

Ш.С.Койгельдинова¹, Г.О.Жузбаева²¹Национальный центр гигиены труда и профессиональных заболеваний МЗ РК, Караганда;²Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова
(E-mail: kshs@list.ru)

Состояние перекисного окисления липидов при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и вибрации в эксперименте

В статье представлены результаты исследования состояния показателей перекисного окисления липидов при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и вибрации в эксперименте. Выявлено, что сочетанное воздействие полиметаллической пыли и локальной вибрации приводит к выраженной активации продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах крови, с образованием промежуточных и конечных продуктов. Определено, что данные изменения сопровождаются мембранодеструктивными изменениями в легочной ткани и усилением фосфолипазного гидролиза. Авторами показано, что при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и локальной вибрации более выражено проявляется гидролиз фосфоинозитидов.

Ключевые слова: эксперимент, полиметаллическая пыль, вибрация, кровь, легкие, перекисное окисление липидов, фосфолипиды.

На предприятиях горнодобывающей промышленности Республики Казахстан на организм рабочих воздействует комплекс неблагоприятных производственных факторов, среди которых одними из ведущих являются пыль и вибрация, которые могут приводить к развитию как самостоятельной, так и сочетанной профессиональной патологии [1–3]. При этом, как известно, сочетание вредных факторов производства может усугублять и потенцировать патогенное воздействие [4, 5].

В формировании профессиональной патологии от воздействия промышленной пыли и вибрации существенная роль отводится окислительному метаболизму — одному из определяющих сано- и патогенетических механизмов [6–8]. Известно, что при развитии отдельно взятой пылевой патологии и вибрационной болезни имеет место нарушение клеточного метаболизма, обусловленное активацией перекисного окисления липидов и дестабилизацией прооксидантной и антиоксидантной систем.

При этом остаются неизученными вопросы о патогенетической роли свободнорадикального окисления липидов, метаболизма фосфолипидов, являющихся термодинамически подвижными структурными компонентами биологических мембран, при формировании сочетанной патологии.

Цель исследования — изучение особенностей перекисного окисления липидов при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и локальной вибрации в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Эксперимент был проведен на лабораторных животных линии Wistar. Использовались контрольная группа (10 интактных животных) и 2 опытные группы (по 10 животных в каждой). Первая опытная группа подвергалась интратрахеальной затравке полиметаллической пылью (ПМП) в дозе 50 мг/мл со сроком 4 месяца, вторая опытная группа подвергалась интратрахеальной затравке ПМП в дозе 50 мг/мл в сочетании с локальной вибрацией (ЛВ) в 33 Гц со сроком 4 месяца. Животные содержались в виварии при естественном световом режиме на стандартной диете, со свободным доступом к воде.

У животных контрольных и подопытных групп проводилось тестирование в «открытом поле», с исследованием горизонтальной активности (ГА), вертикальной активности (ВА), груминга (Г) в 1 день до начала эксперимента, на 30-е, 60-е и 120-е сутки.

Содержание первичных продуктов ПОЛ (диеновые конъюгаты — ДК) и конечных (шиффовы основания — ШО) в эритроцитах определялось по Л.С.Кузнецовой [9], промежуточных продуктов ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) в эритроцитах — по М.С.Гончаренко [10], спонтанный гемолиз в эритроцитах (СГЭ) — по F.C.Jager [11].

Фракционный состав фосфолипидов в гомогенате легких определялся по методу Фолча [12] и Кейтса [13]. Определены следующие фракции фосфолипидов: лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), полифосфоинозитиды (ПФИ), монофосфоинозитиды (ФИ), дифосфоинозитиды (ФИ-1Ф), трифосфоино-

зитиды (ФИ-2Ф). Количественное содержание фракций фосфолипидов и фосфоинозитидов определялось по фосфору [14].

Результаты и обсуждение

У I группы экспериментальных животных, подвергавшихся ПМП, по сравнению с контролем, выявлено было достоверное повышение ДК на 18,4 %, ТБК-РП — на 32,14 %, ШО — на 51,30 %, СГЭ — в 1,6 раза (табл. 1). У II группы животных, подвергавшихся сочетанному воздействию ПМП и локальной вибрации, по сравнению с контролем выявлена более выраженная активация перекисного окисления липидов, о чем свидетельствовало достоверное повышение ДК на 23,69 %, ТБК-РП — на 64,28 %, ШО — на 72,17 %, СГЭ — в 2,8 раза.

