

УДК 613.632 + 616.36 – 092.9

Матвієнко Т.М., Саргош О.Д.

СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ВПЛИВУ РУХОМИХ ФТОРИДІВ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Фториди в дозах, що перевищують гранично допустимі концентрації, порушують функції організму на різних рівнях, але даних про вплив фторид-іону на перекисне окислення ліпідів недостатньо. Метою роботи було дослідження впливу сполук фтору на стан процесів пероксидації та антиоксидантного захисту в тканинах печінки морських свинок і встановлення їх дозозалежних ефектів. Експеримент виконувався на 31 морській свинці, які були розділені на 3 групи - 2 дослідні і 1 - інтактна (контроль). 1 дослідна група отримувала фторид натрію протягом 100 днів у дозі 10 мг/кг маси тіла на добу; 2 - протягом 100 днів отримувала фторид натрію в дозі 25 мг/кг маси тіла на добу. Об'єктом дослідження були тканини печінки тварин. Рівень перекисного окислення оцінювали по накопиченню малонового діальдегіду, антиоксидантний захист - за вмістом глутатіонпероксидази, аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот. Активність цитохромоксидази визначали для оцінки тканинного дихання. Не встановлено дозозалежне підвищення перекисного окислення ліпідів у тканинах печінки при 100-денному утриманні морських свинок в умовах щоденної інтоксикації в дозах 10 і 25 мг/кг. Антиоксидантний захист при надмірному надходженні в тканинах печінки знижується.

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист, фториди, печінка

Діючий екзогенний чинник будь-якої природи викликає дестабілізацію фізіологічних процесів організму, який на це реагує гомеостатичними реакціями, що включають в себе і гомеостатичний механізм детоксикації [5, 8]. В процесах детоксикації активну участь приймають біологічні мембрани, на рівні яких також виділяють універсальні механізми реалізації дії токсичних ендотекзогенних чинників, в тому числі і окисний стрес, що супроводжується активацією неферментативного вільнорадикального окислення та перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [2, 5, 8].

Несприятливим чинником навколишнього середовища є надлишкове надходження фторидів [1, 9, 10]. Відомо, що фториди в дозах, що перевищують гранично допустимі концентрації (ГДК), викликають порушення функцій організму на різних рівнях [1, 2, 4], але даних відносно впливу фторид-іону на перекисне окислення ліпідів недостатньо. На теперішній час є тільки окремі дослідження стану функцій організму, що мають захисно-приспосувальне, відновно-компенсаторне значення при надлишковому надходженні легко розчинних фторидів [4, 8, 11, 12, 13, 14].

Мета роботи

Дослідження впливу сполук фтору на стан процесів пероксидації і антиоксидантного захисту в тканинах печінки морських свинок та виявлення їх дозозалежних ефектів.

Матеріал та методи

В експерименті на лабораторних тваринах ми намагались відтворити токсикологічне навантаження сполуками фтору, яке отримують мешканці Полтавської області. Водопостачання у Полтавській області організовано в основному за рухунок підземних вод бучакського водоносного горизонту. Води бучакського водоносного горизонту містять до 15 мг/дм³ фтору, спеціальні

методи обробки (дефторування) для цих вод не застосовуються. Тому для відтворення фтористої інтоксикації тваринам вводили щоденно фторид натрію в дозі 10 мг/кг та 25 мг/кг, оскільки такі дози можуть бути співставлені з реальним навантаженням легкорозчинними фторидами.

Експеримент виконувався на 31 морській свинці масою 200-400 г, які після двотижневого карантину були поділені на 3 групи - 2 дослідні і 1 інтактну (контроль): 1 дослідна група протягом 100 днів одержувала фторид натрію у дозі 10 мг/кг маси тіла на добу; 2 - протягом 100 днів одержувала фторид натрію у аналогічному вигляді в дозі 25 мг/кг маси тіла на добу. Фторид натрію вводили у вигляді 1,5 % водного розчину з їжею.

Об'єктом дослідження були тканини печінки експериментальних тварин. Годування, нагляд та забій лабораторних тварин проводили у відповідності з прийнятими методиками [3]. Тканини забирали наступного дня після закінчення експерименту. Забір матеріалу проводили у всіх тварин з однієї і тієї ж області.

Рівень перекисного окислення оцінювали за накопиченням у біосубстратах ТБК-активних продуктів, зокрема малонового діальдегіду (МДА) (вторинного продукту перекисного окислення ліпідів, вуглеводів, білків, нуклеїнових кислот), яка обумовлена вільнорадикальним окисленням ліпідів [2]. Стан антиокислювального захисту (АОЗ) оцінювали за вмістом глутатіонпероксидази, аскорбінової кислоти та дегідроаскорбінової кислоти [7]. Активність цитохромоксидази визначалась для оцінки тканинного дихання [6].

