

### Summary

NITROZOGLUTATIONI: SPECIFIC SYNTHESIS IN LYMPHOCYTO-ENDOTELIOTCYTIC INTERACTION *IN VITRO* UNDER CONDITIONS OF CHRONIC IMMUNOCOMPLEXEMIA

*Sadlyak O.V.*

The aim of our work was to study the characteristics synthesis of nitrozoglutationi in lymphocytes and endothelial rats with experimental chronic immunocomplexemia and determine corrections influence of corvitini on these processes. Analysis of incubation interaction of lymphocytes and endothelial cells of animals with CIU showed a sharp decrease in GSNO in all test sites

(more pronounced in lymphocytes), which can be regarded as a development nitrosoactivity stress in the studied cells and is a testament to decrease antioxidant system of cells under these conditions. Adding to the incubation medium corvitini — bioflavonoid with pronounced antioxidant and anti-inflammatory properties, led to normalization of all studied parameters.

**Key words:** *nitrix oxide, nitrozoglutation, chronic immunocomplexemia, lymphocyte, endoteliocyte, Corvitini.*

*Впервые поступила в редакцию 19.09.2013 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 613.32-099:546.56-06:612.015.11]-092.9

## ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПІД ВПЛИВОМ СУБТОКСИЧНИХ ДОЗ МІДДІ НА ФОНІ ВЖИВАННЯ ПИТНОЇ ВОДИ З РІЗНИМ ВМІСТОМ СТЕАРАТУ КАЛІЮ

*Лотоцька О.В.*

*ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”, м. Тернопіль, llototska@yandex.ru*

Метою дослідження було встановити особливості перекисного окислення ліпідів та стан аксидантного захисту в гомогенаті печінки білих щурів під впливом субтоксичних доз мідді на фоні вживання питної води з різним вмістом стеарату калію. Встановлено, що тривале вживання піддослідними тваринами питної води з концентраціями стеарату калію 125,0 і 62,5 мг/дм<sup>3</sup> негативно впливає на стан клітинних мембран гепатоцитів внаслідок активації процесів перекисного окиснення ліпідів. Недостатня активність антиоксидантної системи сприяє посиленню вираженості ендогенної інтоксикації. Комбінація стеарату калію з міддю навіть після одноразового введення останньої посилює токсичну дію ПАР, про що свідчило більш виражена активація процесів перекисного окиснення ліпідів та пригнічення активності антиоксидантної системи.

**Ключові слова:** *перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, мідь, стеарат калію, субтоксична доза.*

### Вступ

Питне водопостачання країни майже на 80 відсотків забезпечується за рахунок поверхневих вод, тому якість води у поверхневих водних об'єктах є вирішальним чинником санітарного та епідемічного благополуччя населення [1].

Практично всі поверхневі джерела водопостачання України впродовж останніх десятиліть інтенсивно забруднювались. Зараз особливу небезпеку представляють органічні рештки, поверхнево-активні речовини (ПАР) і важкі метали (ВМ). У водні об'єкти ці речовини надходять з промислово-побутовими та промислови-

ми стічними водами, а також зі стоками з сільськогосподарських угідь [2, 3].

На думку багатьох вчених, ПАР — мало токсичні для тварин і людини речовини. Але маючи деяку хімічну спорідненість з відповідними компонентами мембран клітин людини та тварин вони, при надходженні в організм, накопичуються на клітинних мембранах і при досягненні відповідної концентрації можуть викликати порушення ряду важливих біохімічних процесів [4]. До групи ПАР відносяться і стеарат калію. Він використовується у виробництві мила, кремів для рук, піни для гоління та інших косметичних засобів.

ВМ також мають виражені мембранотоксичні властивості, впливають на активність ензимів та перебіг біохімічних процесів, здатні до кумуляції в тканинах і за тривалої дії спричиняють віддалені негативні ефекти. Тому ризик для здоров'я людини та тварин зростає навіть у разі надходження їх в організм у незначній кількості [5]. До особливо небезпечних для живих організмів хімічних токсикантів відносять сполуки ВМ, які мають змінну валентність і беруть участь в окисно-відновних процесах. До цієї групи належить і мідь [6, 7].