Таблица 1

Показатели ПОЛ, гемолиза эритроцитов у животных при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и локальной вибрации со сроком 4 месяца (M±m)

Показатели	Контроль (n = 5)	I группа (n = 5)	II группа (n = 5)
ДК (усл. ед./ мл)	1,73±0,14	2,05±0,10*	2,14±0,11*
ТБК-РП (мкмоль/мл)	0,28±0,07	0,37±0,03	0,46±0,06*
ШО (усл. ед.)	1,15±0,2	1,74±0,2*	1,98±0,3*
СГЭ (%)	0,98±0,25	1,63±0,24*	2,81±0,62*

Примечание. * — достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$); I группа — опытная (ПМП); II группа — опытная (ПМП и вибрация).

Следовательно, при сочетанном воздействии пылевого и вибрационного факторов наблюдается выраженная активация перекисного окисления липидов, включая увеличение первичных продуктов — диеновые конъюгаты, промежуточных продуктов — ТБК-реактивные продукты и конечных — шиффовы конъюгаты, на фоне усиления спонтанного гемолиза эритроцитов.

В легочной ткани, как при изолированном воздействии ПМП, так и сочетанном воздействии ПМП и локальной вибрации, на фоне активации ПОЛ выявлено изменение фосфолипидов. В I группе ЛФХ повышался, по сравнению с контролем, на 24,9 %, а во II — на 34,6 %. СМ повышался на 24,5 % и 14,8 % соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Фосфолипиды легких у животных при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и локальной вибрации со сроком 4 месяца (M±m)

Показатели, нмоль/мл	Контроль (n = 5)	I группа (n = 5)	II группа (n = 5)
ЛФХ	175,98±14,10	225,17±16,68*	242,16±18,78*
СМ	204,30±15,00	264,70±17,61*	244,86±18,47*
ФХ	181,14±18,64	163,10±11,90	153,35±10,07
Фи	190,63±4,56	177,19±11,08	148,97±17,00*
ФС	196,78±8,12	224,70±9,14*	253,74±11,38*
ФЭ	206,38±14,83	153,13±12,34*	125,91±26,78*
ОФл	195,00±17,57	225,14±15,81	280,30±29,12*
ФИ	195,86±19,67	175,50±16,70	165,26±26,11*
ФИ-1-Ф	190,16±14,73	154,13±11,46*	286,17±25,74*
ФИ-2-Ф	175,24±10,91	131,19±12,74*	317,29±21,59*
ПФИ	265,40±25,03	185,32±34,17*	624,90±56,95*
ОФИ	389,97±17,95	354,14±21,80	402,90±29,81

Примечание. * — достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$); I группа — опытная (ПМП); II группа — опытная (ПМП и вибрация).

Фосфатидилхолин имел тенденцию к понижению на 10 и 16 % соответственно. ФИ в I группе имел тенденцию к снижению на 8 %, а во II группе достоверно снижался на 22 %. ФС достоверно снижался на 14,18 % в I группе и на 28,3 % — во II.

Фосфатидилэтаноламин достоверно снижался на 26 и 39 % соответственно. Общие фосфолипиды повышались в 2-х опытных группах — в I группе имели тенденцию к повышению на 14,45 %, во II — достоверно повышались на 41,7 %.

Фракционный состав фосфоинозитидов определялся разнонаправленным характером изменений. Если при изолированном воздействии ПМП, по сравнению с контролем, отмечалось достоверное снижение ФИ-1Ф на 19 %, ФИ-2Ф на 26 %, ПФИ на 30 %, а общие фосфоинозитиды имели тенденцию к снижению на 9 %, то при сочетанном воздействии ПМП и локальной вибрации, наоборот, ФИ-1-Ф достоверно повышался на 50,4 %, ФИ-2Ф — на 81 %, ПФИ — в 2,3 раза.

Таким образом, при сочетанном воздействии ПМП и локальной вибрации, видимо, можно говорить о более выраженном гидролизе фосфоинозитидов.

Для оценки выраженности пневмофиброза нами было исследовано содержание уровня оксипролина в легких. Оксипролин в легких животных I группы достоверно значимо повышался на 16 % (контроль — $150,08 \pm 2,41$, опыт — $174,09 \pm 4,28$), во II группе достоверно повышался на 35,6 % (контроль — $143,22 \pm 1,87$, опыт — $194,26 \pm 6,72$).

Полученные результаты свидетельствуют о более выраженном пневмофиброзе при сочетанном воздействии пылевого фактора и вибрации, что подтверждается выраженностью изменений продуктов ПОЛ и фосфолипидов, а значит, можно говорить о том, что сочетанное воздействие вредных факторов потенцирует патогенное воздействие.