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію вірогідності Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

В тканинах печінки (табл. 1) спостерігалось значне підвищення накопичення малонового діальдегіду за 3 год. інкубації, хоча рівень ТБК-активних продуктів як до, так і після інкубації змінювався незначно. Очевидно, це свідчить про посилення процесів ПОЛ у мембранах її клітин. Особливо значним було накопичення МДА у тварин 2 дослідної групи - 74,2%, в той час як у тварин 3 дослідної групи накопичення МДА становило 47%. Можливо це пов'язано із виснаженням субстратів перекисного окислення внаслідок глибокої деструкції клітинних мембран.

Активність ферментів, таких як глутатіонпероксидаза та цитохромоксидаза знижувалась, концентрації ж аскорбінової кислоти та її метаболіту дегідроаскорбінової кислоти дещо змінювались, але не вірогідно. Зниження активності цитохромоксидази, особливо виражене у тварин, що зазнали впливу фторидів у дозі 25 мг/кг, свідчить про глибокі порушення тканинного дихання, яке може привести до зниження споживання кисню на ферментативне окислення та посилення тим самим рівню пероксидації в крові. Виявлені зміни в антиоксидантній системі печінки, очевидно, свідчать про глибокі порушення в балансі досліджуваних ферментів, а також про прогресування патологічних змін, викликаних ПОЛ.

В тканинах печінки, судячи з незмінності концентрації вторинних продуктів ПОЛ до інкубації,

істотних змін рівню пероксидації не спостерігалось. Однак знижуються можливості АОЗ, про що можна зробити висновок з росту концентрації ТБК-активних продуктів після інкубації та приросту МДА за час інкубації. Це також підтверджується зниженням активності глутатіонпероксидази та деяким зменшенням концентрації аскорбінової кислоти при одночасному збільшенні доли дегідроаскорбінової кислоти. Фтор інгібував активність цитохромоксидази, що знижувало споживання кисню на ферментативне окислення та посилювало цим можливість пероксидації в крові. Привертало до себе увагу зниження активності цитохромоксидази, хоча мітохондріальне окислення в умовах інтоксикації та опромінення вкрай необхідне для синтезу АТФ, яка використовується для енергетичних потреб репарації. Частково в умовах фтористої інтоксикації не тільки фторид впливає на цитохромоксидазу, а й вичерпання фонду НАДН₂, необхідного для АДФ-рибозилування ядерних білків, що приймають участь в репарації. В результаті з мітохондрій та цитоплазми відкачується НАДН₂ і клітина гине від енергетичного виснаження [5, 8].

Отже, експериментальний вплив фтору як одного з несприятливих екологічних чинників, викликає зміни балансу прооксидантно-антиоксидантної системи організму, що порушує життєвий цикл клітин та приводить до патологічних зрушень в онтогенезі.

Таблиця 1.
Вплив комплексу підвищених доз фтору на стан ПОЛ, активність цитохромоксидази та антиоксидантний статус печінки морських свинок.

Показники, що вивчалися	Стат.показники	Інтактні тварини (n=10)	Дослідні тварини	
			10мг/кг (n=11)	25 мг/кг (n=10)
Рівень ТБК-активних продуктів до інкубації (мкмоль/кг)	M ±m p p ₁	12,60 0,94	10,62 2,86 >0,05	14,43 1,26 >0,05 >0,05
Рівень ТБК-активних продуктів через 3 години інкубації (мкмоль/кг)	M ±m p p ₁	15,96 0,92	18,50 1,56 >0,05	21,2 1,85 <0,02 >0,05
Накопичення МДА в процесі інкубації (мкмоль/кг, (%))	M ±m p p ₁	3,37 0,35 (26,7%)	7,88 0,98 <0,01 (74,2%)	6,77 0,78 <0,001 >0,05 (47%)
Активність цитохромоксидази (од/г)	M ±m p p ₁	0,82 0,05	0,61 0,03 <0,01	0,49 0,07 <0,01 >0,05
Активність глутатіонпероксидази (од/мл/хв)	M ±m p p ₁	49,0 12,0	28,5 8,54 >0,05	24,3 5,9 <0,1 >0,05
Концентрація аскорбінової кислоти (ммоль/кг)	M ±m p p ₁	1,546 0,239	1,305 0,100 >0,05	1,252 0,117 >0,05 >0,05
Концентрація дегідроаскорбінової кислоти (ммоль/кг)	M ±m p p ₁	0,867 0,136	0,907 0,153 >0,05	0,759 0,109 >0,05 >0,05

Загалом можна передбачити, що, оскільки організми людини та морських свинок є більш подіб-

ними в процесах обміну в крові та печінці, то аналогічні процеси можуть мати місце за дії підвище-

них доз фтору на організм людей. Можна також передбачити, що надходження підвищених доз фтору буде посилювати рівень процесів пероксидації та послаблювати АОЗ, що може привести до патологічних порушень стану здоров'я людини. Одержані результати свідчать про необхідність розробки заходів з профілактики негативних наслідків дії фтору на організм людини.

Висновки

1. Не виявлене дозозалежне підвищення перекисного окислення ліпідів в тканинах печінки при 100-денному утриманні морських свинок в умовах щоденної інтоксикації в дозах 10 і 25 мг/кг.

2. Антиоксидантний захист при надлишковому надходженні фторидів в тканинах печінки ослаблюється.