З одного боку мідь відноситься до життєво необхідних для організму людини елементів і повинна постійно надходити в живі організми для забезпечення нормального проходження метаболічних процесів. Проте в останні роки в результаті антропогенної діяльності кількість міді у поверхневих водах зростає, і часом може досягати екстремально високого рівня забруднення. У разі зростання концентрації хімічних елементів, а саме міді, що надходять з навколишнього середовища, відбувається перевантаження клітин. Відповідно активуються токсичні ефекти надмірного їх накопичення [8, 9].

Існує думка, що основний механізм токсичної дії міді – це посилення процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) у тканинах [10]. Тому все зростаючі темпи

забруднення навколишнього середовища ВМ, а саме сполуками міді, можуть порушити рівновагу процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі та привести до тяжких захворювань.

Зараз в літературі достатньо висвітлені загальнобіологічні особливості процесів ВРО і ПОЛ, а також їх роль у спричиненні таких патологічних станів, як гіпоксія, запалення, імунний дисбаланс, які притаманні захворюванням багатьох органів і систем організму. При внутрішній патології тварин в багатьох випадках має місце зниження імунного статусу організму і порушення детоксикаційної функції печінки, що проявляється посиленням ПОЛ, метаболічними та структурними змінами в органах і тканинах організму [11, 12].

ВРО на всіх етапах свого перебігу утворює численні продукти, які є результатом взаємодії вільних радикалів між собою та біологічними макромолекулами. Одними із найпоширеніших біомаркерів є ТБК-активні продукти (ТБК-АП) ПОЛ, дієнові та трієнові кон'югати (ДК і ТК), за рівнем яких можна оцінювати інтенсивність ВРО в досліджуваних тканинах та ступінь їх ушкодження.

Активация ПОЛ є неспецифічним компонентом реакції організму на будь-які впливи, нетипові за силою і тривалістю. При цьому недостатність систем антиоксидантного захисту сприяє збільшенню ступеня вираженості цієї реакції [13, 14]. Антиоксидантна система (АОС) захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій. У цих процесах приймають участь ферменти супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КТ) [15].

Тому **метою нашого дослідження** було встановити особливості перекисного окислення ліпідів та стан аксидантного захисту в печінці піддослідних тварин, яка будучи місцем метаболізму хімічних сполук і біологічних компонентів, особливо зазнає їх шкідливого впливу, під впливом субтоксичних доз міді на фоні вжи-

вання питної води з різним вмістом стеарату калію.

### Матеріали та методи досліджень

Досліди проведені на 42 білих безпородних щурах-самцях масою 180-200 г. Групи відбирали методом рандомізації. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, та норм біомедицинської етики і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварини знаходилися на загальноприйнятому раціоні віварію в однакових умовах і відрізнялися лише за якістю питної води, яку тварини споживали з автопоїлок. Щурі 1-ї групи СК<sub>1</sub> (12 тварин) вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 125,0 мг/дм<sup>3</sup> (що дорівнювало МНД речовини), 2-ї групи СК<sub>2</sub> (12 тварин) — 62,5 мг/дм<sup>3</sup> (0,5 МНД), 3-ї групи СК<sub>3</sub> (12 тварин) — 31,2 мг/дм<sup>3</sup> (0,25 МНД). Щурі ще однієї, контрольної групи К (6 тварин) вживали воду з міського водогону. Через 25 днів від початку експерименту кожен дослідну групу поділили на 2 підгрупи по 6 щурів. Трьом підгрупам було внутрішньошлунково введено міді сульфату в дозі 1/20 від ЛД<sub>50</sub>.