Как известно, активация перекисного окисления липидов является ключевым механизмом нарушения целостности клеточных мембран в различных тканях организма [15–20], и даже при условии невыраженной активности свободнорадикального окисления возможно развитие тканевой гипоксии, обусловленной изменениями в пуле адениннуклеотидов, которые предшествуют изменениям других функционально-метаболических параметров, в том числе усилению процессов перекисного окисления ненасыщенных жирнокислотных остатков фосфолипидов [21].

Нами были исследованы индивидуально-типологические особенности животных с помощью теста «открытое поле», в котором определялась двигательная активность на примере горизонтальной активности (хождение на передних и задних лапках) и вертикальной (вставание на задние лапки), а также эмоциональная активность на примере грумминга — умывание мордочки животных.

Изменение показателя горизонтальной активности у животных I группы, по сравнению с контролем, указывало на четкую тенденцию к повышению на 30-е, 60-е и 120-е сутки на 7; 5,5 и 12,6 % соответственно (табл. 3). У животных II группы повышение данного показателя носило достоверно значимый характер. Так, на 30-е сутки горизонтальная активность повышалась на 24,8 %, на 60-е — на 22,7 % и на 120-е — на 26,8 % (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Показатели теста «открытое поле» у животных при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и локальной вибрации со сроком 4 месяца ($M \pm m$)

Показатели	Группы	Сроки проведения теста (сутки)			
		1	30	60	120
Горизонтальная активность	К	$17,20 \pm 1,01$	$19,81 \pm 1,20$	$21,79 \pm 1,85$	$22,20 \pm 1,35$
	I	$18,60 \pm 1,07$	$21,20 \pm 1,68$	$23,00 \pm 1,17$	$25,00 \pm 1,19$
	II	$19,25 \pm 2,09$	$24,73 \pm 1,93^*$	$26,75 \pm 1,84^*$	$28,15 \pm 2,05^*$
Вертикальная активность	К	$4,60 \pm 1,07$	$3,00 \pm 0,20$	$3,25 \pm 1,10$	$3,50 \pm 0,28$
	I	$5,50 \pm 0,64$	$4,66 \pm 0,88$	$5,75 \pm 1,04$	$5,67 \pm 1,16^*$
	II	$5,96 \pm 1,04$	$6,79 \pm 1,47^*$	$6,99 \pm 1,53^*$	$7,05 \pm 1,79^*$
Грумминг	К	$3,01 \pm 0,50$	$4,05 \pm 0,25$	$4,00 \pm 0,20$	$3,57 \pm 0,57$
	I	$3,46 \pm 0,20$	$4,15 \pm 0,62$	$2,75 \pm 0,85$	$1,55 \pm 0,90^*$
	II	$3,68 \pm 0,48$	$5,23 \pm 0,54^*$	$1,99 \pm 0,92^*$	$1,10 \pm 0,97^*$

Примечание. * — достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$); I группа — опытная (ПМП); II группа — опытная (ПМП и вибрация).

Вертикальная активность у животных I и II групп достоверно повышалась, при этом выраженное повышение отмечалось при сочетанном воздействии ПМП и локальной вибрации. Так, если в I группе наблюдалось повышение на 55,3; 76,9 и 62 % к 30-м, 60-м и 120-м суткам соответственно, то во II группе превышение данного показателя, по сравнению с контролем, наблюдалось в 2,2; 2,1 и 2 раза.

Показатель грумминга у животных I группы на 60-е и 120-е сутки достоверно снижался на 31 и 57 % соответственно, а во II группе достоверное снижение данного показателя было более выраженным — на 50 и 68 %, при этом на 30-е сутки данный показатель имел достоверное повышение на 29,1 %.

На основании проведенного теста «открытое поле» нами было установлено, что характеристиками поведенческих реакций у экспериментальных животных при сочетанном воздействии полиметаллической пыли и вибрации являются повышение двигательной активности и ослабление эмоциональной активности.

В плане развиваемого представления о возможном механизме взаимного ускорения изменений метаболизма фосфолипидов при сочетанной профессиональной патологии следует думать, что в отличие от пылевой и вибрационной патологий, рассматриваемых в отдельности, при сочетании пневмофиброза и вибрационного фактора происходят более выраженные мембранодеструктивные процессы, обусловленные повышенной проницаемостью биомембран в условиях активации ПОЛ и фосфолипазного гидролиза и характеризующиеся проявлением детергентных свойств лизофосфатидилхолина, поскольку параллельно ему не только понижается фосфатидилхолин, но и резко повышается фосфатидилсерин, с участием которого активируется фосфолипидзависимая протеинкиназа, участвующая в фосфорилировании различных мембранных белков. В силу этого не исключается дезорганизация внутреннего слоя биомембран в результате проникновения лизофосфатидилхолина в пограничный слой мембран, что может приводить к изменению липидно-белковых взаимодействий и мембраносвязанных ферментов. Следовательно, можно говорить об изменениях в мембранорецепторной системе клеточных структур и окислительного фосфорилирования как о метаболическом звене патогенеза сочетанной патологии.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о более выраженных изменениях метаболизма фосфолипидов при формировании пылевой патологии в сочетании с вибрационной болезнью.

