

В.В. Бенеманский, Г.Г. Юшков, В.В. Игumenшчева, О.Г. Щукина

ОБ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (Ангарск)

В работе рассматривается возможность применения интегрального показателя оценки состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в токсикологических исследованиях. Приводятся конкретные результаты использования антиоксиданта дигидрокверцетина при отравлении дициклопентадиеном.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита, коэффициент пероксидации, дигидрокверцетин, дициклопентадиен

ABOUT INTEGRAL EVALUATION OF THE CONDITION OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN TOXICOLOGICAL EXPERIMENT

V.V. Benemanskiy, G.G. Yushkov, V.V. Igumenshcheva, O.G. Shchukina

Angarsk State Technical Academy, Angarsk

The article reviews possibility of use of integral index of evaluation of condition of lipid peroxidation and antioxidant protection processes in toxicological researches. Definite results of use of dihydroquercetin antioxidant at the dicyclopentadiene poisoning are presented.

Key words: lipid peroxidation and antioxidant protection, peroxidation coefficient, dihydroquercetin, dicyclopentadiene

Значение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ) при воздействии различных вредных факторов внешней среды довольно хорошо отражено в монографиях и периодических публикациях [1 – 13]. Необходимо отметить, что свободнорадикальное окисление — физиологический процесс, который обеспечивает регуляцию клеточной активности. Однако при избыточном проявлении свободнорадикальных форм кислорода самоускоряющийся процесс перекисного окисления липидов приводит к полному разрушению ненасыщенных липидов, нарушению структуры и функции белков, нуклеиновых кислот и других молекул и, в конечном счете, к гибели клеток.

К продуктам ПОЛ относят гидроперекиси липидов (ГПЛ), диеновые конъюгаты (ДК) и малоновый диальдегид (МДА), которые чаще всего определяются в токсикологических исследованиях для характеристики состояния процессов ПОЛ.

Одновременно в организме на клеточном и субклеточном уровнях происходит процесс свободнорадикального окисления системой АОЗ, которая включает несколько элементов, ингибирующих процессы образования свободных радикалов или инактивирующих продукты перекисного окисления. Прежде всего, это фермент супероксиддисмутаза (СОД), который катализирует реакцию диспропорционирования свободных радикалов кислорода. Далее — фермент глутатионпероксидаза, который разлагает перекись водорода за счёт одновременного окисления восстановленного глутатиона. К природным факторам с высокой антирадикальной активностью относят токоферолы и витамин С. Однако в токсикологических исследованиях чаще определяют активность пероксидазы,

каталазы, восстановленного SH-глутатиона, что связано с более простыми методами исследования и менее дорогостоящими и дефицитными реактивами.

Таким образом, процессы ПОЛ и АОЗ взаимосвязаны и являются нормальной сбалансированной физиологической реакцией организма для функционирования клеток и организма в целом. Однако при патологических процессах (болезнь, физическое или умственное перенапряжение, воздействие химических, радиоактивных и других вредных факторов) равновесие процессов ПОЛ и АОЗ может смещаться, причем практически в одну сторону — повышение показателей ПОЛ и снижение показателей АОЗ. Величина изменений показателей будет зависеть от силы и специфичности воздействия вредного фактора и укладываться в такие обобщающие представления, как преадаптация, адаптация и дезадаптация. Судить об этих процессах можно лишь при условии одновременной оценке показателей ПОЛ и АОЗ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В связи с этим нами сделана попытка объединить два взаимосвязанных процесса и одним цифровым значением показать направленность и глубину изменений. Цифровое значение мы обозначили буквой К — коэффициент пероксидации. Следует сразу же оговориться, что $K_{\text{перокси}}$ без накопления фактических данных пока не может быть стабильной величиной, т.к. зависит от многих причин (вид материала исследований, набора показателей, методических особенностей в каждом эксперименте и т.п.) и должен определяться и анализироваться в условиях конкретных исследований. В литературе имеются отдельные сообщения

об анализе баланса показателей ПОЛ и АОЗ через обобщённый коэффициент (4,11).

