УДК: 616-092.9-099:543.395:615.32:612.015.11

**ВЛИЯНИЕ НУТРИТИВНОГО ФИТОКОМПЛЕКСА НА ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КСЕНОБИОТИКОВ НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ**

Кучерявченко М.А.

Харьковский национальный медицинский университет

Shevtsova\_marina@ukr.net

 Целью исследования явилось изучение длительного субтоксического влияния эпоксидсодержащих олигоэфиров на состояние свободнорадикальных процессов, перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему в условиях применения антиперекисного, антирадикального и мембранопротекторного нутритивного комплекса. Установлено, что длительное субтоксическое воздействие Лапроксида Л-303 в дозе 1/100 ДЛ50 стимулирует свободнорадикальные процессы, ПОЛ и антиоксидантную систему в начальные сроки токсификации и вплоть до 40-х суток перорального поступления в организм. В последующие сроки наблюдения, на фоне продолжающейся активации свободнорадикальных процессов и ПОЛ, наблюдалось существенное ингибирование антиоксидантной системы. Дополнительное использование антиоксидантного нутритивного комплекса значительно подавляло свободнорадикальные процессы, ПОЛ и стимулировало систему антирадикальной и антиперекисной защиты, что сопровождалось стабилизацией биологических мембран и модуляцией взаимодействия оксидантно-антиоксидантного гомеостаза. Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой антиоксидантной активности антирадикального, антиперекисного и мембранопротекторного нутритивного комплекса, который может быть использован как профилактическое антиоксидантное средство в условиях оксидативного стресса.

 Ключевые слова: ксенобиотики, мембранная патология, антиоксиданты, нутритивный комплекс.

 Введение. Сегодня перед человечеством остро стоит большой круг вопросов, которые тесно сопряжены с химическим и физическим загрязнением окружающей среды, формированием многих экологически обусловленных заболеваний и патологических состояний. В настоящее время главное место заняли злокачественные новообразования, ишемическая болезнь сердца, гипертония, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, психические болезни, сахарный диабет, псориаз и др. При всем разнообразии этих, так называемых, эндогенных болезней в их этиологии и патогенезе имеются общие черты, сопровождающиеся развитием мембранной патологии. Индукторами формирования мембранной патологии могут быть разнообразные физические (ультрафиолетовое излучение, электромагнитное волновое воздействие, шум, вибрация и др.), химические вещества экзогенного и эндогенного происхождения и биологические факторы инфекционной и неинфекционной природы, которые индуцируют образование оксидативного стресса.

Целью работы являлось изучение длительного субтоксического влияния эпоксидсодержащих олигоэфиров на состояние свободнорадикальных процессов, перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему в условиях применения антиперекисного, антирадикального и мембранопротекторного нутритивного фито комплекса.

Материалы и методы исследования. Выбор группы эпоксидсодержащих олигоэфиров был обоснован большими объемами их производства, широким контактом с населением в производственных условиях и в быту, а также необходимостью обоснования патофизиологических механизмов развития структурно-метаболических нарушений, составления прогноза потенциальной опасности для человека, окружающей среды и разработки способов антирадикальной, антиперекисной и мембранопротекторной коррекции в условиях длительного субтоксического воздействия на организм. В работе был использован наиболее токсичный эпоксидсодержащий олигоэфир, имеющий товарное название – Лапроксид 303, молекулярной массы 300 и представляющий собой вязкую жидкость на основе трехатомного спирта глицерина (химическое название – триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола – Л-303). На основании параметров острой токсичности данный ксенобиотик относится к малотоксичным соединениям (IV класс опасности), обладающим слабыми кумулятивными свойствами. В условиях длительного субтоксического воздействия использовалась 1/100 ДЛ50.

Опыты проводились на половозрелых белых крысах популяции Вистар, массой 180-190 г, которые подвергались ежедневному пероральному воздействию водными растворами ксенобиотика. Вводились водные растворы внутрижелудочно с помощью металлического зонда утром натощак. Продолжительность подострого воздействия олигоэфира составляла 60 суток. При постановке эксперимента руководствовались правилами гуманного отношения к животным и требованиями ,,Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в научном эксперименте”. – Страсбург, 1986 г. Программа исследования предусматривала изучение влияния ксенобиотика на свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов (ПОЛ), белков и систему антиоксидантной защиты в условиях нутритивной поддержки опытных животных и без таковой, сравнивая результаты с группой контрольных крыс. В первую группу были включены животные (60 шт), которые подвергались затравке Л-303 в 1/100 ДЛ50. Во вторую группу входили животные дополнительно получавшие нутритивный комплекс (60 шт). Третья группа – интактные крысы, служили контролем (30 шт). Все животные находились на стандартном рационе вивария, в котором белки обеспечивали 18 %, жиры – 26 %, углеводы – 56 % энергетической ценности. Вторая группа белых крыс, получала в качестве антирадикального комплекса дополнительно к рациону 1500 МЕ ретинола, 4,5 мг токоферола, по 15 мг метионина, глутаминовой, лимонной и аскорбиновой кислот, 15 мг зеленого чая и 75 мг фосфатидного концентрата в сутки на животное [1, 2, 3]. Наблюдение за состоянием животных велось на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки эксперимента. В каждой опытной и контрольной группе насчитывалось по 10 животных.