Тварин виводили з експерименту шляхом кровопускання під тіопентал-натрієвим наркозом через 30 днів від початку дослідження. Вміст ТБК-активних продуктів визначали в гомогенаті печінки за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [16], кількість дієнових та трієнових кон'югатів — за інтенсивністю поглинання світла гептановою фракцією [17]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активні-

стю основних ензимів антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази (СОД) [18] і каталази (КТ) [19]. Експериментальні дані опрацьовували методом варіаційної статистики з визначенням критерію Ст'юдента та ступеня достовірності з використанням комп'ютерної програми Excel.

### Результати досліджень та їх обговорення

Основним біомаркером ПОЛ в організмі є ТБК-АП, що являють собою стабільний метаболіт нерадикальної деструкції гідроперекисів поліненасичених жирних кислот. Їх підвищення є методом раннього виявлення метаболічних порушень в організмі, навіть на доклінічній стадії захворювання. [20, 21].

Отримані результати показали, що концентрація ТБК-АП збільшувалася у крові тварин майже усіх експериментальних груп, за виключенням тварин 4-ї групи, що споживали питну воду із стеаратом калію в найменшій концентрації (рис. 1).

На 30 добу експерименту в гомогенаті печінки щурів 1-ї групи відмічалось зростання показника в 2,4 рази ( $p < 0,01$ ) в порівнянні з контролем, 2-ї групи — в 1,6 раз ( $p < 0,01$ ). В 3-й групі кількість ТБК-АП була практично на рівні контрольних величин.

Наступними показниками ПОЛ, які ми визначали, були ДК і ТК. Згідно з ри-

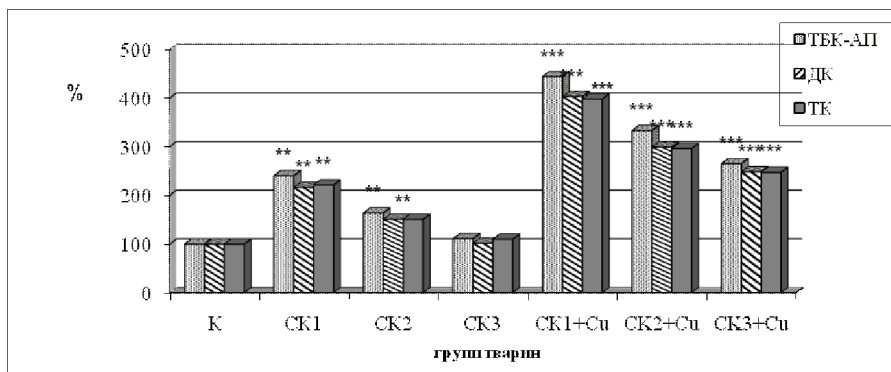


Рис. 1. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів в гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеарату калію та в комбінації з міддю (Примітка: тут і надалі \* — достовірність відмінностей показників дослідних і контрольної груп (\*\* —  $p < 0,01$  \*\*\* —  $p < 0,001$ )).

сунком 1, їх концентрація в гомогенаті збільшилася в порівнянні з контрольною групою практично однаково. Так, в 1-й групі обидва показника зросли 2,2 рази ( $p < 0,01$ ), а в 2-й – в 1,5 раз ( $p < 0,01$ ).

Введення щурам цих груп міді сульфату призвело до ще більшої стимуляції процесів ПОЛ. Про це свідчило зростання усіх попередніх показників. Так, кількість ТБК-АП у щурів 1-ї групи, які вживали питну воду з найбільшою концентрацією стеарату калію, після внутрішньо шлункового введення міді сульфату зросла в 4,4 рази в порівнянні з контрольними величинами ( $p < 0,001$ ), а в 2-й – в 3,3 рази ( $p < 0,001$ ). В 3-й групі кількість ТБК-АП також перевищувала контрольні величини в 2,6 рази ( $p < 0,001$ ).

