovasc. Med.* 2010; 16 (3): 1-8.

Надійшла 20.06.2014

