

Ж.Б.Тусупова

Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРИДОМ НИКЕЛЯ И ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ САЛСОКОЛЛИНА**

*Мақалада егеуқұйрықтардың никель хлоридымен улаңу кезіндегі қан плазмасындағы және эритроциттеріндегі липидтердің асқын тотығу реакциясына «Салсоколлин» препаратының әсер ету нәтижесі көрсетілген. Тотығуға қарсы белсенділікке ие ол препарат майлы пероксидация процесінің қарқындылығын бәсеңдетеді.*

*Results of the study of the influence of the preparation «Salsokollin» are presented in article on reactions peroxidation oxidations in red blood hutches and in plasma shelters beside rats at poisoning by chloride of the nickel. The Preparation «Salsokollin» possessing antioxidant by activity prevents processes peroxidation.*

Биосфера Земли в настоящее время подвергается нарастающему антропогенному воздействию. Наиболее масштабным и значительным является химическое загрязнение окружающей среды. Бурное развитие промышленности, техники, применение лекарственных препаратов, пищевых добавок и др. могут явиться причиной различных интоксикаций, связанных с поступлением в организм с пищей и водой различных микроэлементов в количествах, превышающих норму [1].

Токсичные соединения никеля загрязняют производственную среду предприятий горно-рудной, металлообрабатывающей, химической, приборостроительной промышленности, цветной металлургии, машиностроения, ТЭЦ и др. [2, 3].

В исследованиях Л.И.Антошина показано [4], что низкие уровни никеля действуют на показатели антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов, способствуют сенсбилизации организма, приводят к дисбалансу иммунологических показателей и усилению воспалительно-деструктивных процессов.

Алматинская декларация по первичной медико-санитарной помощи, стратегия ВОЗ «Здоровье для всех к 2000 году», а также Конвенция МОТ по безопасности труда и охране здоровья утверждают права каждого работающего человека. В указанных документах подчеркнут призыв ко всем странам — разработать национальную стратегию и программу по охране здоровья работающего населения [5].

В последнее время как никогда актуальной является задача восстановления функций органов и систем человеческого организма, ответственных за адаптацию к неблагоприятным факторам окружающей среды, восстановление работоспособности. Один из самых эффективных путей оздоровления населения состоит в широком применении природных биорегуляторов, адаптогенов, которые в настоящее время представлены достаточно широким ассортиментом биологически активных пищевых добавок [6, 7].

Казахстан обладает богатейшими запасами растительных ресурсов, однако практической медициной пока используется только незначительная часть [8].

В последнее время значительно возрос интерес к веществам растительного происхождения, обладающим низкой токсичностью и широким спектром биологической активности. Эти вещества, как правило, не являются ксенобиотиками. Как известно, лечебные свойства растений зависят от наличия в них разнообразных групп химических соединений: флавоноидов, алкалоидов, гликозидов, сапонинов, смол, кумаринов, жиров, белков, углеводов, ферментов, различных органических кислот, витаминов, жирных и эфирных масел, микро- и макроэлементов и др. [9, 10], обладающих высокой биологической активностью и оказывающих влияние на метаболизм.

Особый интерес вызывает большой и разнообразный класс органических соединений, широко распространенный в растительном мире, — это полифенольные соединения, в ряду которых важное место занимают флавоноиды, содержащиеся в растениях Казахстана. Среди них установлены соединения с антиоксидантным, спазмолитическим, ангиопротекторным, диуретическим, противолучевым, гепатопротекторным, противоопухолевым, антивирусным, противомикробным, капилляроукрепляющим, желчегонным, противоязвенным действием, что позволяет их рассматривать как потенциальные источники в поиске новых фитопрепаратов [11].

Флавоноиды — группа низкомолекулярных веществ, содержащихся в овощах, фруктах, орехах, семенах, дрожжах, цветах, коре деревьев. Суммарное количество флавоноидов в суточном рационе

человека составляет около 1 г, что вполне достаточно для выполнения ими важной биологической роли [12]. Они служат для защиты растений от грибковых паразитов, гербицидов и окислительных повреждений, индуцированных воздействием ультрафиолетового излучения. Как активные переносчики водорода флавоноиды участвуют в процессах фотосинтеза и окислительного фосфорилирования [13].

