

УДК 615.916'175+577.16+577.115

ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФТОРИДА НАТРИЯ, ХОЛЕСТЕРИНА, КОМПЛЕКСА БИОАНТИОКСИДАНТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Цебржинский О.И.

*Полтавский национальный педагогический университет имени
В.Г.Короленко*

Проведены хронические (100 дней) опыты на морских свинках по воспроизведению гиперфтороза, холестериноза, совместного введения фторида натрия и холестерина, коррекция совместного введения комплексом биоантиоксидантов (Е, С, Р) в повышенных дозах. Холестериноз характеризовался гиперхолестеринемией, гипогликемией, перекисной деструкцией мембран эритроцитов, креатинурией и активацией глутатионпероксидазы. Сочетанное воздействие фторида натрия и холестерина привело к увеличению в 34 раза по сравнению с гиперфторозом концентрации фтора в моче, что снизило интенсивность перекисного окисления. Введение комплекса биоантиоксидантов на фоне гиперфтороза и гиперхолестеринемии резко усилило и антиоксидантный потенциал и перекисное окисление, в печени, сердце, мозгу, почках снизилась активность цитохромоксидазы; выживаемость животных (60%) сохранилась на уровне коррекции гиперфтороза биоантиоксидантами. В целом повышенные дозы антиоксидантов проявили прооксидантный эффект.

Ключевые слова: гиперфтороз, холестериноз, комплекс витаминов Е, С, Р.

Введение

Малоподвижный образ жизни, постоянное повышенное употребление продуктов с животными жирами (особенно с транс-изомерами жирных кислот), яйцами, быстро усвояемыми углеводами, особенно у водителей-дальнобойщиков, использующих быстрое питание (хот-дог, фаст-фуд), последствия стресса, воспаления, радиационного облучения способствуют развитию гиперхолестеринемии, накоплению в крови липопротеидов низкой плотности. Выброс холестерина в кровь является защитным механизмом в ответ на усиление свободно-радикального перекисного окисления биополимеров, преимущественно липидов. Холестерин стабилизирует жидкокристаллическую структуру мембран клеток, делает мембраны жёсткими. Нарушение экспрессии рецепторов к белку В-100 липопротеидов низкой плотности способствует атерогенезу. Есть сведения, что антиоксиданты в повышенных дозах

оказывают благотворное влияние и при флюорозе и при холестеринозе [2; 7]. Поэтому целью работы было установление эффекта влияния комплекса биоантиоксидантов на сочетанное хроническое воздействие фторида натрия и холестерина в эксперименте.

Объекты и методы исследования

Опыты проведены на 76 морских свинках-самцах средней массой 250-350 г. Морские свинки выбраны как животные, организм которых (как и человека) не синтезирует аскорбиновую кислоту. Морским свинкам опытной группы (n=12) в течение 100 дней вводили FeSO_4 в ежедневной дозе на кг массы тела 25 мг фторида натрия (в виде 3% водного раствора), холестерин (2 г/кг [2]) в виде 50% раствора в подсолнечном масле и комплекс биоантиоксидантов (АО), включающий: б-токоферола ацетат – 50 мг/кг, аскорбиновую кислоту – 100 мг/кг, кверцетин – 25 мг/кг (1 раз в 5 дней). В

литературе есть сведения о позитивной роли больших доз антиоксидантов при фтористой интоксикации [7]. Три контрольные группы составили животные, получавшие в указанные сроки и дозы фторид натрия (n=20), холестерин (n=12), фторид натрия и холестерин (n=12). Интактную группу (условная норма) образовали 20 морских свинок.

В крови и органах определяли величины показателей, которые наиболее реагируют на воздействие фторид-иона [5]: СРПО, антиоксидантной защиты (АОЗ), окислительного, липидного обменов [1; 6]. Отметим, что концентрация вторичного продукта СРПО малонового диальдегида (МДА-0) указывает на уровень пероксидации, а ДМДА – на уровень АОЗ в обратно пропорциональной зависимости, снижение активности цитохромоксидазы определяет тканевую гипоксию, креатинурия может быть маркером токоферольной недостаточности [4].

