



УДК 615.275.4.015.4

Б. М. Галкін, І. Є. Барінова, В. Е. Осетров, Т. О. Філіпова

СЕЛЕНОРГАНІЧНІ ТА СЕЛЕННЕОРГАНІЧНІ СПОЛУКИ ЯК ПРЕПАРАТИ ВИБОРУ ПРИ ТОКСИЧНОМУ НАБРЯКУ ЛЕГЕНІВ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Швидке зростання темпів промислового виробництва протягом останнього сторіччя, широке впровадження у народному господарстві та побуті величезної кількості ксенобіотиків призвели до збільшення кількості хвороб, пов'язаних з інтоксикаціями.

Основними об'єктами ушкодження стають нервова тканина, органи дихання та кров. З деякими ксенобіотиками стикається лише обмежене коло людей, але більшість техногенних сполук становлять загрозу для здоров'я населення в цілому. Постійний вплив діоксиду азоту, наприклад, призводить до тяжких, а іноді необоротних змін органів дихання, інвалідизації, а у разі тяжких інтоксикацій — до смерті. Основною ураження стає оксидантний стрес.

Проте знайти універсальний засіб, який би купірував цей стрес і не викликав побічних ефектів, досі не вдається. Немає однозначної відповіді, що ефективніше: синтетичні чи природні антиокиснювачі. Обґрунтування ролі антиоксидантів як захисного, профілактичного чи лікувального засобу при широкому спектрі патологічних станів із різким по-

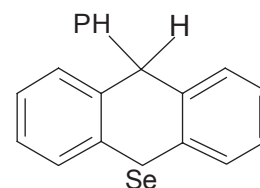
силенням вільнорадикального окиснення вперше здійснено Б. М. Тарусовим [1]. Антиокиснювачі біогенного походження не порушують і не гальмують біологічного ферментативного окиснювання, що є основою біоенергетики. До них належать цистеїн, глутатіон тощо. Синтетичні антиокиснювачі — це антибіотики, амінокислоти та їх різні модифікації (L-аргінін, ацетилцистеїн). Необхідно відзначити, що синтетичні антиоксиданти справляють побічні ефекти при значно менших дозах, ніж природні.

Метою нашої роботи було вивчення здатності сполук селену здійснювати захисний вплив при токсичному набряку легенів, викликаному діоксидом азоту, завдяки їх антиокиснювальним властивостям.

Матеріали та методи дослідження

Усі дослідження були проведені на мишах-самцях лінії СТВА масою 15–18 мг, що утримувалися в стаціонарних умовах віварію. Для створення моделі токсичного набряку легенів використовували камеру проточного типу об'ємом

0,1 м³. Взяття проб для контролю концентрації діоксиду азоту проводили без розгерметизації камери. Концентрацію NO₂ визначали хімічним методом з використанням реактиву Гріса — Глосвая [2] за калібрувальною кривою. Сполуки, що вивчалися, вводили мишам внутрішньочеревинно, однократно за 20 хв до обробки NO₂. Для скринінгу були обрані селеніт натрію та селеноксантен (9-феніл-симетричний октагідроселеноксантен). Брутто формула C₁₉H₂₂Se.



Тварини утримувалися у камері протягом 60 хв при концентрації діоксиду азоту 600–800 мг/м³. При даних концентраціях кількість загиблих становила 60–80 % у групі. Досліджували первинну антитоксичну активність, для чого розраховували імовірність смерті у відсотках, співвідношення сириї маси легенів до маси тіла (ЛК), коефіцієнт гідратації (КГ), сухий залишок, збільшення кровонаповнення (ПКЛ), коефі-



цієнт інтенсивності летальності (коефіцієнт Капуссінера) [3]. Визначали дозову залежність між концентрацією NO₂ і летальністю експериментальних тварин [4]. Для проведення біохімічних досліджень концентрацію NO₂ у камері підтримували в межах 200–400 мг/м², що спричинило 20–40%-ну летальність експериментальних тварин. Визначали вміст аскорбату [5], відновленого глутатіону [6], глутатіонредуктази [7], глутатіонпероксидази [8] у легенях. Активність перекисного окиснювання ліпідів (ПОЛ) визначали за методом [9]. Статистичну обробку результатів проводили методом середньої арифметичної та її середньої квадратичної помилки за критерієм вірогідності Стьюдента [10].

