

УДК 616.15:615.272:546.221

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА

© 2009 М.В. Мажитова

Астраханский государственный университет

Поступила в редакцию 20.09.2010

Изучено хроническое воздействие сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения на свободнорадикальные процессы и антиоксидантную защиту плазмы крови самцов и самок белых крыс разного возраста. Результаты свидетельствуют о возрастной и половой специфике изучаемых процессов и возможности антиоксидантной коррекции выявленных изменений альфа-токоферолом и эмоксипином.

Ключевые слова: *свободнорадикальное окисление, ферменты-антиоксиданты, плазма крови, α -токоферол, эмоксипин*

Важная роль антиоксидантной системы в формировании адаптации к воздействию токсикантов различной химической природы не вызывает сомнений. Интерес к изучению влияния сероводорода на организм человека вызван эколого-региональными особенностями Астраханской области. Астраханское газоконденсатное месторождение (АГКМ) представляет собой уникальное геологическое образование не только в России, но и в мире. Содержание сероводорода в пластовом газе доходит до 22-24% и выше. Основным промышленным источником вредных выбросов среди всех объектов Астраханского газового комплекса является Астраханский газоперерабатывающий завод, на выбросы его приходится 90% химических веществ от выбросов всего предприятия. Являясь высокотоксичным газом, сероводород даже в низких концентрациях оказывает выраженное влияние на организм, поражая многие системы организма. Согласно действующим представлениям, сульфгидрильные низко- и высокомолекулярные соединения являются хорошими антиоксидантами [1], но в ходе их метаболизма возможна продукция активных радикалов. Кровь, являясь межорганным связующим звеном, характеризует состояние всего организма в целом.

Цель нашего исследования — выявить изменение антиоксидантно-прооксидантного статуса крови на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения и возможность его антиоксидантной коррекции.

Мажитова Марина Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры неорганической и биоорганической химии. E-mail: marinamazhitova@yandex.ru

Для достижения поставленной цели группы животных формировали по половому и возрастному признакам: самцы и самки 6-ти месячного и 24-х месячного возраста. Животные содержались в условиях вивария на стандартном рационе при свободном доступе к воде и пище. Учитывая, что наиболее стабильной стадией цикла самок является диэструс [7], в день декапитации самки отбирались в фазе диэструса. Декапитацию животных производили после наркотизации этаминалом натрия (внутрибрюшинно в дозе 5 мг на 100 г массы тела). Спектрофотометрическими методами в плазме крови определяли уровень свободнорадикальных процессов: перекисное окисление липидов (ПОЛ) по уровню малонового диальдегида (МДА) и скоростям спонтанного и аскорбат-зависимого процессов [8, 9], окислительную модификацию белков (ОМБ) [2], содержание конечных метаболитов NO [6], окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), а также антиоксиданты: каталазу [5], СОД [10] и жирорастворимые антиоксиданты: витамин А, β -каротин, α -токоферол, оксотокоферол и α -токоферил-хинон [11]. Кроме того, определяли общую антиокислительную активность (АОА) [4]. Сероводородсодержащий газ (ССГ) животные получали ингаляторно в дозе 150 мг/м³ в течение 1,5 месяцев по 4 часа в день понедельник – пятница. Для изучения возможности антиоксидантной коррекции в последние 2 недели опыта на фоне ингаляций крысам перорально вводили 5% масляный раствор D, L, α -токоферол ацетата в дозе 1 мг/100 г массы тела. Также исследовали влияние эмоксипина на изучаемые процессы, для чего на фоне хронического воздействия ССГ в последние 2 недели перед декапитацией внутримышечно вводили

1%-ный водный раствор эмоксипина гидрохлорида в дозе 5 мг/100 г массы тела.

Результаты исследования уровня свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты плазмы крови разнополых молодых и старых животных на фоне хронического воздействия ССГ свидетельствуют о том, что на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения в плазме крови животных, независимо от возрастной и половой принадлежности развивается оксидативный стресс, который проявляется в усилении ПОЛ, увеличении ОМБ и ОВП. Указанные изменения ярче проявились у самцов обеих возрастных групп, чем у самок того же возраста.