Результаты и их обсуждение

Выживаемость животных (округлённо) к концу эксперимента при флюорозе составила 75%, при холестериновой диете – 90%, при сочетании флюороза и гиперхолестеринемии – 100% (как и в интактной группе), при коррекции АО сочетанного хронического действия фторида и холестерина – 60%. Результаты исследования приведены в таблицах 1 и 2..

Скармливание животным холестерина в течение 100 дней способствовало развитию гиперхолестеринемии, перекисной деструкции эритроцитарных мембран, гипогликемии, повышению активности глутатионпероксидазы в крови (табл.1) и концентрации аскорбиновой кислоты в почках, креатинурии (табл. 2). Избыток экзогенного холестерина не успевает переработаться полностью в желчные кислоты в печени, но частично встраивается в мембраны клеток, придавая им жесткость. Возможно, это приводит к потере мемб-

ранами токоферола, о чём свидетельствует креатинурия, и к перекисной деструкции эритроцитарных мембран. Накопление перекисей липидов активирует глутатионпероксидазу. Гипогликемия может быть связана с увеличением содержания НАДН из-за резкого снижения активности цитохромоксидазы, НАДН необходимо для глюконеогенеза, но его избыток идёт в лактатдегидрогеназную реакцию, увеличивается образование лактата за счёт пирувата – источника глюконеогенеза в печени и почках.

Главным эффектом сочетанного хронического воздействия фторида натрия и холестерина является увеличение в 34 раза (по сравнению с величинами контроля на гиперфтороз) экскреции фтора с мочой. В результате снижается активирующее влияние фторида на дыхательный взрыв фагоцитов, снижение генерации супероксиданион-радикала приводит к уменьшению перекисной деструкции мембран эритроцитов и активации супероксиддисмутазы (табл. 1). Возможный механизм связан с тем, что фторид натрия блокирует V2-рецептор к вазопрессину в почечных канальцах, а это даёт приобретенный несахарный диабет [3], кроме этого, стабилизация мембран холестерина может влиять на аквапорин AQP6, пропускающий анионы хлорида и, возможно, фторида или HF.

Введение комплекса биоантиоксидантов на фоне гиперфтороза и гиперхолестеринемии резко увеличивало антиоксидантный потенциал, о чём свидетельствует отрицательное значение ДМДА крови. При этом избыток антиоксидантов проявил прооксидантное действие, о чём свидетельствует снижение содержания реактанта острой фазы церулоплазмينا, усиление перекисного гемолиза эритроцитов, активация глутатионпероксидазы в крови, понижение уровня МДА-0 в печени (табл. 1). Уменьшается активность цитохромоксидазы в печени, сердце, моз-

Таблица 1

Эффекты сочетанного воздействия фторида натрия, холестерина, комплекса; биоантиоксидантов в хроническом эксперименте (сыворотка крови и печень)