Вміст ДК і ТК у гомогенаті печінки всіх трьох дослідних груп перевищував як контрольні величини, так і показники у щурів, яким не вводили важкий метал.

Комплексна оцінка наведених результатів показала, що наявність у питній воді стеарату калію та міді сульфату активує мембраноруйнівні процеси, підвищуючи інтенсивність ліпопероксидації. Всі ці продукти ПОЛ є мембранотоксичними, вони здатні деформувати мембрани клітин, порушувати їхню осмотичну резистентність і електричний потенціал, окиснювати тіолові сполуки і SH-групи білків мембран, розривати нуклеїнові кислоти, денатурувати білки і руйнувати амінокислоти. Проте, пошкоджуюча дія вільних радикалів стримується системою антиоксидантів, а збереження рівноваги між процесами ПОЛ та системи протидії (АОС) є запорукою збереження цілісності органа.

Оцінку впливу стеарату калію та міді сульфату на АОС організму піддослідних

тварин проводили шляхом аналізу активності каталази та вмісту супероксиддимутази в гомогенаті печінки. Встановили, що на 30-ту добу при оцінці стану організму піддослідних тварин, які споживали воду з різними концентраціями стеарату калію, було виявлено пригнічення активності цих показників. У 1-й дослідній групі спостерігалось зменшення КТ в 1,9 раз ( $p < 0,001$ ), в 2-й групі – в 1,2 раз в порівнянні з контрольною групою. Щодо СОД, то спостерігалися наступні зміни: у 1-й і 2-й групах – активність ензиму зменшилася практично однаково – в 2,2 раз ( $p < 0,001$ ). В 3-й групі обидва показника мало відрізнялися від контролю (рис. 2).

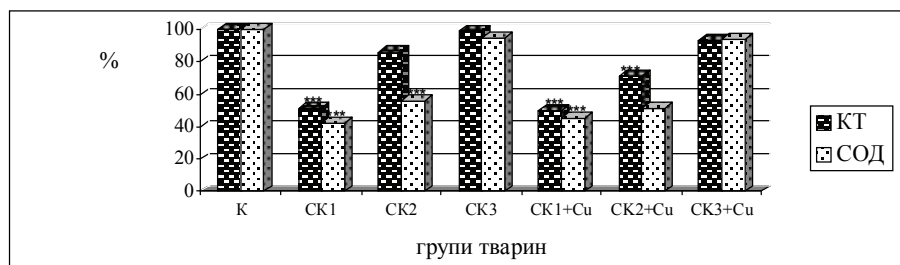


Рис. 2. Зміни показників антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеарату калію та в комбінації з міддю

Введення щурам цих груп міді сульфату призвело до ще більшого пригнічення АОС. В 1-й групі відмічалось достовірне ( $p < 0,001$ ) зниження обох показників: активність КТ зменшилася в 2 рази, а СОД в 2,2 рази в порівнянні з контрольною групою. В 2-й групі пригнічення показників було менш виражене – в 1,4 і 1,9 разів відповідно ( $p < 0,001$ ). І лише в останній 3-й групі рівень ензимів знаходився на рівні контрольних величин.

Таким чином, на нашу думку активація ВРО в ПОЛ може бути неспецифічною патогенетичною ланкою формування патологічних змін в організмі за змодельованих умов, а зрив антиоксидантного захисту внаслідок такого впливу сприяє посиленню руйнації мембран та порушенню структурних і функціональних їх властивостей.

