

Фундаментальні дослідження

УДК: 616-091.18-008.9:661.177

**ВПЛИВ СУБТОКСИЧНИХ ДОЗ СКЛАДНИХ  
ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ НА ОСНОВІ ГЛІКОЛІВ  
НА ОКСИДАНТНУ ТА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМИ  
ОРГАНІЗМУ БІЛИХ ЩУРІВ**

*О. В. Сіренко<sup>1</sup>, В. І. Жуков<sup>2</sup>, Е. О. Кучеренко<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

<sup>2</sup> Харківський національний медичний університет, Україна

Вивчено стан оксидантної та антиоксидантної систем організму білих щурів, які в умовах підгострого експерименту отримували субтоксичні дози складних органічних сумішей на основі гліколів. Встановлено, що дія органічних речовин призводить до накоплення дієнових кон'югатів (ДК), малонного діальдегіду (МДА) у сироватці крові, зниження активності мембраноспецифічних ліпідзалежних ферментів, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонпероксидази, рівнів SH-груп у крові на тлі підвищення вмісту вітаміну С у надирниках та глутатіону у крові щурів. Отримані дані свідчать про здатність досліджуваних речовин активувати оксидантну систему, що у подальшому може призводити до виснаження антиоксидантної та ушкодження клітинної мембрани активними формами кисню.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гліколи, оксидантна, антиоксидантна система, гомеостаз, адаптація

**ВЛИЯНИЕ СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ  
НА ОСНОВЕ ГЛИКОЛЕЙ НА ОКСИДАНТНУЮ И АНТИОКСИДАНТНУЮ  
СИСТЕМУ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ КРЫС**

*Е. В. Сиренко<sup>1</sup>, В. И. Жуков<sup>2</sup>, Э. А. Кучеренко<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

<sup>2</sup> Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Изучено состояние оксидантной и антиоксидантной систем организма белых крыс, которые в условиях подострого эксперимента получали субтоксические дозы сложных органических смесей на основе гликолей. Установлено, что действие органических веществ приводит к накоплению диеновых конъюгатов (ДК), малонного диальдегида (МДА) в сыворотке крови, снижению активности мембраноспецифических липидзависимых ферментов, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионпероксидазы, SH-групп в крови, повышению содержания витамина С в надпочечниках и глутатиона в крови крыс. Полученные данные свидетельствуют о способности исследуемых веществ стимулировать оксидантную систему, что в дальнейшем может приводить к истощению антиоксидантной и повреждению клеточной мембраны активными формами кислорода.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гликоли, оксидантная, антиоксидантная система, гомеостаз, адаптация

**INFLUENCE OF SUBTOXIC DOSES OF COMPLEX ORGANIC MIXTURES,  
BASED ON GLYCOLS, ON OXSIDATION AND ANTIOKSIDATION SYSTEMS  
OF WHITE RATS ORGANISM**

*E. V. Sirenko<sup>1</sup>, V. I. Zikov<sup>2</sup>, E. A. Kucherenko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Kharkov medical academy of postgraduate education, Ukraine

<sup>2</sup> Kharkov national medical university, Ukraine

The state of the oxygenation and antioxygenation systems of white rats organism, which got the subtoxic doses of complex organic mixtures, based on the glycols, were investigated in subacute experiment. It was demonstrated, that the action of the organic substances causes the accumulation the diene conjugates (DC),

malondialdehyde (MDA) in the blood serum, decreases the activity of the membrane-specific lipid enzymes, glucose-6-phosphatdehydrogenase, glutathioneperoxyde, SH-groups of the blood, increases the vitamin C contents in the adrenal glands and the glutathione in the blood of rats. It was shown the ability of the investigated substances to stimulate the oxidation system, that can cause to the exhaustion of antioxidant system and damage the cellular membrane by the active forms of the oxygen.