Изучение гомеостатической функции организма осуществлялось по наиболее информативным и критериально-значимым показателям, характеризующим состояние свободнорадикальных процессов, ПОЛ и антиоксидантной системы токсифицированных животных, которые позволяют судить о наличии оксидативного стресса. Об относительном уровне вторичных продуктов перекисного окисления липидов судили по накоплению малонового диальдегида (МДА), который определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой [4]. Диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрическим методом, который основан на характерном их поглощении в ультрафиолетовой области спектра 233 нм [5]. Активность фермента каталазы оценивали по скорости реакции утилизации Н2О2 из инкубационной среды в цветной реакции с молибдатом аммония, основанной на способности перекиси водорода образовывать стойкий окрашенный комплекс с молибдатом аммония [6]. Активность антиперекисного фермента глутатионпероксидазы (ГПО) изучали по убыли субстрата – восстановленного глутатиона (Г-SH) в цветной реакции на сульфгидрильные группы с реактивом Эллмана при 412 нм [7]. Супероксиддисмутаза (СОД) исследовалась по степени торможения реакции спонтанного окисления кверцетина сывороткой крови [8]. Сывороточная оксидаза – церулоплазмин (ЦП) определялся по методу Равина в модификации Мошкова К.А. [9]. Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики с оценкой достоверности по Стьюденту-Фишеру.

Результаты исследования и их обсуждение.

Изучение содержания МДА в сыворотке крови опытных животных выявило повышение его уровня на 33,01 %; 74,04 %; 131,68 %; 190,07 % и 212,02 %, соответственно на 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки опыта. Содержание малонового диальдегида на 10-е сутки токсификации животных достоверно не отличалось от уровня группы сравнения (табл. 1.). Диеновые конъюгаты повышались на 25,1 %; 33,01 %; 74,04 %; 131,68 %; 190,07 % и 212,02 % в динамике наблюдения, по сравнению с контрольной группой. Исследования показывают, что увеличение содержания МДА и ДК могут указывать на активацию свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов, которые сопряжены с накоплением активных форм кислорода, что неизбежно в условиях длительного субтоксического воздействия способно привести к развитию оксидативного стресса и молекулярно-мембранной патологии [1, 2, 3]. Этим процессам в организме препятствует система антирадикальной и антиперекисной защиты.

Исследования выявили повышение активности фермента антиперекисной защиты – каталазы на 80,95 %; 116,66 %; 144,04 %; 189,52 %, соответственно на 10-е, 20-е, 30-е и 40-е сутки наблюдения. В последующие сроки активность каталазы снижалась на 50 % и 65,96 %, что свидетельствует о срыве антиперекисной защиты к окончанию подострого опыта у животных токсифицированных Л-303 (табл. 1). Сходную динамику активности имела и глутатионпероксидаза: на 10-е, 20-е, 30-е и 40-е сутки ее активность была повышена на 51,04 %; 116,86 %; 142,38 %; 173,88 %, а на 50-е и 60-е сутки снижена на 38,06 % и 53,74 % по сравнению с контролем. Иную динамику активности имел фермент супероксиддисмутаза, которая была повышена во все сроки динамического наблюдения. Ее активность на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки наблюдения увеличивалась, соответственно на 100 %; 166,87 %; 201,87 %; 231,25 %; 241,25 % и 251,87 %. Сходную динамику активности с СОД имела сывороточная оксидаза – церулоплазмин. Уровни активности ЦП повышались на 50,43 %; 71,74 %; 92,60 %; 143,47 %; 157,39 % и 176,08 %, соответственно на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки (табл. 1).