Результати дослідження та їх обговорення

Селен входить до складу ферментів форміатдегідрогенази, гліциноредуктази, глута-

тійонпероксидази і розташовується у активному центрі. Завдяки здатності замінити сірку, він може зв'язуватися з вільним цистеїном і включатися в білки. У живих організмах селен присутній у вигляді комплексів із низько- та високомолекулярними білками. Встановлено, що попереднє введення селеніту натрію дозами 0,5–2,5 мг/кг маси тіла частково захищає тварин від загибелі (табл. 1). Так, при першій дозі речовини ПЛ знижується на 30 %, при другій — на 50 %. Збільшення дози сполуки (у 5 разів) викликало зворотний ефект — відсоток летальності збільшувався, що, на нашу думку, пов'язано з токсичністю самої речовини. Коефіцієнт Капуссінера залежно від дози зростав у 3,2; 3 і 1,5 рази відповідно. На показники набряку препарат істотно не впливав. Вміст ЕД₅₀ становив (1,0±0,3) мг/кг маси тіла.

Дослідження, проведені на різних концентраціях NO₂, по-

казали, що ЕД₅₀ селеніту натрію змінював концентрації Cl₁₆, Cl₅₀, Cl₈₄ у 1,5; 1,4 і 1,4 рази відповідно, а коефіцієнт ефективності дорівнює 1,43. Селеноксантен практично не впливав на летальність експериментальних тварин, але зменшував рівень КГ на 23 % порівняно з інтактним контролем. Коефіцієнт Капуссінера зростав у 1,1–1,7 рази залежно від дози речовини. Введення цієї сполуки спричинило зміну показника NO₂, що викликають Cl₁₆, Cl₅₀, Cl₈₄, а КЕ при дозі 1,0 мг/кг маси тіла становив 1,19, що вказувало на незначний захисний ефект. При вивченні антиоксидантних властивостей запропонованих сполук потрібно досліджувати процеси ПОЛ і всі зміни, пов'язані з цим механізмом. Їх можна підрозділити на структурні та функціональні, ферментативні й неферментативні.

У табл. 2 наводяться дані щодо впливу досліджуваних

Таблиця 1
Вплив селеніту натрію і селеноксантену на набряк легень у мишей, викликаний діоксидом азоту, мг/кг, M±m; n=10

Показник	Контроль	Селеніт Na			Селеноксантен		
		0,5	1,0	2,5	0,5	2,5	10
Летальність, %	90	60	40	100	60	70	100
ЛК	14,8±0,7	17,1±1,1	15,8±1,2	18,5±0,6	17,4±0,7	18,3±1,6	17,8±1,1
КГ	7,1±0,2	6,7±0,5	7,0±0,4	7,4±0,3	6,6±0,3*	7,0±0,4	7,1±0,3
ПКЛ	2,5±0,2	2,1±0,5	2,4±0,4	2,8±0,3	2,0±0,3*	2,4±0,4	2,5±0,5
Cl ₁₆ , мг/м ³	350±35	—	531±47*	—	450±54	—	—
Cl ₅₀ , мг/м ³	569±62	—	813±94*	—	675±76	—	—
Cl ₈₄ , мг/м ³	738±84	—	1025±150	—	850±80	—	—
До еф.	—	—	1,43	—	1,19	—	—
До кап.	0,28	0,89	0,84	0,43	0,96	0,66	0,41

Примітка. У табл. 1–3: * — вірогідність розбіжностей при P≤0,05.

Таблиця 2
Вплив селеновмісних сполук на інтенсивність ПОЛ у легенях мишей у нормі та при дії NO₂, нмоль/(мг·хв), M±m; n=6–8

Варіант	Доза, мг/кг	Спонтанне ПОЛ		Аскорбатзалежне ПОЛ		НАДФН-залежне ПОЛ	
		Інтакт.	NO ₂	Інтакт.	NO ₂	Інтакт.	NO ₂
Контроль	—	1,31±0,10	2,74±0,20*	10,60±0,50	22,8±1,2*	15,4±1,4	25,6±0,9*
Селеноксантен	2,5	1,37±0,90	1,00±0,30*	11,20±1,40	11,3±1,6*	20,2±2,7	18,3±2,5*
Селеніт Na	1,0	1,42±0,20	1,80±0,25	12,3±1,5	13,6±1,6*	17,6±3,2	22,2±4,5



Вміст відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти, зміна активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази при окиснювальному стресі та введенні сполук селену, $M \pm m$, $n=5-7$

