УДК: 615.9+616.6:001.5

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ В ОРГАНІЗМІ ШУРІВ ПРИ ВСТАНОВЛЕННІ ПОРОГОВИХ РІВНІВ МЕТСУЛЬФУРОН-МЕТИЛУ В СУБХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Леоненко Н.С.

Інститут медицини праці АМН України, м. Київ

В статті представлено результати досліджень інтенсивності процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, окислювальної модифікації білків та антиоксидантної активності після перорального введення шурам метсульфурон-метилу, встановлено важливість оцінки змін прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі при розмежуванні порогових рівнів ушкоджуючої та неефективної дії цього гербіциду.

Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантна рівновага, порогові рівні, метсульфурон-метил

Вступ

Одним з основних принципів санітарної стандартизації є принцип пороговості, постулюючи концепція якого полягає в тому, що для кожної речовини, яка викликає ті або інші несприятливі ефекти в організмі, існують дози (концентрації), при яких зміни функцій будуть мінімальними (пороговими) [18].

Визнано, що при будь-якому впливі в організмі формуються реакції протистояння за участю адаптаційних систем [17, 16]. Не кожна реакція організму на введення хімічної речовини може вважатися порогом шкідливої дії, а тільки та, яка відповідає критерію шкідливості. Нормальний фізіологічний стан організму є предметом серйозних методологічних дискусій. Фізіологічна норма безумовно є, але вона динамічна. Відомо, що із зменшенням дози, що вводиться до організму, відмічається збільшення знезаражуючого метаболізму та екскреції токсиканта [17]. Пошкодження розвивається тоді, коли швидкість надходження токсиканта до організму домінує над швидкістю його детоксикації, або коли швидкість відновлення структур і функцій, що змінюються під впливом отрути, нижча, ніж швидкість їхньої дестабілізації. Адже живі істоти постійно відновлюють структури і функції та здійснюють протосувальні перебудови [16].

Величина порогової дози залежить від вибраного показника та чутливості методів дослідження. Теоретично, навіть незначні кількості біологічно активних речовин будуть вступати в реакцію з біосубстратом, отже, будуть діючими. Складність полягає у вирішенні питань, — як оцінити зміни, як

визначити їх шкідливість? Для оцінки гігієнічної значимості виявлених порушень вирішальне значення має вивчення направленості змін показників, що їх характеризують, та їхньої тривалості в часі. Стійкі і, особливо, прогресуючі зміни потрібно розглядати як прояви шкідливого впливу [3].

Згідно з сучасними уявленнями, ведучим ланцюгом у механізмі різних патологічних станів та проявів шкідливого впливу ксенобіотиків на організм теплокровних вважається зростання інтенсивності вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків (ОМБ) [1, 7].

У нормі інтенсивність процесу ПОЛ підтримується на фізіологічному стаціонарному рівні завдяки антиоксидантній системі організму [15]. В основі формування патогенетичного механізму вільнорадикального пошкодження є порушення балансу між накопиченням продуктів ПОЛ та активністю системи ендогенних антиоксидантів [5, 8, 11, 13, 14]. Саме надмірна активація процесу вільнорадикального ПОЛ, що поєднується з виснаженням антиоксидантної системи (АОС), яку оцінюють за зміною співвідношення прооксидантно-антиоксидантої рівноваги, зумовлює пошкодження мембран клітин та біологічно значимих молекул активними формами кисню, що виявляється за несприятливої дії біотичних та абіотичних чинників та у численних патологічних станах [6, 9].

Особливості змін вільнорадикального біохімічного гомеостазу після введення низьких доз похідних сульфонілсечовини шурам та їх використання для гігієнічного нормування раніше не досліджувалися.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження проведені на статевозрілих щурах в динаміці при пероральному введенні протягом 30 діб гербіциду на підставі метсульфурон-метилу. Терміни дослідження – 7, 14, 30 доба та постекспозиційний період протягом 2 тижнів. Препарат вводили у вигляді водної суспензії щоденно, натщесерце в дозах 1,11 мг/кг, 3,5 мг/кг та 7,0 мг/кг в перерахунку на діючу речовину.