На основі отриманих даних можна зробити наступні **ВИСНОВКИ**:

- тривале вживання піддослідними тваринами питної води з концентраціями стеарату калію 125,0 і 62,5 мг/дм<sup>3</sup> негативно впливає на стан клітинних мембран гепатоцитів завдяки активації процесів перекисного окиснення ліпідів. Недостатня активність антиоксидантної системи сприяє посиленню вираженості ендогенної інтоксикації.
  - комбінація стеарату калію з міддю, навіть після одноразового введення останньої, посилює токсичну дію ПАР, про що свідчило більш виражена активація процесів перекисного окиснення ліпідів та пригнічення активності антиоксидантної системи.
- Література**
1. Закон України «Про Загальнодержавну програму «Питна вода України на 2006-2020 роки» № 2455 – IV від 03.03.2005.
  2. Тимочко Т. В. Всеукраїнська екологічна ліга про поліпшення питного водопостачання та охорону вод в Україні / Т. В. Тимочко // Екологічний вісник. – 2009. – № 2. – с. 27-29.
  3. Шевчук Ю. Ф. Якість питної води джерел водопостачання міста Чернівці / Ю. Ф. Шевчук // Наук. праці УкрНДГМІ, 2006. – Вип. 255. – С. 135-139.
  4. Грабовська О. С. Біологічний вплив поверхнево активних речовин на живий організм / О. С. Грабовська, С. С. Грабовський, В. В. Каплінський [та ін.] // Біологія тварин. -- 2006. – т.8, № 1-2. – С. 16-21.
  5. Мудрый И. В. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм / И. В. Мудрый, Т. К. Короленко // Врачебное дело. – 2002. — №5-6. – С. 6-9.
  6. Середюк А. М. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин. / А. М. Середюк, Э. Н. Белицкая, Н.М. Паранько – Д.: АРТ-ПРЕСС, 2004.– 148 с.
  7. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды / И. М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. — 1997. -№ 2. – С. 48-51.
  8. Стусь В. П. Вміст важких металів у нирках мешканців Дніпропетровської області / В. П. Стусь // Довкілля та здоров'я. – 2009. – № 2 (49). – С.20-24.
  9. Забруднення ґрунту хімічними елементами: фактори ризику, негативний вплив на здоров'я / Н. П. Гребняк, В. П. Гребняк, А. Б. Ермаченко [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2007. – № 3 (42). – С. 22-29.
  10. Приходько О.О. Вплив солей важких металів на біохімічні показники крові щурів різних вікових груп / О. О. Приходько // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2010. – № 2. – С. 42-47.
  11. Каримов И. З. Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в развитии метаболической интоксикации при патологии. / И. З. Каримов // Лаб. диагностика. – 2005. – № 1 – С.7-13.
  12. Барабой В. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковський / под общ. ред. Зозули Ю. А. – Киев: Наук. думка. – 1997. – С.18-92.
  13. Корж Е. В. Перекисное окисление липидов : причина или следствие / Е. В. Корж, В. В. Мухин, Е. Е. Латышев, Е. А. Асланова // Вестн. неотлож. и восстановлив. медицины, 2003. – Т. 4, № 2. – С. 347–350.
  14. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease / B. Frei // Academic Press, San Diego. – 1994. – P. 387–409.
  15. Беленічев І. Ф. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 3. [Електронний ресурс] – Режим доступу до журн.:

[http://www.medved.kiev.ua/arhiv\\_mg/st\\_2002/02\\_3\\_3.htm](http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2002/02_3_3.htm)

16. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
17. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 63-64 с.
18. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, И. Сеней // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.
19. Королюк М. А. Способ определения активности каталазы / М. А. Королюк // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 6–19.
20. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б.Меньщикова, В.З.Ланкин, Н.К.Зенков [и соавт.] – М.: Слово, – 2006. –553 с.
21. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — № 12. — С. 13–19.