В общем виде формула определения $K_{\text{пероксид}}$ выглядит следующим образом:

$$K_{\text{пероксид}} = \frac{\text{МДА} + \text{ДК} + \text{ГПЛ}}{\text{каталаза} + \text{пероксид} + \text{СОД} + \alpha - \text{токоферол и др.}}$$

Если в числителе показатели более постоянны, то в знаменателе они будут меняться в зависимости от возможности исследователя. При этом необходимо учитывать размерность величины показателя, т.е. величина показателя должна быть в диапазоне от 1 до 10. При величине показателя больше этого диапазона необходимо вводить поправочный коэффициент. Так, если активность пероксидазы определяется в пределах 200 – 500 ед., то поправочный коэффициент для данного показателя должен быть равным 1/100.

Для иллюстрации приведём данные по изучению протективного и лечебного действия дигидрокверцетина (ДГК) – природного антиоксиданта из сибирской лиственницы – в дозе 86 мг/кг массы тела при однократном пероральном поступлении и при однократном пероральном воздействии дициклопентадиена (ДЦПД) – углеводородного топлива – в дозе 600 мг/кг, проведенному на базе института биофизики АГТА.

Показатели ПОЛ и АОЗ определяли общепринятыми методами, описанными в методических руководствах.

Определение $K_{\text{пероксид}}$ проводили по формуле:

$$K_{\text{пероксид}} = \frac{\text{МДА} + \text{ГПЛ} + \text{ДК}}{\text{пероксидаза} \times \frac{1}{100} + \text{каталаза} + \text{восст. SH} - \text{Г}}$$

$K_{\text{пероксид}}$ определяли для каждого животного, затем получали среднее значение и ошибку средней для каждой группы. Достоверность различий величины $K_{\text{пероксид}}$ между группами определяли по показателю t по формуле:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

Полученные данные, представленные в таблице 1, указывают на то, что величина $K_{\text{пероксид}}$ значительно варьирует в группах, что может свидетельствовать о различной степени напряженности функционирования процессов ПОЛ и АОЗ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные результаты, можно с уверенностью говорить о том, что при воздействии ДЦПД в организме животных происходит срыв адаптационных механизмов (идёт накопление продуктов ПОЛ при одновременно низкой активности показателей АОЗ). Введение подопытным животным в качестве антиоксиданта ДГК в значительной степени нормализует взаимодействие систем ПОЛ и АОЗ, при этом профилактическое введение ДГК в большей степени оказывает положительное влияние и приближает данное взаимодействие к практически здоровым животным.

Таким образом, использование показателя $K_{\text{пероксид}}$ позволяет в более компактной форме представлять экспериментальный материал и расширяет возможности теоретического обобщения материала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Яворовский А.П., Безродная Л.К. и др. Динамика показателей пероксидного окисления липидов и антиокислительной активности при длительном воздействии эпоксидных соединений в эксперименте // Гигиена труда и проф. заболеваний. – 1991. – № 4. – С. 34–35.
2. Блюгер А.Ф., Копылова Т.Н., Майоре А.Я. и др. Роль липопероксидации в патогенезе острого и хронического поражения печени алкоголем // Биохимия алкоголизма. – Минск: Наука и техника, 1980. – С. 22.