Вибір доз та термінів дослідження було зумовлено необхідністю оцінки пошкоджуючого впливу метсульфурон-метилу на рівні малих доз при короткочасному повторному введенні препарату, що в певній мірі моделює умови використання засобів захисту рослин.

Стан ПОЛ оцінювали за інтенсивністю спонтанного накопичення ТБК-активних продуктів (ТБАП) в печінці [2] та еритроцитах крові [10], дієнових кон'югатів (ДК) в плазмі крові [10]. Окислювальну модифікацію білків плазми крові щурів визначали за методом О.Ю.Дубиніної в модифікації І.Ф.Мещишена [12]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом загальних сульфгідрильних (SH-) груп (метод Елмана) та церулоплазміну (ЦП) в плазмі крові [10]. Результати проведених досліджень оброблено статистично з використанням критерію t-Стюдента.

Результати та обговорення

Внаслідок проведених досліджень встановлено, що метсульфурон-метил після повторного протягом 30 діб введення в організм щурів викликав біологічно значимі зміни вільнорадикального ПОЛ, ОМБ та

антиоксидантного захисту організму. Інтенсифікація процесу ПОЛ була найбільш виражена в тканині печінки порівняно зі змінами в еритроцитах та плазмі крові. Збільшення накопичення ТБК-активних продуктів в печінці щурів після введення їм метсульфурон-метилу виявлялося з першого терміну дослідження (7 доба) при всіх досліджених дозах, але утримувалося до кінця введення препарату (30 доба) тільки при найбільшій дозі – 7,0 мг/кг (табл.).

Введення щурам метсульфурон-метилу протягом 30 діб призводило також до підвищення ОМБ плазми крові. Інтенсифікація ОМБ була більш виражена за утвореними альдегідо- та кетонпохідними групами з залишками амінокислот основного (ОМБ₄₃₀), ніж нейтрального (ОМБ₃₇₀) типу.

Вірогідно, різні за амінокислотним складом білки мають не однакову здатність до окислювального катаболізму. Переважання утворення альдегідо- та кетонпохідних основного характеру може свідчити про посилення металокаталізованого окиснення білків (МКО), що відбувається у тій частині білкової молекули, що бере участь у зв'язуванні металів змінної валентності (Fe²⁺, Cu²⁺) [7]. На сьогодні відомо значну кількість білків, що можуть модифікуватися за рахунок МКО. Вони, переважно, належать до ферментів (ацетилхолінестераза, каталаза, супероксиддисмутаза тощо). А утворення карбонільних похідних внаслідок МКО пов'язують з окисненням лізинових, аргінінових, пролінових залишків.

Чергування активації процесу ПОЛ із зниженням чи нормалізацією в динаміці експерименту може бути пов'язано з тим, що введення препаратів в

Таблиця

Прооксидантно-антиоксидантна рівновага в організмі щурів при введенні гербіциду на основі метсульфурон-метилу (% до контролю)

Доза, мг/кг	Термін дослідження	Показники						
		ТБАПп	ТБАПе	ДК	ОМБ ₃₇₀	ОМБ ₄₃₀	ЦП	SH-
1,11	7 доба	+40*	-10	+61*	+12	+14	+23	+29
	14 доба	+38*	+9	+9	-22*	+21*	+33	+17
	30 доба	-8	+11	+29*	-27*	-1	+27	+49*
	ПЕП	-16*	-11	+1	-6	-8	-3	-19
3,50	7 доба	+67*	+10	-6	+24*	+28*	+7	+11
	14 доба	+17	+30*	+4	+2	+9	+64*	-3
	30 доба	+4	-1	-12	-24*	-6	+17	+28
	ПЕП	-29*	+3	+2	+25	+22	+9	-1
7,0	7 доба	+56*	-4	-21	+4	+22*	-3	-13
	14 доба	+98*	+19	+24	+8	+23*	-12	0
	30 доба	+34	+32*	+10	+24	+7	-5	+43*
	ПЕП	-40*	+2	+0,5	+13	+12	+6	+8

Примітка: знаком * відмічено достовірні зміни порівняно з контролем ($P \leq 0,05$).