Выводы

На экспериментальной модели сочетанной патологии (сочетанное воздействие полиметаллической пыли и локальной вибрации) выраженная активация ПОЛ в эритроцитах с образованием промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, повышение спонтанного гемолиза эритроцитов сопровождаются мембранодеструктивными изменениями в легочной ткани — усилением фосфолипазного гидролиза, о чем свидетельствует повышение детергентной фракции фосфолипидов — лизофосфатидилхолина, снижением фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и повышением фосфоинозитидов.

Список литературы

- 1 Аманбеков У.А. Особенности течения вибрационной болезни у шахтеров-угольщиков // Актуальные проблемы медицины труда. — Алматы-Караганда, 2000. — Разд. 1. — С. 42–47.
- 2 Таткеев Т.А. Доза-эффективные зависимости многофакторных воздействий условий труда на работающих // Актуальные проблемы медицины труда. — Алматы-Караганда, 2000. — Разд. 1. — С. 19–27.
- 3 Кулкыбаев Г.А. Некоторые итоги деятельности и перспективы развития Института физиологии и гигиены труда МО и Н РК // Вестн. ЮКМА. — 2001. — № 4. — С. 129–131.
- 4 Измеров Н.Ф. Роль профпатологии в системе медицины труда // Медицина труда и пром. экология. — 2008. — № 11. — С. 1–8.
- 5 Измеров Н.Ф. Глобальный план действий по охране здоровья рабочих на 2008–2017 гг.: Пути решения и перспективы реализации // Медицина труда и пром. экология. — 2008. — № 6. — С. 1–9.
- 6 Байманова А.М. Патогенетические механизмы формирования антракосиликоза. — Караганда, 2000. — 231 с.
- 7 Джангозина Д.М. Метаболические, генетические показатели при воздействии производственных факторов // Астана медициналык журналы. — 2001. — № 1. — С. 16–21.
- 8 Ибраев С.А., Койгельдинова Ш.С., Игимбаева Г.Т., Ешмагамбетова Ж.А. Фосфолипиды крови при антракосиликозе в сочетании с вибрационной болезнью // Медицина труда и пром. экология. — 2006. — № 4. — С. 14–17.
- 9 Кузнецова Л.С., Тнимова Г.Т. Методика определения состояния эритроцитов при изучении воздействия на организм токсинов и экстремальных факторов: Метод. рекомендации. — Караганда, 1998. — С. 7–8.

- 10 Гончаренко М.С., Латипова А.Н. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. — 1985. — № 1. — С. 60–61.
- 11 Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vivo // Nutr. Diet. — 1968. — Vol. 10, No. 3. — P. 215–223.
- 12 Folch J., Lus M., Sloane-Stanley G.H. // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226. — P. 497–509.
- 13 Кейтс М. Техника липидологии. — М., 1975. — 201 с.
- 14 Грибанов Г.А., Базанов Г.А. Модификация ультрамикроскопического определения общего и неорганического фосфора с помощью малахитового зеленого // Лаб. дело. — 1979. — № 4. — С. 25–28.
- 15 Фатеева Н.М., Киянюк Н.С. Изменения показателей системы перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита мембран тромбоцитов при адаптации здоровых лиц к условиям Севера // Тез. докл. IV съезда физиологов Сибири и Дальнего Востока. — Новосибирск, 2002. — С. 286, 287.
- 16 Трубников Г.В., Варшавский Б.Я., Галактионов Л.П. и др. Оксидантный и антиоксидантный статус больных хроническим бронхитом и пневмонией // Пульмонология. — 2002. — № 4. — С. 37–40.
- 17 Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Проксиданты и антиоксиданты. — М.: Фирма «Слово», 2006. — 268 с.
- 18 Casagrande S., Bonetto V., Flatelli M. et al. Glutathionylation of human thioredoxin: a possible crosstalk between the glutathione and thioredoxin systems // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — P. 9745–9749.
- 19 Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В. Липиды как биоэффекторы. Введение // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 1. — С. 3–5.
- 20 Серебренникова З.Г. Роль жирных кислот фосфолипидов различных органов белых крыс в формировании резистентности к глубокому многократному переохлаждению // Вопросы мед. химии. — 1989. — Т. 35, № 4. — С. 92–96.
- 21 Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса // Вопросы мед. химии. — 2001. — Т. 47, № 6. — С. 561–581.