**KEY WORDS:** glycols, oxidation, antioxidant system, adaptation

Своєчасне визначення патофізіологічних механізмів порушення гомеостазу при дії великої кількості ксенобіотиків оточуючого середовища є однією з актуальних задач сучасної профілактичної медицини. Вплив токсикантів на окислювально-відновлювальні процеси призводить до змін накоплення клітиною енергії у вигляді АТФ та включення кисню у різноманітні біологічні субстрати, у тому числі, метаболіти біотрансформації ксенобіотиків [1]. Визначення взаємозв'язку окислювально-відновлювальних та вільнорадикальних процесів у адаптації організму до навантаження ксенобіотиками важливе у дослідженні гомеостатичних механізмів саморегуляції і привертає увагу багатьох науковців [1, 2].

Дані літератури свідчать, що найчастішою причиною метаболічно обумовлених патологічних станів є порушення окислювально-відновлювальних процесів, в основі розвитку яких лежить активація вільнорадикальних реакцій (ВРО), які індують перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) і ушкодження клітинних мембран [3, 4]. Активація окислювальної системи факторами збудження супроводжується індукцією антиоксидантної системи і формує механізми адаптації для забезпечення гомеостатичної функції організму [4, 5]. Через потужний або тривалий у часі вплив на прооксидантну систему відбуваються зміни системно-антисистемних взаємодій і виникає дефіцит антиоксидантної системи, внаслідок чого порушуються захисно-приспосовні механізми [5]. Окислювально-антиоксидантна система є однією з найчутливіших і динамічніших у реакції на зміни у навколишньому середовищі, саме це обумовило доцільність її дослідження для визначення первинних змін, які відбуваються в організмі на електронному і молекулярному рівнях при навантаженні ксенобіотиками, задовго до розвитку порушень в інших системах [6].

Вивчення впливу вперше синтезованих найменш складних органічних сумішей на основі гліколів виконували у рамках пріоритетної науково-технічної теми

«Наукове обґрунтування біохімічної моделі структурно-метаболічних зрушень в організмі внаслідок впливу шкідливих чинників, як прогностичної основи донозологічних станів» (№ Держреєстрації 0199U001763).

**Метою** дослідження було визначення стану окислювальної та антиоксидантної систем організму білих щурів при дії субтоксичних доз багатоконпонентних органічних сумішей на основі гліколей.

## **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Підгострий експеримент тривалістю 60 днів проведено на 84 щурах популяції Вістар (самці і самиці), які щоденно отримували внутрішньошлунково 1/100 DL<sub>50</sub> охолоджувальної рідини 40 (ОР-40), охолоджувальної рідини 65 (ОР-65), гальмівної рідини «Роса» (ГР) та гідравлічної рідини (ГДР), що дорівнює 0,184 г/кг (ОР-40), 0,191 г/кг (ОР-65), 0,160 г/кг (ГР) та 0,117 г/кг (ГДР) маси тіла відповідно.

Контрольна група (11 щурів) складалася з інтактних тварин, які отримували по 2 мл водопровідної води. Дослідження виконували згідно з загальними етичними вимогами до експериментів, що проводять на хребетних тваринах [7].

Стан окислювальної та антиоксидантної систем оцінювали за вмістом первинних і вторинних продуктів активації ВРО — дієнових кон'югатів (ДК) та малонного діальдегіду (МДА) у сироватці крові щурів [8], сульфгідрильних груп за методом амперометричного титрування Асатіані (1969), вітаміну С у наднирниках за методом F. W. Birch et al., глутатіону та глутатіон-пероксидази [8]. У сироватці крові щурів визначали активність мембраноспецифічних ферментів — малатдегідрогенази (МДГ), лактатдегідрогенази (ЛДГ) за загальноприйнятими методами [9]. У тканині печінки визначали вміст аланінової та аспарагінової амінотрансфераз (АлТ, АсТ) [8]. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) реєстрували спектрофотометрично [8]. У сироватці крові досліджували активність креатинфосфокінази (КФК), лужної фосфатази (ЛФ) за кількістю