Показатель	Интакт	NaF	Холестерин	NaF ± Хол	NaF ± Хол ± АО
СЫВОРОТКА КРОВИ					
Фтор; мкмоль/л	35,9±3,9	83,8±8,4; p1 < 0,001	50,0±1,0; p1 < 0,001	49,0±2,0; p1 < 0,01; p2 < 0,01	62,5±2,1; p1,3,4 < 0,001; p2 < 0,01
Церулоплазмин, ЕД	30,8±1,7	24,4±2,1; p1 < 0,02	25,3±0,7; p1 < 0,01	24,6±1,0;	21,1±1,5; p1 < 0,001
Холестерин, моль/л	1,39±0,1	3,27±0,20; p1 < 0,001	2,68±0,16; p1 < 0,05	1,17±0,10; p2,3 < 0,001;	1,62±0,10; p1,2,3 < 0,001; p4 < 0,01
КРОВЬ					
СГЭ, %	20,1±1,7	30,6±2,7; p1 < 0,01	36,0±10,9;	14,6±1,2; p1 < 0,05; p2 < 0,001	36,8±3,0; p1,4 < 0,001;
МДА-0; мкмоль/л	4,0±0,4	7,5±1,1; p1 < 0,01	2,9±0,4; p1,2 < 0,01;	4,4±0,4; p2,3 < 0,02;	4,3±0,4; p2 < 0,05; p3 < 0,001
МДА-3; мкмоль/л	4,8±0,4	9,5±0,9; p1 < 0,001	4,3±0,5; p2 < 0,001	5,9±0,5; p2 < 0,002; p3 < 0,05;	3,9±0,3; p1 < 0,1; p2 < 0,001; p4 < 0,01
ΔМДА, %	20	27	48	37	-10
Пероксидаза, ЕД	16,5±4,1	21,8±4,3;	10,1±1,4	14,3±2,8	9,8±2,4; p2 < 0,05
СОД; ЕД	1,05±0,09	1,72±0,12; p1 < 0,001	–	0,97±0,11; p2 < 0,001	–
Каталаза, ЕД	2,08±0,48	0,96±0,01; p1 < 0,05	0,91±0,12; p1 < 0,01	0,83±0,14; p1 < 0,01	1,12±0,21; p1 < 0,1
ГSH-пероксидаза, ЕД	58±12	108±17; p1 < 0,05	63±18	94±16	108±15; p1 < 0,05
Глюкоза; ммоль/л	3,44±0,34	7,67±0,34; p1 < 0,001	2,49±0,15; p1 < 0,02	4,09±1,46; p2 < 0,05;	2,58±0,23; p1 < 0,1; p2 < 0,001
НАД; мкмоль/л	409±67	474±24; p1 < 0,02	367±10	369±16	525±8; p3,4 < 0,001
ПЕЧЕНЬ					
МДА-0, ; мкмоль/кг	63,0 ± 4,7	72,2 ± 6,3	53,8 ± 15,4	59,6±4,5	45,7±3,6; p1 < 0,02; p2 < 0,01; p4 < 0,1
МДА-3; мкмоль/кг	79,8 ± 4,6	106,0 ± 9,2 p1 < 0,002	102,4 ± 20,6	90,9±8,4	73,1±5,8; p2 < 0,05
ΔМДА, %	27	47	90	53	60
АК; ммоль/кг	1,55 ± 0,24	1,32 ± 0,15	3,01 ± 0,77;	1,25 ± 0,40	2,56 ± 0,45; p2,4 < 0,1
ДАК; ммоль/кг	0,87 ± 0,14	0,76 ± 0,11	1,56 ± 0,15; p1 < 0,01; p2 < 0,001	1,30 ± 0,59;	1,64 ± 0,16; p1,2 < 0,01
ГSH-пероксидаза, ЕД	49,0 ± 12,0	24,3 ± 5,9; p1 < 0,1	131,1 ± 15,9; p1 < 0,001	54,6 ± 11,3; p2 < 0,05; p3 < 0,01	76,7 ± 10,3; p1 < 0,1; p2 < 0,002; p3 < 0,01
НАД; мкмоль/кг	1108 ± 196	1144 ± 70	1012 ± 54	866 ± 51; p3 < 0,01	943 ± 28; p2 < 0,01
Цитохромоксидаза ЕД	0,82 ± 0,05	0,49 ± 0,07 p1 < 0,001	0,73 ± 0,09;	0,64 ± 0,09; p1 < 0,1;	0,31 ± 0,04; p1,3 < 0,001; p2 < 0,05; p4 < 0,01
Фтор; мкмоль/кг	11,7±1,4	57,0±21,6; p1 < 0,05	8,4±0,6	19,5±4,2; p3 < 0,02	14,9±1,0; p2 < 0,05; p3 < 0,001

гу, почках (табл. 1, 2), что отражает развитие тканевой гипоксии; возможно, активность мембраносвязанного митохондриального фермента блокируется не только фторидом, но и активными формами кислорода. Особенно страдает мозг, где снижено содержание НАД, за счёт неиспользования в тканевом дыхании НАДН. Сохраняется, характерная для