Література

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. / Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Жаворонков А.А. Микроэлементы и апоптоз // Актуальные проблемы общей и частной патологии. Сб. трудов ИМЧ РАМН. – М.: 1996. – С.1-4.
3. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – 3 изд. – К.: Вицашкола, 1983. – 383 с.

4. Михайлова Н.Н., Анохина А.С., Уланова Е.В. Экспериментальные исследования патогенеза хронической фтористой интоксикации / Н.Н. Михайлова, А.С. Анохина, Е.В. Уланова [и др.] // Патолог. физиология и эксперим. терап. – 2006. – №3. – С.19-21.
5. Мищенко В.П., Мищенко И.В., Цебржинский О.И. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и гемостаз: монография / Полтава: АСММ, 2005. – 159 с.
6. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН. – 1995. – №3. – С.9-13.
7. Шарманов Т.М. Аскорбиновая кислота (витамин С) // Экспериментальная витаминология: Справочное руководство. – Минск: Наука и техника, 1979. – С.481-500.
8. Цебржинский О.И. Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз животных в норме и при различных воздействиях: автореф. дис. д.б.н. – Белгород: 2001. – 32 с.
9. Chachra D., Vieira A. P. G. F., Grynpsas M. D. Fluoride and mineralized tissues // Critical Reviews in Biomedical Engineering. – 2008. – V.36, №2-3. – P.183-223.
10. Fluoride in Drinking Water: A Scientific Review of EPA's Standards // National Academies Press. – 2006. – 497 p.
11. Inkielewicz I, Krechniak J. Fluoride effects on glutathione peroxidase and lipid peroxidation in rats // Fluoride. – 2004. – V.37, №1. – P.7-12.
12. Krechniak J., Inkielewicz I. Correlations between fluoride concentrations and free radical parameters in soft tissues of rats // Fluoride. – 2005. – V.38, №4. – P.293-296.
13. Ranjan R., Swamp D., Patra R. C. Oxidative stress indices in erythrocytes, liver, and kidneys of fluoride-exposed rabbits // Fluoride. – 2009. – V.42, №2. – P.88-93.
14. Shanthakumari D., Srinivasalu S., Subramanian S. Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rat // Toxicology. – 2004. – V.204, №2-3. – P.219-228.

Реферат

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛЕГКОРАСТВОРИМЫХ ФТОРИДОВ

Матвиенко Т.Н., Саргош О.Д.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, фториды, печень

Фториды в дозах, превышающих предельно допустимые концентрации, нарушают функции организма на разных уровнях, но данных о влиянии фторид-иона на перекисное окисление липидов недостаточно. Целью работы было исследование влияния соединений фтора на состояние процессов пероксидации и антиоксидантной защиты в тканях печени морских свинок и установление их дозозависимых эффектов. Эксперимент выполнялся на 31 морской свинке, которые были разделены на 3 группы - 2 опытные и 1 – интактная (контроль). 1 опытная группа получала фторид натрия в течение 100 дней в дозе 10 мг/кг массы тела в сутки; 2 – в течение 100 дней получала фторид натрия в дозе 25 мг/кг массы тела в сутки. Объектом исследования были ткани печени животных. Уровень перекисного окисления оценивали по накоплению малонового диальдегида, антиоксидантную защиту – по содержанию глутатионпероксидазы, аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот. Активность цитохромоксидазы определяли для оценки тканевого дыхания. Не установлено дозозависимое повышение перекисного окисления липидов в тканях печени при 100-дневном содержании морских свинок в условиях ежедневной интоксикации в дозах 10 и 25 мг/кг. Антиоксидантная защита при избыточном поступлении в тканях печени снижается.

Summary

STATE OF FREE RADICAL OXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN LIVER TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS EXPOSED TO READILY SOLUBLE FLUORIDES

Matvienko T.N., Sargosh O.D.

Keyword: lipid peroxidation, antioxidant protection, fluorides, liver.

Fluorides in doses exceeding the maximum allowable concentration disrupt the body's functions at different levels, but there is little information about effects produced by fluoride ions on lipid peroxidation. This research was aimed to study the influence of fluorine on the state of peroxidation processes and antioxidant defense in the liver of guinea pigs and to determine their dose-dependent effects. The experiment involved 31 guinea pigs divided into 3 groups: 2 test groups and 1 control group. The 1st test group received sodium fluoride in a dose of 10 mg / kg of body wt in a day for 100 days; the 2nd group received sodium fluoride in a dose of 25 mg / kg of body wt in a day for 100 days. Live tissues of experimental animals were an object to be tested. The level of peroxidation was evaluated by the concentration of malonic dialdehyde, and the level of antioxidant protection was assessed by the content of glutathione peroxidase, ascorbic and dehydroascorbic acids. The cytochrome oxidase activity was detected to evaluate tissue respiration. It was revealed no dose-related increase in lipid peroxidation in live tissues of guinea pigs under 100 day sodium fluoride exposure in a dose of 10 mg / kg of body wt. Antioxidant protection was registered to decrease due to excessive sodium fluoride intake.