неорганічного фосфату ортофосфорної кислоти, вивільненого ферментативним гідролізом  $\beta$ -гліцерофосфату [9].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 4.5, результати визначали у вигляді середніх арифметичних та їх стандартних помилок, вірогідність різниці між величинами, що порівнювали, визначали за t-критерієм Ст'юдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Рівні ДК і МДА у сироватці крові щурів у підгострому експерименті досліджували з

метою визначення впливу складних органічних сумішей на процеси ВРО (табл. 1). Первинним наслідком активації ВРО є утворення у поліненасичених жирних кислотах подвійних зв'язків — ДК, зростання рівнів яких супроводжує виникнення структурно-метаболических порушень у ліпідному шарі клітинної мембрани. Вторинним продуктом активації ПОЛ є МДА, здатність якого суттєво ушкоджувати клітинну мембрану обумовлена взаємодією з білками, амінокислотами, ліпідами і нуклеотидами, що призводить до руйнування гідрофобного шару мембрани [10].

Таблиця 1

Рівні продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів під впливом 1/100 DL<sub>50</sub> складних органічних сумішей, (M ± m)

Органічні суміші	Дієнові кон'югати	Малоновий діальдегід
ГдР	4,81 ± 0,33*	1,93 ± 0,23*
ГР	5,25 ± 0,17*	2,73 ± 0,34*
ОР-40	4,52 ± 0,21*	1,56 ± 0,23*
ОР-65	5,05 ± 0,23*	2,39 ± 0,29*
Контроль	2,55 ± 0,16	0,83 ± 0,21

Примітка:

\* — різниця показників вірогідна, (p < 0,05).

В усіх випадках вплив 1/100 DL<sub>50</sub> органічних сумішей призводив до суттєвого перевищення показників активації ВРО, порівняно з контрольною групою тварин, що дозволяє припустити надмірну стимуляцію утворення АФК, наслідком якої є незворотні метаболическі порушення, що призводять до структурної дезорганізації клітинних мембран і виснаження компенсаторних механізмів. Особливо прогностично несприятливим було визначене підвищення концентрації МДА (максимально у 3,2 рази, p < 0,05), молекули якого здатні руйнувати цитоплазматичні мембрани, вміст ДК також підвищувався — максимально у 2,0 рази (p < 0,05).

Непрямо про стан клітинних плазматичних мембран свідчать рівні мембраноспецифічних ліпідзалежних ферментів, активність яких змінюється відповідно з накопленням перекисів у мембранах. У табл. 2 наведені результати дослідження динаміки активності ЛДГ, МДГ, КФК, АлТ, АсТ, ЛФ, яка дозволяє непрямо оцінити стабільність клітинних мембран в умовах навантаження органічними сумішами.

Вплив субтоксичних доз органічних сумішей обумовлював зниження активності ЛДГ, МДГ і КФК, що може свідчити про надмірне напруження процесів відновлення та виснаження системи дегідрогеназ. Віро-

Таблиця 2

Динаміка активності ліпідзалежних мембраноспецифічних ферментів у сироватці крові білих щурів під впливом 1/100 DL<sub>50</sub> складних органічних сумішей, (M ± m)

Речовини	Біохімічні показники, (мкат/мл)						
	ЛДГ	МДГ	КФК	АлТ	АсТ	ЛФ	Г-6-ФДГ, (мккат/л)
ГдР	44,3 ± 1,8	11,7 ± 0,9*	66,1 ± 2,3	0,75 ± 0,03	0,87 ± 0,01*	6,0 ± 0,05	34,7 ± 1,2*
ГР	27,2 ± 1,9*	15,4 ± 1,7	48,3 ± 3,6*	1,0 ± 0,02	1,4 ± 0,03*	8,8 ± 0,02*	30,9 ± 1,5*
ОР-40	33,8 ± 2,16*	16,8 ± 2,4	42,4 ± 3,3*	0,83 ± 0,06*	2,47 ± 0,03*	5,1 ± 0,6	32,5 ± 1,5*
ОР-65	35,4 ± 2,0*	13,2 ± 1,6*	43,1 ± 2,6*	0,78 ± 0,04*	0,44 ± 0,3	5,2 ± 0,2	29,8 ± 0,9*
Контроль	43,2 ± 1,8	17,4 ± 2,3	65,4 ± 2,7	0,67 ± 0,1	0,46 ± 0,1	5,4 ± 0,01	42,4 ± 0,8