Варіант	Доза, мг/кг	Аскорбінова к-та,		Відновлений глутатіон, мг%		Активність GSH-ред., мкМ GSH/(хв·мг біл.)		Активність GSH-пер., мкМ GSSG/(хв·мг біл.)	
		Інтакт.	NO ₂	Інтакт.	NO ₂	Інтакт.	NO ₂	Інтакт.	NO ₂
Контроль	—	1,93±0,30	0,83±0,09*	57,6±7,3	39,40±3,00*	68,7±6,9	35,6±5,2*	7,8±0,8	3,4±0,2
Селеноксантен	2,5	0,60±0,05*	0,40±0,03*	52,4±7,8	56,70±3,60*	59,8±9,8	45,7±4,2	11,4±0,9*	8,1±0,7*
Селеніт Na	1,0	1,2±0,3	1,1±0,2	56,5±6,2	61,3±7,0	64,6±7,3	52,1±4,8*	13,7±1,0	9,5±0,9*

речовин на інтенсивність ПОЛ. Встановлено, що NO₂ збільшує рівень спонтанного ПОЛ удвічі. Одночасно з цим активізується як аскорбатзалежне, так і НАДФН-залежне ПОЛ, а співвідношення процесів зсувається у бік неферментативних реакцій, що вказує на деструктивний характер NO₂ як прооксиданту. Введення селеноксантену призвело до зменшення швидкості спонтанного ПОЛ на 63 %, а швидкість неферментативного ПОЛ була блокована порівняно з затруєним контролем удвічі. Сполука, що вивчалася, і в інтактних тварин, і в оброблених NO₂ підвищувала показники ферментативних процесів, що вказує на роль селеноксантену в активації у легенях біогенних регуляторів, які утворюються з ненасичених жирних кислот за допомогою пероксидаційних процесів. Введення селеніту Na посилювало швидкість спонтанного ПОЛ на 26,8 %. Подібна тенденція зберігалася і при вивченні змін швидкості аскорбатзалежного ПОЛ (підвищення швидкості на 10,6 %) і НАДФН-залежного ПОЛ (збільшення на 26,1 %). Як природні антиоксиданти, аскорбінова кислота і відновлений глутатіон відіграють чималу роль у патогенезі токсичного набряку легень. Варіювання їхнього вмісту може призводити до зміни неферментативного і ферментативного захисту від оксидантного стресу. Під час наших досліджень було встановлено, що попереднє вве-

дення селеноксантену та селеніту Na не захищає вітамін С від токсичного впливу NO₂, але значно збільшує концентрацію GSH, що свідчить про наявність антиоксидантних властивостей (табл. 3). Відомо активна участь глутатіонпероксидази в захисті клітин від оксидантного стресу.

Встановлено, що селеноксантен і селеніт Na активують цей фермент при інтоксикації NO₂. Ці сполуки в 1,46 та 1,44 рази відповідно підвищували швидкість пероксидазної реакції та були індуктором глутатіонпероксидази.

Таким чином, для подальшого скринінгу з метою створення профілактичного препарату з антирадикальними та протинабряковими властивостями пропонуємо застосовувати неорганічні сполуки селену, які мають меншу токсичність.

Механізм їхньої дії, на нашу думку, пов'язаний з індукцією Se-залежної глутатіонпероксидази — одного з основних ферментів другої фази ферментативного антиокиснювального захисту організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Журавлев А. И. Биоантиокислители в животном организме // Биоантиокислители. — М.: Наука, 1975. — С. 15-29.
2. Другов Ю. С., Беликов А. П. Методы анализа загрязнений воздуха. — М.: Химия, 1984. — 364 с.
3. Logan R. The effect of x-irradiation on the uptake of nucleic acids and protein precursors by isolated rab-

bit livers, appendix and thymus nuclei // Biochem. Biophys. Acta. — 1959. — Vol. 35, N 1. — P. 251-253.

4. Урюпов О. Ю. Скрининг антигипоксических средств на модели гемической гипоксии // Итоги науки и техники. Фармакология. Химиотерапевтические средства. — М.: ВИНТИ, 1991. — С. 145.

5. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Под ред. Т. М. Березова. — М.: Медицина, 1976. — 294 с.

6. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — 272 с.

7. Горчакова И. А. Фармакология глутаминовой кислоты и ее соединений // Фармакол. и токсикол. — 1990. — № 25. — С. 10-17.

8. Пахомова В. А., Крюкова Г. Н. Способ определения активности глутатіонпероксидази в биологических тканях / А. с. № 922637 СССР, ЛЕКИ д 01 № 33/48. Опубл. 23.04.92. — № 15. — 2 с.

9. Современные методы в биохимии / Под ред. В. И. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.

10. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — М.: Высш. школа, 1985. — 320 с.