Результаты исследования показывают, что Лапроксид Л-303 в дозе 1/100 ДЛ50 стимулирует как свободнорадикальные процессы, так и перекисное окисление липидов, которые к окончанию подострого опыта приводят к истощению ферментативной системы антиоксидантной защиты. Полученные результаты дают основание судить о том, что Лапроксид Л-303 в дозе 1/100 ДЛ50 стимулирует свободнорадикальные процессы, ПОЛ, которые при длительной токсификации организма приводят к ингибированию системы антирадикальной и антиперекисной защиты, что сопровождается срывом защитно-компенсаторных механизмов обеспечения гомеостатической функции организма.

Результаты изучения влияния субтоксической дозы 1/100 ДЛ50 на состояние свободнорадикальных процессов, ПОЛ, систему антиоксидантной защиты в условиях применения антирадикального и антиперекисного нутритивного комплекса выявили динамические изменения всех исследуемых параметров. Вместе с тем следует отметить, что пероральное применение нутритивного антирадикального, антиперекисного комплекса приводило к менее выраженным нарушениям уровней системно-антисистемного взаимодействия у животных подвергавшихся токсификации ксенобиотиками. Изменения уровней мониторинговых критериально-значимых показателей, характеризующих свободнорадикальные процессы, ПОЛ, антиоксидантную активность и иммунологическую выраженность наступали в более поздние сроки субтоксического воздействия (табл. 2).

Изучение мониторинговых показателей оценки состояния ПОЛ, выявило во все сроки наблюдения, увеличение уровней ДК и МДА. Однако на 60-е сутки подострого опыта их содержание во второй группе животных было меньшим на 49,85 % и 41,93 % по сравнению с крысами не получавшими нутритивный комплекс, что свидетельствует об ингибировании процессов перекисного окисления липидов.

Изучение состояния ферментативной антиоксидантной системы, обнаружило повышение активности каталазы на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е сутки наблюдения и снижение данного показателя только на 60-е сутки опыта на 20,96 %, тогда как у первой группы наблюдения этот показатель снижался на 65,96 % и активация продолжалась до 40 суток. Глутатионпероксидаза у крыс второй группы была повышена на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е сутки и снижена на 60-е сутки на 20,30 %, тогда как у первой группы животных этот показатель снижался на 53,74 %. Супероксиддисмутаза во все сроки токсификации повышалась: 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки, соответственно на 50 %; 60 %; 64,37 %; 68,75 %; 77,50 % и 93,75 %. Сравнение данного параметра у животных первой и второй групп показало, что нутритивный комплекс снижает активность СОД на 60-е сутки опыта на 44,94 %. Сходная динамика активности отмечалась и для церулоплазмина. Уровни его активности на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 50-е и 60-е сутки повышались, соответственно на 28,69 %; 3913 %; 49,56 %; 58,69 %; 63,47 % и 80,43 % при использовании нутритивного антирадикального комплекса, тогда как у первой группы крыс этот показатель в установленные сроки повышался на 50,43 %; 71,74 %; 92,60 %; 143,47 %; 157,39 % и 176,08 %. Исследования обнаружили на 60-е сутки наблюдения у второй группы экспериментальных животных снижение активности ЦП по сравнению с первой группой на 95,65 %.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что нутритивный комплекс значительно ингибирует развитие свободнорадикальных процессов, существенно подавляет перекисное окисление липидов на фоне активации ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты. Это нашло подтверждение в сбалансированном кооперативном взаимодействии оксидантно-антиоксидантных процессов, менее выраженном повреждении лейкоцитов и базофилов, что указывает на мембранопротекторные свойства исследуемого нутритивного комплекса. Вместе с тем результаты исследования показали, что нутритивный комплекс усиливает защитно-приспособительные механизмы, продляет время наступления дезадаптации и снижает повреждающее действие Лапроксида Л-303 на мембраны.

Таким образом, длительное субтоксическое воздействие Лапроксида Л-303 в дозе 1/100 ДЛ50 стимулирует свободнорадикальные процессы, ПОЛ и антиоксидантную систему в начальные сроки токсификации и вплоть до 40-х суток перорального поступления в организм. В последующие сроки наблюдения, на фоне продолжающейся активации свободнорадикальных процессов и ПОЛ, наблюдалось существенное ингибирование антиоксидантной системы на 50-е и 60-е сутки опыта. Дополнительное использование антиоксидантного нутритивного комплекса значительно подавляло свободнорадикальные процессы, ПОЛ и в меньшей мере систему антирадикальной и антиперекисной защиты, сопровождалось стабилизацией биологических мембран и модуляцией взаимодействия оксидантно-антиоксидантного гомеостаза.