Примітка:

\* — різниця показників вірогідна, (p < 0,05).

гідне підвищення рівнів АлТ і АсТ дозволяє припустити неврівноважений стан анаболічних і катаболічних процесів в організмі експериментальних тварин, активацію трансфераз, що каталізують кон'югацію ксенобіотиків та їх метаболітів у печінці.

Значний дисбаланс окислювально-відновлювальних процесів викликав зареєстроване зниження у сироватці крові щурів рівнів Г-6-ФДГ, яка є ключовим ферментом гліколізу і відновлювальних синтезів, а її показники мають досить постійні значення у крові та тканинах. Існують дані щодо адаптаційних змін в утилізації кисню при тканинній гіпоксії, до яких відносять напруження процесів безкисневого вивільнення енергії через гліколіз, що добре співвідноситься з отриманим в експерименті зниженням концентрації Г-6-ФДГ під впливом складних органічних сумішей [6, 10]. Від активності Г-6-ФДГ також залежить відновлення глутатіону, необхідного компоненту глутатіонзалежних ферментних систем, які забезпечують антиоксидантний захист — глутатіонпероксида-

зи, глутатіонредуктази, тому визначене експериментально зниження активності Г-6-ФДГ може бути наслідком незворотного алкілювання тіолових груп ферменту метаболітами органічних сумішей.

Динаміка біохімічних показників свідчила про надмірну активацію оксидантної системи, що обумовило доцільність дослідження стану антиоксидантного захисту у білих щурів, які отримували складні органічні суміші. Найбільш важливими є біологічні антиоксиданти, які у нормі виробляються у клітині, інколи потенціюють ефекти одного та локалізуються здебільшого у гідрофобних або гідрофільних компартментах клітин. Динамічна гомеостатична внутрішньоклітинна рівновага залежить від однакової швидкості утворення і зв'язування вільних радикалів [5].

У табл. 3 наведені результати дослідження вмісту SH-груп, глутатіону та глутатіонпероксидази у крові, вітаміну С у корі наднирників щурів, які отримували субтоксичні дози складних органічних сумішей (табл. 3).

Таблиця 3

**Вплив 1/100 DL<sub>50</sub> складних органічних сумішей на рівні показників антиоксидантної системи білих щурів, (M ± m).**

Показники	Контроль	ГдР	ГР	ОР-40	ОР-65
Кров: SH — групи (мг %)	67,7 ± 1,7	46,1 ± 1,79*	46,5 ± 2,0*	51,5 ± 1,30*	43,8 ± 1,72*
Глутатіон, (мг %)	4,9 ± 1,2	5,8 ± 0,31*	8,3 ± 0,5*	7,9 ± 1,18*	6,5 ± 0,9*
Глутатіон-пероксидаза (м.м.Г SH в 1 хв/л Э.М.)	43,1 ± 1,7	28,9 ± 0,35*	29,6 ± 0,4*	40,6 ± 1,37	30,4 ± 0,7*
Наднирники: Вітамін С, (мг %)	20,1 ± 0,7	61,07 ± 2,12*	49,6 ± 1,1*	25,9 ± 0,47	38,2 ± 0,51*

Примітка:

\* — різниця показників вірогідна, (p < 0,05).