гиперхолестеринемии, гипогликемия (табл. 1). По сравнению с величинами контроля на совместное воздействие фторида и холестерина концентрация фтора в моче снизилась в 24 раза, но при этом оставалась больше величин остальных контролей и нормы. По многим указанным параметрам наблюдается схожесть с коррекцией гиперфтороза

Таблица 2

Эффекты сочетанного воздействия фторида натрия, холестерина, комплекса биантиоксидантов в хроническом эксперименте (сердце, мозг, почки, моча)

Показатель	Интакт	NaF	Холестерин	NaF + Хол	NaF+Хол+АО
СЕРДЦЕ					
АК, ммоль/кг	0,63±0,09	1,16±0,16 p1<0,01	2,09±0,15 p1<0,001	2,02±0,34 p1,2<0,002	1,84±0,23, p1<0,001, p2<0,05
ДАК, ммоль/кг	0,62±0,14	0,43±0,14	0,99±0,12 p1<0,1	0,42±0,18 p3<0,05	1,15±0,05, p1<0,01 p2<0,001, p4<0,1
НАД, мкмоль/кг	868±67	1041±12 p1<0,05	916±80	899±47 p2<0,01	1066±40, p1<0,05 p4<0,02
Цитохром-оксидаза, ЕД	1,36±0,13	1,21±0,09	1,32±0,10	1,42±0,19	1,04±0,06, p1<0,05
МОЗГ					
МДА-0, мкмоль/кг	64,9±5,6	56,8±7,7	48,6±7,0	54,1±2,7	29,5±0,7, p1,4<0,001, p2<0,01, p3<0,02
МДА-3, мкмоль/кг	127,4±14,5	148,1±13,2	169,7±7,9 p1<0,05	140,7±12,0	125,8±15,9 p3<0,05
ΔМДА, %	96	161	249	160	326
АК, ммоль/кг	1,31±0,37	1,14±0,19	2,50±0,36 p1<0,05	1,47±0,45	1,97±0,30 p2<0,05
ДАК, ммоль/кг	0,63±0,11	0,95±0,18	1,33±0,12 p1<0,001	1,69±0,45	1,49±0,11 p1<0,001
НАД, мкмоль/кг	864±98	1039 ±33	912±48	902±63	821±24 p2<0,001
Цитохром-оксидаза, ЕД	1,09±0,05	0,92±0,05 p1<0,05	0,96±0,10	0,82±0,04 p1<0,001	0,78±0,03, p1<0,001, p2<0,05
ПОЧКИ					
МДА-0, мкмоль/кг	55,3±7,2	52,9±5,3	51,5±3,9	54,1±2,7	29,5±0,7, p1,2<0,01 p4<0,001
МДА-3, мкмоль/кг	110,6±12,1	113,0±13,2	88,0±20,1	91,1±8,4	71,4±3,1, p1,2<0,01 p4<0,05
ΔМДА, %	100	114	71	68	142
АК, ммоль/кг	1,45±0,34	1,72±0,20	2,84±0,49 p1<0,05	2,01±0,49	2,09±0,35
ДАК, ммоль/кг	0,36±0,11	0,66±0,15	1,06±0,11 p1<0,001	0,70±0,36	1,32±0,25, p1<0,002, p2<0,05
НАД, мкмоль/кг	914±166	1054±75	906±35	924±31	1003±75
Цитохром-оксидаза, ЕД	1,06±0,04	0,88±0,09 p1<0,001	0,91±0,13	0,99±0,15	0,77±0,04 p1<0,001
Фтор, мкмоль/кг	20,7±2,3	87,3±9,5 p1<0,001	13,6±0,5 p1<0,01	94,7±21,8 p1<0,01 p3<0,002	29,2±1,3, p1,4<0,01 p2,3<0,001
МОЧА					
Креатин, ммоль/л	0,39±0,06	2,49±0,46 p1<0,001	2,91±1,16 p1<0,05	2,24±0,55 p1<0,01	0,86±0,15, p1<0,01 p2<0,001, p3<0,1; p4<0,05
Креатинин, ммоль/л	6,66±1,45	12,65±0,46 p1<0,01	12,44±1,77 p1<0,02	9,08±1,75 p2<0,1	14,12±0,86, p4<0,001
Фтор, мкмоль/л	33,3±1,7	550±60; p1<0,001	66,9±3,4 p1<0,001	18785±319 p1,2<0,001	771,4±12,7 p1,2,4<0,001