Таблица 1

Показатели ПОЛ и АОЗ у белых крыс при пероральном введении ДЦПД и ДГК

Показатели	Значение показателей в подопытной и контрольной группах животных (n = 6)			
	I группа контроль	II группа ДЦПД + ДГК	III группа ДГК + ДЦПД	IV группа ДЦПД
МДА, нмоль/мл	4,8 ± 0,32	8,2 ± 6,78	5,3 ± 0,28	8,2 ± 0,23*
ГПЛ, ед. опт. пл./мл	1,6 ± 0,09	2,0 ± 0,32	1,8 ± 0,07*	2,0 ± 0,1*
ДК, ед. опт. пл./мл	0,38 ± 0,02	0,22 ± 3,83	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,06*
Пероксидазная активность, мкмоль/мин × мл	317 ± 28,41	466,07 ± 30,56*	358,3 ± 27,28	222 ± 29,37*
Каталазная активность (каталазное число)	6,18 ± 0,64	4,3 ± 0,28*	7,7 ± 0,69	3,5 ± 0,44*
Восстановленный SH-глутатион, мкмоль/мл	4,1 ± 0,19	2,5 ± 0,52*	3,7 ± 0,4	1,4 ± 0,09*
$K_{\text{пероксид}}$	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,25	2,0 ± 0,3	4,7 ± 0,6
t	–	2,59	1,5	5,3
P	–	< 0,05	> 0,5	< 0,02

Примечание: * – различия с контролем достоверны (P < 0,05).

3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Медицина, 1972. — 252 с.
4. Горлачёв М.И., Люлька А.Н. Применение антиоксидантов для коррекции нарушений реактивности организма у больных острым холециститом // Тез. докл. II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант». — Черноголовка, 1986. — Т. 2. — С. 10—11.
5. Давыдов Б.В., Полумисков В.Ю., Голиков П.П., Голиков В.П. Интегральная оценка баланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы // Тез. докл. 4 Всесоюзного съезда специалистов по клин. лаб. диагностике. — М., 1991. — С. 48—49.
6. Копылова Т.Н., Вицупе З.В. Перекисное окисление липидов при остром токсическом поражении печени // В кн.: Вопросы биохимии патологических процессов. — Рига: Знание, 1979. — С. 58—61.
7. Копылова Т.Н., Майоре А.Я. Перекисное окисление липидов печени при остром и хроническом отравлении этанолом // В кн.: Вопросы биохимии патологических процессов. — Рига: Знание, 1979. — С. 24—27.
8. Львова С.П., Абаева Е.М., Гасангаджиева А.Г., Михайленко И.К. Антиоксидантная система тканей крыс при гипотермии и введении даларгина // Вопросы медицинской химии. — 2002. — Т. 48. — С. 189—195.
9. Олейник А.Н. Влияние антиоксиданта на перекисное окисление липидов при комбинированном поражении печени // Фармакология и токсикология. — 1983. — № 3. — С. 102—105.
10. Панасюк Е.Н., Скакун Л.Н. Активация перекисного окисления липидов в печени при гипотензии и предупреждение её антиоксидантами // Космическая биология и медицина. — 1985. — № 1. — С. 48—52.
11. Рык А.А., Мусселиус С.Г., Давыдов Б.В., Николаева Н.Ю. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система у больных с различной степенью гепатопатии при отравлении бледной поганкой // Токсикологический вестник. — 1996. — № 6. — С. 5—12.
12. Скакун Н.П., Ковальчук С.Ф. Эффективность антиоксидантов при комбинированном поражении печени четырёххлористым углеродом и этанолом // Фармакология и токсикология. — 1987. — № 3. — С. 97—99.
13. Степанова И.П., Дмитриева Л.М., Патюков А.Г. и др. Взаимосвязь между пероксидным окислением липидов, активностью антиоксидантной защиты и содержанием веществ низкой и средней молекулярной массы при интоксикации животных ацетальдегидом // Сельскохозяйственная биология. — 2004. — № 6. — С. 16—19.

Сведения об авторах

Бенеманский Виктор Викторович — доктор медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665830, г. Ангарск, ул. Партизанская, 2; тел.: (3955) 95-70-68; e-mail: emil09.42@mail.ru)

Юшков Геннадий Георгиевич — кандидат медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека, заместитель директора по науке НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Игуменьцева Виктория Валерьевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Щукина О.Г. — младший научный сотрудник отдела токсикологии НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»