Відома роль внутрішньоклітинних резервів глутатіону як у неферментативному антиоксидантному захисті, так і у складі глутатіонпероксидаз, які відновлюють перекиси та гідроперекиси до менш агресивних сполук і води [12]. Відзначають, що особливого значення у процесі адаптації набуває глутатіон, який є найбільш поширеним тіолом в організмі, при чому гама-глутамільна частина молекули цього трипептиду забезпечує внутрішньоклітинну структурну стабільність, а SH-група — функціональну [11, 12]. Печінка є провідним органом синтезу глутатіону, де після утворення у гепатоцитах, вільний трипептид дифундує крізь плазматичну мембрану у кров'яне русло, а

деяка його частина після кон'югації з ксенобіотиками і продуктами їх біотрансформації у складі жовчі екскретує з організму. Зареєстроване у підгострому експерименті підвищення рівнів глутатіону може бути сполучене з активацією його синтезу у відповідь на виниклу внаслідок дії органічних сумішей активацію ВРО. Але при тривалому надходженні до організму ксенобіотиків глутатіон використовується у процесах кон'югації з речовинами та їх метаболітами, трансформується в окиснену форму внаслідок детоксикації АФК та перекисів, що може призводити до незворотного вичерпання його резервів. Саме порушення у системі глутатіону призводять до зниження актив-

ності Г-6-ФДГ та глутатіонпероксидази, зареєстроване зменшення концентрації яких у крові білих щурів дозволяє припустити підвищення рівнів гідроксил-радикалів, які пригнічують активність ферментів. Вміст вітаміну С у тканинах непрямо віддзеркалює агресивність ксенобіотику — незначна стимуляція обумовлює прискорення біосинтезу і зростання концентрації вітаміну С, а зниження його рівнів свідчить про виснаження компенсаторних механізмів в умовах надмірного токсичного навантаження. Визначене вірогідне зростання концентрації вітаміну С у наднирниках щурів можна оцінити як компенсаційне напруження адаптаційних механізмів при навантаженні субтоксичними дозами органічних речовин, прояви активації біосинтетичних процесів, стимуляцію регенеративних і відновлювальних синтезів у відповідь на підвищену потребу у цьому антиоксиданті.

Процеси окислювального радикалоутворення і антиоксидантна активність є єдиною взаємозалежною динамічною оксидантно-антиоксидантною системою, вивчення якої дозволяє на молекулярному рівні оцінити структурно-функціональний стан клітини і цілісного організму, що обґрунтовує доцільність використання принципу системно-антисистемної взаємодії для оцінки гомеостатичної функції в умовах антропогенного навантаження.

Таким чином, отримані в експерименті дані свідчать, що тривалий вплив субтоксичних доз складних органічних сумішей на організм білих щурів призводив до різноспрямованих змін показників антиоксидантної системи і суттєвої активації оксидантної, у той же час відомо, що інгібіція антиоксидантної системи на тлі підвищення оксидативного стресу призводить до зриву захисно-присосовних механізмів і форму-

вання патології, яка не має зворотного розвитку, закінчується гіпоксією і загибеллю клітинних структур [13, 14]. Процеси окислювального радикалоутворення і антиоксидантна активність є єдиною взаємозалежною динамічною оксидантно-антиоксидантною системою, вивчення якої дозволяє на молекулярному рівні оцінити структурно-функціональний стан клітини і цілісного організму, що обґрунтовує доцільність використання принципу системно-антисистемної взаємодії для оцінки гомеостатичної функції в умовах антропогенного навантаження.

## ВИСНОВКИ

1. Вплив 1/100 DL<sub>50</sub> складних органічних сумішей на основі гліколів призводить до суттєвої активації оксидантної системи організму, що супроводжується вірогідним підвищенням рівнів ДК, МДА, АлТ, АсТ, ЛФ на тлі зменшення концентрації ЛДГ, МДГ, КФК та Г-6-ФДГ у сироватці крові білих щурів.