Обращает на себя внимание факт повышения концентрации суммарных метаболитов NO в плазме крови молодых самцов, получавших сероводородсодержащий газ ($P < 0,001$). У контрольных молодых самок содержание суммарных продуктов окисления NO достоверно выше ($78,35 \pm 5,103$ мкмоль/мл плазмы, $P < 0,001$), чем у интактных самцов-ровесников ($30,28 \pm 1,828$ мкмоль/мл плазмы), а после ингаляции показатель снижается до ($43,51 \pm 3,171$ мкмоль/мл плазмы, $P < 0,001$) и выравнивается с показателями опытной группы самцов. Таким образом, у животных разного пола наблюдали противоположную картину изменения содержания NO-метаболитов, что вероятно связано с различным исходным уровнем NO, различиями в антиоксидантном статусе на гормональном уровне и различными путями вовлечения NO в свободно-радикальные процессы на фоне развивающегося оксидативного стресса. Об этом говорит анализ изменения уровня малонового диальдегида, который показал увеличение уровня этого продукта и у самцов ($P < 0,001$), и у самок ($P < 0,001$), что соответственно составило $3,39 \pm 0,142$ и $1,66 \pm 0,067$ нмоль/0,05 г сырого веса ткани. Однако у самцов наблюдали более резкое увеличение уровня МДА (на 200%), чем у самок (\approx на 63%). Скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ у животных опытных групп оказались достоверно выше, чем в контроле. Вероятно, у самок снижение уровня NO плазмы крови связано с вовлечением его в свободно-радикальные реакции и расход его в ходе обрыва цепи окисления липидов, что объясняет более пологий рост уровня конечного продукта окисления липидов. Также возможно подобные результаты связаны с выраженным эстрогенным фоном, который определяет более высокий уровень антиоксидантного статуса самок.

Что касается старых животных, то ингаляции ССГ привели к значимому увеличению NO-метаболитов у животных обоего пола, что может быть связано с усиливающимся каскадом окислительных процессов, которые в свою очередь вовлекают все большее число физиологически важных для крови и всего организма молекул. Об этом же свидетельствуют результаты изучения

антиоксидантов плазмы крови животных. Активность каталазы в крови как самцов, так и самок обоих возрастов после ингаляторного воздействия сероводородсодержащим газом снизилась и составила у молодых самцов – $23,11 \pm 1,39$ ($P < 0,01$), у молодых самок – $19,34 \pm 0,89$ у.е./мг белка ($P < 0,001$), у старых животных: $21,98 \pm 1,51$ у.е./мг белка у самцов ($P < 0,001$) и $26,44 \pm 1,78$ у.е./мг белка ($P < 0,05$) у самок.

Та же направленность изменений имеет место и с активностью СОД, которая снизилась в плазме крови на фоне ингаляции ССГ у животных всех групп. В свою очередь NO может оказывать прооксидантное действие в плазме крови, в результате того, что его молекулы могут окислять α -токоферол, что мы имеем в плазме крови старых самок: на фоне резкого роста NO-метаболитов почти на 56%, содержание токоферола снижено до $0,18 \pm 0,0087$ мкмоль/мл плазмы ($P < 0,05$). Инактивации СОД может способствовать то, что этот фермент в условиях оксидативного стресса теряет ионы меди и цинка, что ведет к увеличению супероксиданио и накоплению пероксинитрита при взаимодействии с NO [3], которые усиливают оксидативный стресс.

Таким образом, нарастающий вал свободнорадикальных процессов, вызванный хроническим ингаляторным воздействием ССГ, приводит к усилению ПОЛ, ОМБ и истощению антиоксидантного пула плазмы крови крыс, что усугубляет токсический эффект сероводорода.

Для изучения антиоксидантной коррекции нами выбраны 2 препарата: широко изученный и применяемый α -токоферол и активно используемый в последнее десятилетие эмоксипин – производное 3-окси пиридина. Результаты исследования скорости свободно-радикальных процессов и уровня антиоксидантной защиты плазмы крови в ходе совместного введения токсиканта и антиоксидантов как корректоров изучаемых процессов показали, что и α -токоферол, и эмоксипин значимо снизили ПОЛ ($P < 0,05$), ОМБ ($P < 0,05$) и ОВП ($P < 0,05$) в плазме крови молодых животных. Однако витамин Е изменил большее число показателей. Так, эмоксипин не привел к достоверному снижению скорости спонтанного ПОЛ. NO-метаболиты на фоне введения антиоксидантов увеличились в плазме крови только у самок, что, учитывая изначально высокий уровень NO-метаболитов в плазме контрольных крыс и снижении его на фоне ингаляций ССГ можно рассматривать как нормализацию уровня этого эндогенного модулятора. Снижение интенсификации свободно-радикального окисления под действием ССГ произошло на фоне увеличения активности каталазы и АОА плазмы крови под влиянием обоих антиоксидантов. Витамин Е также повысил уровень витамина А ($P < 0,05$) у молодых самцов и β -каротина ($P < 0,05$) у молодых самок, а эмоксипин – активность СОД ($P < 0,05$) у молодых самок.