Показники: ТБАПп – ТБК-активні продукти в печінці, ТБАПе – ТБК-активні продукти в еритроцитах, ДК – дієнові кон'югати, окислювальна модифікація білків – ОМБ₃₇₀ альдегідо- та кетонпохідних нейтрального, ОМБ₄₃₀ альдегідо- та кетонпохідних основного типу, ЦП – церулоплазмін, SH-групи. ПЕП – постекспозиційний період.

низьких дозах призводить до активації антиоксидантного захисту організму щурів. Підтвердженням цього було збільшення в плазмі крові кількості церулоплазміну та загальних сульфгідрильних груп.

Активация процесу ПОЛ після введення шурам метсульфурон-метилу в найменшій дозі (1,11 мг/кг) супроводжувалася переважно тенденцією до збільшення антиоксидантної активності за вмістом церулоплазміну та SH-груп в плазмі крові з 7 по 30 добу експерименту (табл.). Це відображало функціональну напругу в антиоксидантній системі та сприяло збереженню прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в перші два терміни дослідження, коли інтенсифікація процесу ПОЛ була суттєвою.

Співвідношення ПОЛ/АОС на 30 добу експерименту зміщувалося в бік переваги антиоксидантного захисту організму, що призводило до нормалізації вільнорадикального ПОЛ. А після постекспозиційного періоду прооксидантно-антиоксидантна рівновага в організмі щурів нормалізувалася. Після введення шурам метсульфурон-метилу в середній дозі (3,5 мг/кг) збільшення кількості церулоплазміну в плазмі було суттєвим тільки на 14 добу експерименту. Суттєва ($P < 0,05$) активація процесу ПОЛ в печінці та ОМБ в плазмі крові на 7 добу експерименту у цієї групи щурів супроводжувалася здвигом прооксидантно-антиоксидантної рівноваги з переважанням в організмі прооксидантних процесів. На 30 добу та після постекспозиційного періоду співвідношення ПОЛ/АОС характеризувалося такою ж динамікою зміни, що і при дозі 1,11 мг/кг. Водночас, при статистично значимій інтенсифікації процесу ПОЛ та ОМБ після введення метсульфурон-метилу шурам в найбільшій дозі (7,0 мг/кг) активність АОС не підвищувалася, а навіть знижувалася (вміст ЦП у плазмі крові на 3–13%, за винятком вмісту SH-груп в плазмі крові на 30 добу експерименту). Це призводило до більш суттєвого зсуву прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік переважання прооксидантних процесів в організмі, який тривав до 30 доби експерименту і може свідчити про більш виражену несприятливу дію метсульфурон-метилу порівняно з впливом двох менших доз.

Отже, після введення шурам гербіциду похідного сульфонілсечовини метсульфурон-метилу в ма-

лих дозах відмічали активацію процесу ПОЛ та ОМБ. При цьому було відзначено також активацію антиоксидантного захисту організму щурів, що забезпечувало майже у всіх біосубстратах нормалізацію окисних процесів після відновного періоду.

В цілому, після введення шурам метсульфурон-метилу відмічали зміни показників ПОЛ, ОМБ, антиоксидантної активності та їх співвідношення. При цьому, після введення найбільшої досліджуваної дози метсульфурон-метилу (7 мг/кг) збільшення вмісту ТБКАП в еритроцитах, ОМБ за залишками нейтральних амінокислот були прогресуючим в часі, що може свідчити про поступове накопичення пошкоджуючого ефекту. Також відзначали суттєві зміни прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в сторону переважання прооксидантних процесів за співвідношенням ПОЛ/АОА в печінці в усі терміни дослідження, в еритроцитах — на 14–30 добу, в плазмі крові — на 14 добу та за співвідношення ОМБ/АОА в плазмі крові на 7–14 добу експерименту. Комплекс вище зазначених змін дає змогу розцінити дозу метсульфурон-метилу 7,0 мг/кг як мінімальний рівень виявлених шкідливих ефектів чи межу напруження захисних реакцій. — LOAEL (поріг шкідливої дії).

Відсутність стабільної активації процесу ПОЛ, ОМБ після введення шурам метсульфурон-метилу в дозах 1,11 мг/кг та 3,5 мг/кг, більш рання активація АОА в цих умовах порівняно з дією найбільшої дози та факти відсутності значимого зрушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги між ПОЛ, ОМБ та АОА є підставою для трактування доз 1,11 мг/кг та 3,5 мг/кг як таких, що відповідають рівню NOAEL (максимально неефективні дози).