2. Дія субтоксичних доз органічних сумішей обумовлює виникнення різноспрямованих змін показників стану антиоксидантної системи організму щурів: вміст глутатіону у крові та вітаміну С у наднирниках підвищується на тлі вірогідного зниження рівнів глутатіонпероксидази та SH-груп у крові.

3. Тривалий вплив 1/100 DL<sub>50</sub> складних органічних сумішей на основі гліколів призводить до активації як оксидантної, так і антиоксидантної систем, стимулює процеси ВРО та ПОЛ.

Перспективою подальших пошуків у даному напрямку є поглиблене вивчення ролі інтегративних координуючих систем гомеостазу (нейромедіаторної, гуморальної) у формуванні механізмів адаптації організму до навантаження токсичними органічними речовинами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Щербань М. Г. Методичні аспекти використання методології оцінки ризику здоров'ю населення при впливі факторів навколишнього середовища в Україні та Росії / М. Г. Щербань, В. В. М'ясоєдов, О. О. Шевченко, В. М. Савченко // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна, серія : «Медицина», 2010. — № 898, Вип. 19. — С. 97—104.
2. Іскра Р. Я. Інтенсивність перекисних процесів і активність антиоксидантних ензимів у тканинах щурів за підвищеного рівня хрому в раціоні / Р. Я. Іскра, В. Г. Янович // Укр. біохім. журнал. — 2011. — Т. 83, № 3. — С. 91—98.
3. Бабанин А. А. Биохимические маркеры оксидантного стресса при эндотоксиновом поражении печени / А. А. Бабанин, А. Н. Захарова, Е. Л. Товажильская [и др.] // Экспериментальная і клінічна медицина. — № 1 (54). — 2012. — С. 44—48.

4. Цодікова О. А. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у дітей залежно від рівня резистентності та типу адаптаційних реакцій / О. А. Цодікова, Ю. В. Нікітченко // Медицина сьогодні і завтра. — № 3. — 2005. — С. 100—105.
5. Katsoulis K. Total antioxidant status and severity of community-acquired pneumonia: are they correlated? / K. Katsoulis // *Respiration*. — 2005. — V. 72, № 4. — P. 381—387.
6. Губский Ю. И. Влияние тиотриазолина, глицина, магния и их комбинации на ответ генома и показатели антиоксидантной системы в коре головного мозга крыс с церебральной ишемией / Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев, Е. Л. Левицкий [и др.] // *Сучасні проблеми токсикології*. — 2007. — № 3. — С. 25—31.
7. Резников О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / О. Г. Резников // *Ендокринологія*. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142—145.
8. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: [методические рекомендации] / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина; под ред. проф. В. Х. Хавинсона. — СПб: ИПК «Фолиант», 2000. — 104 с.
9. Ивахненко А. К. Методические указания к проведению анализа показателей ПОЛ у лабораторных животных / А. К. Ивахненко. — Харьков, 1998. — 7 с.
10. Nielsen F. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors / F. Nielsen, Bo. B. Mikkelsen, J. Nielsen [et al.] // *Clin. Chem.* — 1997. — Vol. 43, № 7. — P. 1209—14.
11. Гиранович А. В. Метаболическая активность гликолиза в сыворотке крови больных раком молочной железы / А. В. Гиранович // *Новости хирургии*. — 2008. — № 1. — С. 25—29.
12. Жаворонок Т. В. Участие системы глутатиона в редокс-регуляции нейтрофилов при внебольничной пневмонии и окислительном стрессе *in vitro* / Т. В. Жаворонок, Г. В. Петина, Ю. В. Стариков [и др.] // *Вятский медицинский вестник*. — 2007. — № 4. — С. 98—99.
13. Guengerich F. P. Cytochrome P450 and chemical toxicology / F. P. Guengerich // *Chem. Res. Toxicol.* — 2008. — Vol. 21. — P. 70—83.
14. Griffiths H. R. Antioxidants and protein oxidation / H. R. Griffiths // *Free Radic. Res.* — 2000. — Vol. 33, Suppl. 5. — P. 48—57.