Вывод. Эти данные позволяют заключить о достаточно высокой антиоксидантной активности антирадикального, антиперекисного и мембранопротекторного нутритивного комплекса, который может быть использован как профилактическое антиоксидантное средство в условиях развития оксидативного стресса.

Литература

1. Powers S.K., Nelson W. B., Hudson M. B. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. // Free Radic. Biol. Med. - 2011. - Vol. 51, № 5. - Р. 942-950.

2. Гудков С.В., Бусков В.И., Куликов А.В. Биоантиоксиданты. // Альманах клинической медицины. – 2014. - № 31. – С. 61-65.

3. Курашвили В.А., Майлэм Л. Новые возможности предотвращения оксидативного стресса. // Журнал натуральной медицины. – 2001. - № 1. – С. 7-14.

4. Федорова Т.К., Коршунова Т.С., Ларская Э.Т. Реакция с ТБК для определения МДА крови методом флюорометрии. // Лабораторное дело. – 1983. - № 3. – С. 25-28.

5. Гаврилов Б.В., Мишкорудная М.И. СФ – метрическое определение содержания ГПЛ в плазме крови. // Лабораторное дело. - 1983. - № 3. – С. 33-36.

6. Дубинина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Сафронова Л.Н. Методы определения активности каталазы. // Лабораторное дело. - 1988. - № 8. – С. 16-19.

7. Меин В.М. Простой и специфический метод определения активности ГПО в эритроцитах. // Лабораторное дело. - 1986. - № 2. – С. 724-727.

8. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцитина. // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т. 36, - № 2. – С. 28-35.

9. Мошков К.А. Определение ферментативной активности и иммунореактивности церулоплазмина в сыворотке крови человека. // Лабораторное дело. - 1985. - № 7. – С. 390-395.

10. Северин С.Е., Соловьева Т.А. Практикум по биохимии. – Москва: МГУ, 1989. – 509 с.

Резюме

**Вплив нутрітивного фитокомплексу на оксидантно-антиоксидантні процеси при дії ксенобіотиків на організм тварин**

Кучерявченко М.О.

 Метою дослідження було вивчення тривалого субтоксичного впливу епоксидвмісних олігоефірів на стан вільнорадикальних процесів, перекисне окислення ліпідів і антиоксидантну систему в умовах застосування антиперекисного, антирадикального мембранопротекторного нутрітивного комплексу. Тривалий субтоксичний вплив Лапроксиду Л-303 у 1/100 ДЛ50 стимулює вільно радикальні процеси, ПОЛ і антиоксидантну систему на початкових строках токсифікації і до 40-х діб перорального надходження до організму. В наступні терміни спостереження, на тлі триваючої активації вільнорадикальних процесів і ПОЛ, спостерігалось суттєве інгібування антиоксидантної системи. Додаткове використання антиоксидантного нутрітивного комплексу значно пригнічувало вільнорадикальні процеси, ПОЛ і стимулювало систему антирадикального та антиперекисного захисту, що супроводжувалось стабілізацією біологічних мембран і модуляцією взаємодії оксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Отримані данні свідчать про достатньо високу антиоксидантну активність антирадикального, антиперекисного і мембранопротекторного нутрітивного комплексу, який може використовуватись як профілактичний антиоксидантний засіб в умовах оксидативного стресу.

Ключові слова: ксенобіотика, мембранна патологія, антиоксиданти, нутрітивний комплекс.

Summary

**Influence of a nutritive phytocomplex on oxidant-antioxidant processes under the influence of xenobiotics on animal organism**

Kucheriavchenko M.

The aim of this research was to study prolonged subtoxic effect of epoxide-containing oligo-ethers on free radical processes, lipid peroxidation and anti-oxidant system in antioxidative, antiradical membrane protective nutrition complex employment. Prolonged subtoxic exposure to Laproxide L-303 in the dosage of 1/100 DL50 induces free radical processes, lipid peroxidation and anti-oxidant system at initial stages of toxification and up to the 40th day of peroral administration. At later stages secondary to persistent activation of free radical processes and lipid peroxidation, antioxidant system was found to be significantly inhibited. Additional administration of antioxidant nutritional complex resulted in a profound suppression of free radical processes, lipid peroxidation and to a lesser extent the system of antiradical and antioxidative protection, which was accompanied by stabilization of biologic membranes and modulation of oxidant-antioxidant homeostasis relationship. The data obtained in the study are indicative of a rather high activity of antiradical, antioxidative and membrane protective nutritional complex, which can be employed as a preventive antioxidant means.

Key words: xenobiotics, membrane pathology, antioxidants, nutritional complex.