Висновки

1. При дії малих доз гербіциду метсульфурон-метилу інтенсифікація процесу ПОЛ та ОМБ викликає активацію антиоксидантного захисту, що на рівні неефективних доз (NOAEL) забезпечує нормалізацію вільнорадикального гомеостазу у відновному періоді.

2. Зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в сторону інтенсифікації прооксидантних процесів свідчить про мінімальний рівень шкідливих ефектів (LOAEL), що можуть передувати розвитку патології, або створювати умови для її існування.

в норме и при голодании/ /Бюлл. эксперим. биол. и медицины.— 1982.— №4.— С.30–32.

3. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия.— Л: Медицина, 1986.— 280 с.

4. Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І. та ін. Основні шляхи утворення активних форм кисню в нор-

Література

1. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах/ /ВИНИТИ. Итоги науки и техники. Сер.: Биофизика.— М., 1991.— Т.29.— 250 с.

2. Гацко Г.Г., Мажуль Л.М., Позднякова Е.А. Перекисное окисление липидов в тканях крыс разного возраста

мі та при ішемічних патологіях (Огляд літератури)//Соврем. пробл. токсикол.– 2004.– №2.– С. 8–15.

5. Давыдов Б.В., Рык А.А., Мусселиус С.Г. и др. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных с отравлениями ядовитыми и условно съедобными грибами//Токсикол. вестн.– 1996.– №4.– С. 19–24.

6. Дубинська Г.М., Ізюмська О.М., Минак О.М. та ін. Показники перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної системи та імунітету у здорових людей і людей із підвищеною сприйнятливістю до інфекцій дихальних шляхів//Лабор. діагностика.– 2005.– №2.– С. 18–21.

7. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків//Мед. хімія.– 2001.– Т.3, №2.– С. 5–12.

8. Журавлева Т.Д., Суплютов С.Н., Киянюк Н.С. и др. Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей//Клинич. лаб. диагностика.– 2003.– №8.– С. 17–18.

9. Звягольська І.М. Специфічні зміни антиоксидантної напруженості крові лабораторних тварин за умов дії на них несприятливих екзогенних факторів та можливість їх корекції за допомогою органних пептидних комплексів//Пробл. екол. та мед.– 1998.– №5–6.– С. 18–21.

10. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т.– Т.2. – Минск: Беларусь, 2000.– 495с.

11. Кирьяков В.А., Павловская Н.А., Сааркопель Л.М., Сухова А.В. Изучение окислительного метаболизма в
Леоненко Н.С.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ УСТАНОВЛЕНИИ ПОРОГОВЫХ УРОВНЕЙ МЕТСУЛЬФУРОН-МЕТИЛА В СУБХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Институт медицины труда АМН Украины, г. Киев

В статье представлены результаты исследований интенсивности процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и антиоксидантной активности после перорального введения крысам метсульфурон-метила, установлена важность оценки изменений прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме при разграничении пороговых уровней повреждающего и неэффективного воздействия этого гербицида.

Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантное равновесие, пороговые уровни, метсульфурон-метил

Leonenko N.S.

CHARACTERISTICS OF CHANGES OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN THE BODY OF RATS FOR THE ESTABLISHMENT OF THRESHOLD LEVELS OF METSULFURON-METHYL IN THE SUBCHRONIC EXPERIMENT

Institute for Occupational Health of AMS of Ukraine, Kyiv

Results of research of effect of metsulfuron-methyl on lipid peroxidation, oxidative modification of proteins and antioxidant activity are represented in the paper. It has been founded that such changes in rates are important for estimation of adverse and noneffective effect of this herbicide.

Key words: prooxidant-antioxidant balance, threshold levels, metsulfuron-methyl

Надійшла 10.03.2006

Контактна особа: Леоненко Наталія Станіславовна, Інститут медицини праці АМН України, Київ, 01033, вул. Саксаганського, 75, тел. служ. (044) 289-41-82, тел. дом. (044) 547-85-67, e-mail: 123qqq@ua.fm