Примечание: p<0,1 не указаны, p1 – сравнение с величинами интакта, p2 – с контролем на фтористую интоксикацию, p3 – с контролем на холестериную диету, p4 – с контролем на сочетанное воздействие фторида и холестерина. Сокращения: СГЭ – спонтанный гемолиз эритроцитов, СОД – супероксиддисмутаза, АК – аскорбиновая кислота, ДАК – дегидроаскорбиновая кислота, ГSH – глутатион, МДА-3 – малоновый диальдегид, образовавшийся после трёхчасовой инкубации гомогената органа в железо-аскорбинатном прооксидантном буферном растворе, МДА-0 – ТБК-реагирующие продукты до инкубации пробы, ΔМДА – прирост за время инкубации.

антиоксидантами, в том числе и по низкой выживаемости (60%).

Выводы

1. Холестериноз характеризовался гиперхолестеринемией, гипогликемией, перекисной деструкцией мембран эритроцитов, креатинурией и активацией глутатионпероксидазы.
2. Сочетанное воздействие фторида натрия и холестерина привело к увеличению в 34 раза по сравнению с гиперфторозом концентрации фтора в моче, что снизило интенсивность перекисного окисления.
3. Введение комплекса биоантиоксидантов на фоне гиперфтороза и гиперхолестеринемии резко усилило и антиоксидантный потенциал и перекисное окисление, в печени, сердце, мозгу, почках снизилась активность цитохромоксидазы; выживаемость животных (60%) сохранилась на уровне коррекции гиперфтороза биоантиоксидантами. В целом повышенные дозы антиоксидантов проявили прооксидантный эффект.

Литература

1. Беркало Л.В., Бобович О.В., Гейко О.О., Катрушов О.В., Кайдашев И.П., Кислий О.М., Куценко Л.О., Соколенко В.М., Сисюк В.А., Фадеева А.С., Цебржинский О.И. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині. Полтава, 1997. –271 с.
2. Девяткина Т.А. Влияние антиоксидантов (ионола и селенита натрия) на развитие экспериментального атеросклероза: Автореф. дис. канд. мед. наук. - М., 1976. - 20 с.
3. Зайчик А.Ш., Чурилов А.П. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения). –СПб: ЭЛБИ-СПб, 2007. -768 с. (с. 515-516).
4. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава, 1992. –С. 120-155.
5. Цебржинский О.И. Воздействие фторид-иона на антиоксидантный статус животных // Фтор, проблеми екології, біології,

медицини, гігієни: Матеріали науково-практичної конференції. –Полтава, 1993. –С. 99-101.

6. Цебржинский О.И. Определение концентрации фторид-иона в тканях // Тези доповідей науково-практичної конференції "Організація токсикологічної допомоги в Україні". –Київ, 2002. –С. 65.
7. Varskeviciene L.L., Cerniauskiene R.C., Drybauskas P.S. Effect of tokopherol on the production of malondialdehyde in rat tissue homogenates after hypobaric exposure // Len. Physiol. and Biophys. - 1984. - 3, N 1. - P. 47-53.