Оба антиоксиданта снизили уровень МДА, ОМБ, NO-метаболитов, ОВП, скорости ПОЛ у старых самцов. У старых самок более значимо снизил уровень МДА и ОМБ витамин Е, чем эмоксипин. Если у старых самцов возросший на фоне ингаляций ОВП в ходе антиоксидантной терапии снизился, то у старых самок эмоксипин резко увеличил этот показатель. Таким образом, антиоксиданты оказали больший эффект в плазме старых самцов, нежели самок, что также проявилось в повышении АОА, активности каталазы плазмы крови старых самцов, но не самок. Помимо этого, у старых самцов витамин Е увеличил активность СОД ($0,69 \pm 0,042$ у.е./мг белка, $P < 0,05$), витамина А ($0,013 \pm 0,011$ мкмоль/мл плазмы, $P < 0,05$) β -каротина ($0,042 \pm 0,019$ мкмоль/мл плазмы, $P < 0,05$) и α -ТФХ ($1,52 \pm 0,087$ ед. оптической плотности, $P < 0,05$), а эмоксипин – активности СОД ($0,072 \pm 0,044$ у.е./мг белка, $P < 0,05$) и уровень витамина А ($0,011 \pm 0,001$ мкмоль/мл плазмы, $P < 0,05$). У старых самок введение витамина Е на фоне ингаляционного воздействия ССГ увеличилась активность СОД, уровень β -каротина, α -токоферола и α -ТФХ ($P < 0,05$) по сравнению с опытной группой, а эмоксипин увеличил активность СОД и уровень β -каротина ($P < 0,05$).

Выводы: своевременная антиоксидантная терапия может снизить риск развития оксидативного стресса, развивающегося на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Владимиров, Ю.А.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / *Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков* // М.: Наука, 1972. 252 с.
2. *Дубинина, Е.Е.* Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / *Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов* // Вопросы мед. химии. 1995. № 1. С. 24-26.
3. *Каминская, Л.Ю.* Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс / *Л.Ю. Каминская, А.А. Жлоба, Л.А. Александрова* и др. // Артериальная гипертензия. 2005. Т. 11, №1. С. 5-9.
4. *Клебанов, Г.И.* Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов / *Г.И. Клебанов, И.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин* // Лаб. дело. 1988. №5. С. 59-62.
5. *Королюк, М.А.* Метод определения активности каталазы / *М.А. Королюк, Л.И. Иванов, М.Г. Майорова, В.Е. Токарева* // Лаб. дело. 1988. №1. С. 16-19.
6. *Метельская, В.А.* Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке / *В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова* // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 6. С. 15-18.
7. *Сергеев, П.В.* Стероидные гормоны. – М.: Наука, 1984. 240 с.
8. *Стальная, И.Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / *И.Д. Стальная, Т.Т. Гаришвили* // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. С. 66-68.
9. *Строев, Е.А.* Практикум по биологической химии / *Е.А. Строев, В.Г. Макарова*. – М.: Высшая школа, 1986. 230 с.
10. *Чевари, С.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / *С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей* // Лаб. дело. 1985. № 11. С. 678-681.
11. *Taylor, S.L.* Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / *S.L. Taylor, M.P. Lambden, A.L. Tappel* // Lipids. 1976. V. 11, № 7. P. 530-538.

CHANGE OF ANTIOXIDATIC STATUS AND FREE -RADICAL PROCESSES IN THE WHITE RATS BLOOD AT CHRONIC INFLUENCE OF HYDROGEN SULPHIDE-CONTAINING GAS

© 2010 M.V. Mazhitova

Astrakhan State University

Chronic influence of hydrogen sulphide-containing gas from Astrakhan deposit on free-radical processes and antioxidative protection of blood plasma of white rats males and females of different age is studied. Results testify to age and sexual specificity of studied processes and an opportunity of antioxidative correction of the taped changes by α -tocopherol and emoxipinum.

Key words: *free-radical oxidation, enzymes-antioxidants, blood plasma, α -tocopherol, emoxipinum*