Ш.С.Қойгелдинова, Г.Ө.Жүзбаева

Эксперимент барысында полиметалл шаң және дірілдің бірігіп әсер етуінен липидтердің тотығуының жағдайы

Мақалада тәжірибе жүзіндегі полиметалл шаңы мен дірілдің липидтердің тотығуына біріккен әсерінің көрсеткіштері жарияланған. Полиметалл шаңы мен локалды дірілдің үйлескен ықпалы қандағы эритроциттердегі липидтердің тотығу өнімінің ашық белсенділікке жеткізетіні байқалды. Көрсетілген өзгерістер өкпе ұлпасындағы мембранодеструктивті өзгерістермен және фосфолипидтердің гидролиздің күшеюімен қосақталған, сондай-ақ фосфоинозитидтердің гидролизі көбірек шығарылғаны анықталған.

Sh.S.Koigeldinova, G.O.Zhuzbaeva

The state of lipid peroxidation when combined with the influence of polymetal dust and vibration in the experiment

The article presents the results of the research, indicators of lipid peroxidation when combined with the influence of Polymetal dust and vibration in the experiment. It is revealed that the combined effect of polymetallic dust and local vibration causes the expressed activation of peroxide oxidation of lipids in the red blood cells with the formation of intermediate and final products. These changes are accompanied membraneelectrode changes in the lung tissue and increased phospholipase hydrolysis. It is shown that when combined with the influence of Polymetal dust and local vibration, more clearly manifested hydrolysis of phosphoinositides.

References

- 1 Amanbekov U.A. *Actual problems of occupational medicine*, Almaty-Karaganda, 2000, 1, p. 42–47.
- 2 Tatkeev T.A. *Actual problems of occupational medicine*, Almaty-Karaganda, 2000, 1, p. 19–27.
- 3 Kulkybaev G.A. *Bulletin of UKMA*, 2001, 4, p. 129–131.
- 4 Izmerov N.F. *Occupational medicine and industrial ecology*, 2008, № 11, p. 1–8.
- 5 Izmerov N.F. *Occupational medicine and industrial ecology*, 2008, № 6, p. 1–9.
- 6 Beimanova A.M. *Pathogenetic mechanisms of formation of antracosilicosis*, Karaganda, 2000, 231 p.
- 7 Dzhangozina D.M. *Astana medical journal*, 2001, 1, p. 16–21.
- 8 Ibraev S.A., Koigeldinova Sh.S., Igimbaeva G.T., Eshmagambetova Zh.A. *Occupational medicine and industrial ecology*, 2006, 4, p. 14–17.

- 9 Kuznetzova P.S., Tnimova G.T. *Method of determining the condition of erythrocytes in the study of effects on the body of toxins and extreme factors*, Karaganda, 1998, p. 7–8.
- 10 Goncharenko, M.S., Latipova A.N. *Laboratory work*, 1985, 1, p. 60–61.
- 11 Jager F.C. *Nutr. Diet.*, 1968, 10, 3, p. 215–223.
- 12 Folch J., Lus M., Sloane-Stanley G.H. *J. Biol. Chem.*, 1957, 226, p. 497–509.
- 13 Cayts M. *Technique of lipid*, Moscow, 1975, 201 p.
- 14 Gribanov G.A., Bazanov G.A. *Laboratory work*, 1979, 4, p. 28.
- 15 Fateeva N.M., Kiyanyuk N.S. *Abstracts of the IV Congress of physiologists of Siberia and the Far East*, Novosibirsk, 2002, p. 287.
- 16 Trubnikov G.V., Warshawski B.Ya, Galaktionov L.P. et al. *Pulmonology*, 2002, 4, p. 37–40.
- 17 Menshikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. *Prooxidants and antioxidants*, Moscow: the Company «Slovo», 2006, 268 p.
- 18 Casagrande S., Bonetto V., Flatelli M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, p. 9745–9749.
- 19 Dyatlovitzkaya E.V., Bezuglov V.V. *Biokhimiya*, 1998, 63, 1, p. 3–5.
- 20 Serebrennikova S.G. *Problems of medical chemistry*, 1989, 35, 4, p. 92–96.
- 21 Dubinina E.E. *Problems of medical chemistry*, 2001, 47, 6, p. 561–581.

РЕПОЗИТОРИЙ КАРГУ