References

1. Bercalo K.V., Bobovich O.V., Heyko O.O., Katrushov O.V., Kaydashev I.P., Kisliy O.M., Kutsenko L.O., Sokolenko V.M., Susuk V.A., Fadeeva A.C., Tsebrzhinsky O.I. Pocibnik z experimentalno-klinishnich doslidzene v biologiy ta medbtsini. Poltava, 1997. -271 s. (in Ukrainian)
2. Devyatkina T.A. Vliyanie antioxydantov (ionola i selenit natriya) na razvitie experimentalnogo ateroskleroza: Autoref. dis. kand. med. nauk. –M., 1976. 20 s.
3. Zayshik A.Sh., Shurilov A.P. Patochimiya (endokrinno-metabolisheskie narusheniya)/-SPb: ELBI-SPb, 2007. -768 s. (515-516 s.). (in Russian)
4. Tsebrzhinsky O.I. Nekotorie aspekti antioxydantnogo statusa // Phisiologia I patolohiya perekicnogo okisleniya lipidov, hemostaza I immunoheneza. –Poltava, 1992. –С. 99-101. (in Russian)
5. Tsebrzhinsky O.I. Vozdeystvie ftoride-iona na ahtioxydantniy status jivotnich // Ftor, problem ecologii, biologii, meditsini, gigieni: materiali naucovo-practishnoy konferentsiy. –Poltava, 1993. –S.99-101. (in Russian)
6. Tsebrzhinsky O.I. Opreделение kontsentratsii ftoride-iona v tkanyach // Tezi dopovidey naukovo-practishnoy konferentsiy «Organizatsiya toxicologichnoi dopomogi v Ukraini». –Kiyv, 2002. –S.65. (in Russian)
7. Varskeviciene L.L., Cerniauskiene R.C., Drybauskas P.S. Effect of tokopherol on the production of malondialdehyde in rat tissue homogenates after hypobaric exposure // Len. Physiol. and Biophys. - 1984. - 3, N 1. - P. 47-53.

Резюме

**ЕФЕКТИ ПОЄДНАНОГО ХРОНІЧНОГО
ВПЛИВУ ФТОРИДУ НАТРІЮ,
ХОЛЕСТЕРИНУ, КОМПЛЕКСУ
БІОАНТИОКСИДАНТОВ В
ЕКСПЕРИМЕНТІ**

Цебржинський О.І.

Проведено хронічні (100 днів) дослідження на морських свинках по відтворенню гіперфтороза, холестериноза, спільного введення фториду натрію і холестерину, корекції спільного введення комплексом біоантиоксидантів (вітаміни Е, С, Р) в підвищених дозах. Холестериноз характеризувався гіперхолестеринемією, гіпоглікемією, перекисною деструкцією мембран еритроцитів, креатинурією і активацією глутатіонпероксидази. Одночасний вплив фториду натрію і холестерину призвів до збільшення в 34 рази в порівнянні з гіперфторозом концентрації фтору в сечі, що знизило інтенсивність перекисного окислення. Введення комплексу біоантиоксидантів на тлі гіперфтороза і гіперхолестеринемії різко підсилило і антиоксидантний потенціал і перекисне окислення, в печінці, серці, мозку, нирках знизилася активність цитохромоксидази; виживання тварин (60%) збереглося на рівні корекції гіперфтороза біоантиоксидантами. В цілому підвищені дози антиоксидантів проявили прооксидантний ефект.

Ключові слова: *гіперфтороз, холестериноз, комплекс вітамінів Е, С, Р.*

Summary

**COMBINED EFFECTS OF CHRONIC
EXPOSURE TO SODIUM FLUORIDE
CHOLESTEROL COMPLEX EXPERIMENT
BIOANTIOXIDANTS**

Tsebrzhinsky O.I.

Chronic performed (100 days) tests on guinea pigs hiperftoroz reproduction, holesterinoz, co-administration of sodium fluoride and cholesterol complex correction coadministration bioantioxidants (vitamins E, C, F) in high doses. Holesterinoz characterized by hypercholesterolemia, hypoglycemia, peroxide destruction of erythrocyte membranes, and activation of glutathione peroxidase, kreatinuriey. The combined effect of sodium fluoride and cholesterol led to an increase of 34 times compared to hiperftorozom fluorine concentration in the urine, thereby reducing intensity of peroxide oxidation. Introduction to complex bioantioxidants background hiperftoroz and hypercholesterolemia have increased dramatically and the antioxidant capacity and lipid peroxidation in the liver, heart, brain, kidneys, decreased activity of cytochrome oxidase; animal survival (60%) remained at the level of correction hiperftoroz bioantioxidants. In general, higher doses of antioxidants showed prooxidant effect.

Keywords: *hiperftoroz, holesterinoz, vitamins E, C, R.*

*Впервые поступила в редакцию 23.012015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*