**Резюме**

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА В ОРГАНИЗМЕ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СУБТОКСИЧЕСКОЙ ДОЗЫ МЕДИ НА ФОНЕ УПОТРЕБЛЕНИЯ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СТЕАРАТА КАЛИЯ

*Лотоцкая Е.В.*

ГВУЗ “Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я.Горбачевского” МОЗ Украины

Целью исследования было устано-

вить особенности перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты в гомогенате печени белых крыс под влиянием субтоксической дозы меди на фоне употребления питьевой воды с различным содержанием стеарата калия. Установлено, что длительное употребление подопытными животными питьевой воды с концентрациями стеарата калия 125,0 и 62,5 мг/дм<sup>3</sup> отрицательно влияет на состояние клеточных мембран гепатоцитов вследствие активации процессов перекисного окисления липидов. Недостаточная активность антиоксидантной системы способствует усилению выраженности эндогенной интоксикации. Комбинация стеарата калия с медью даже после однократного введения последней усиливает токсическое действие ПАВ, о чем свидетельствовало более выраженная активация процессов перекисного окисления липидов и снижение активности антиоксидантной системы.

*Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, медь, стеарат калия, субтоксическая доза.*

**Summary**

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE BODY OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER SUBTOXIC COPPER DOSES ON BACKGROUND USE DRINKING WATER WITH DIFFERENT CONTENT OF POTASSIUM STEARATE

*Lototska O.V.*

The aim of the research was determine the features of lipid peroxidation and antioxidant status in liver homogenate of rats under the influence subtoxic doses of copper on the background of the use of drinking water with different contents of potassium stearate. Was established that prolonged use by experimental animals drinking water with concentrations of potassium stearate 125,0 and 62,5 dm<sup>3</sup> negatively affects the cell membrane of hepatocytes due to activation of lipid peroxidation. Lack of activity of antioxidant system promotes strengthening severity of

endogenous intoxication. The combination of potassium stearate and copper even after a single injection of the latter increases the toxic effects of surfactants, as evidenced by a more pronounced activation of lipid peroxidation and suppressed the activity of antioxidant system.

*Keywords: lipid peroxidation, antioxidant protection, copper, potassium stearate, subtoxic dose.*

*Впервые поступила в редакцию 04.08.2013 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 613.644-07:[612.825.1+612.833.81].014.49+612.833.81].014.45.014.49

## **ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ СУДОВ НА УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПЛАВАНИИ**

**Евстафьев В.Н., Стоянов А.П., Нетудыхатка О.Ю., Шнайдер С.А.**

*Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, Одесса*

На протяжении длительного рейса в условиях действия интенсивных и малоинтенсивных факторов судовой среды (шум, вибрация, температура и др.) была изучена условнорефлекторная деятельность белых крыс линии Вистар (120 животных). Было установлено, что изменение условнорефлекторной деятельности зависит от интенсивности и времени воздействия факторов на отдельные группы экспериментальных животных.

*Ключевые слова: шум, вибрация, температура, условнорефлекторная деятельность.*

### **Введение**

Специфическими факторами условий обитания судовой среды являются шум, вибрация, химическое загрязнение, электромагнитные поля, температура окружающей среды и др. Известно воздействие этих факторов на отдельные органы и на системы организма в целом, как при действии отдельного фактора, так и при их сочетанном воздействии [1, 2]. Экспериментальные исследования осуществляются, в основном, в лабораторных условиях с использованием шумовибрационных стендов, климатических камер, что не позволяет получить реальную модель комплекса факторов судовой среды с учетом существенного воздействия волнения моря, влажности и ионного состава воздуха, перепадов атмосферного давления и др., действующих на организм в условиях длительного плавания.

Известно, что влияние неблагоприятных факторов среды с преобладанием

длительного воздействия шумовибрационного компонента и температурного фактора способствует изменению функциональной организации структур и систем головного мозга и сдвигам в интерцентральных отношениях между ними. Нами было показано, что у экспериментальных животных при воздействии шума и вибрации наступали изменения условнорефлекторной деятельности, выраженность которых зависела от уровня интенсивности и длительности экспозиции [3, 4].

Задача настоящего исследования заключалась в изучении влияния факторов судовой среды (акустического шума, общей вибрации и температуры)

на условнорефлекторную реакцию избегания (УРИ), а также отношение УРИ к общему числу сочетаний (УРИ/ОЧС) с учетом особенностей воздействия этимизола и кофеина в реальных рейсовых условиях.