Салсоколлин является фитопрепаратом, состоящим из суммы флавоноидов, выделенных из растения рода солянки холмовой (*Salsola collina* Pall.): разработан в Институте фитохимии МОН РК [14].

Наиболее чувствительным процессом, реагирующим на воздействие различных факторов окружающей и производственной среды, характеризующейся повреждением мембран клеток, является перекисное окисление липидов (ПОЛ) [15].

Целью настоящего исследования является изучение влияния препарата «Салсоколлин» на реакции перекисного окисления липидов в эритроцитах и в плазме крови у крыс при хронической интоксикации хлоридом никеля.

#### *Материалы и методы*

Эксперименты проведены на 30 белых беспородных крысах-самцах массой 170–200 г, которые были разделены на 3 группы. Первая группа (n=10) — это интактные животные, вторая группа (n=10) состояла из животных, которым в течение 3-х месяцев вводили перорально хлорид никеля в дозе 5 мг/кг, третья (n=10) — из животных, получавших в течение 3-х месяцев перорально хлорид никеля в дозе 5 мг/кг и в течение 1,5 последних месяцев, кроме хлорида никеля, — препарат «Салсоколлин» в дозе 50 мг/кг.

Для оценки системы окислительного метаболизма с определением интенсивности процессов ПОЛ, состояния антирадикальной и антиперекисной защиты и степени мембранопатологических процессов в организме использовался комплекс методов. Объектами исследования послужила кровь — эритроциты и плазма.

В эритроцитах определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов (КД) по методу В.Н.Ушкаловой и Г.Д.Кадочникова (1987) [16]. Для определения шиффовых оснований (ШО) в мембранах эритроцитов использовался методический подход, предложенный Е.И.Львовской и соавт., (1991) [17]. Уровень тиобарбитуровой кислоты — реагируемых продуктов (ТБК-РП) в эритроцитах определяли по методу М.С.Гончаренко и А.М.Латыповой (1985) [18].

Система антирадикальной и антиперекисной защиты эритроцитов оценивалась по активности каталазы (КАТ) по методу М.А.Королюка и соавт., [19], по активности супероксиддисмутазы (СОД) по методу С.Чевари, (1984) [20], по активности глутатионредуктазы (ГР) по методу Н.Н.Кругликовой и И.М.Штутман [21], по активности глутатионпероксидазы (ГПО) по методу С.Н.Власовой и соавт. [22].

Содержание в плазме уровень ДК определяли по методу В.Б.Гаврилова и М.И.Мишкорудной (1983) [23]. Содержание ТБК — реактивных продуктов (ТБК — РП) в плазме крови — по методу Э.Н.Коробейникова (1989) [24].

Активность каталазы в плазме крови определяли по методу Aebi H. et. al. (1968) [25].

Кроме методов оценки системы ПОЛ — АОЗ, проводилось определение степени протеолиза в эритроцитах, в плазме. Определяли уровень средних молекул (СМ) в эритроцитах по методу А.Н.Ковалевского и О.Е.Нифантьева (1989) [26]. Содержание средних молекул (СМ) в плазме крови определяли по методу В.Г.Осиповича (1987) [27].

Полученные показатели обработаны методом вариационной статистики, степень достоверности различий между сравниваемыми величинами определяли по критерию Стьюдента.

#### *Результаты и обсуждение*

Учитывали, что эритроциты являются одной из первых функциональных структур, включающихся в ответную реакцию организма, отражающие функции плазматических структур. Деструктивные процессы обусловлены на ранней стадии такими универсальными механизмами, как свободнорадикальное окисление, поэтому более полное знание механизмов повреждения и защиты эритроцитарных мембран при экстремальных состояниях позволит выявить некоторые ранее не изученные механизмы повреждения и защиты организма на клеточном уровне — начального этапа защиты регуляторно-компенсаторных функций организма.

Как видно из таблицы 1, хроническая интоксикация крыс хлоридом никеля сопровождается существенным сдвигом ПОЛ, что подтверждается увеличением его продуктов, образующихся на разных стадиях перекисного каскада — ДК, КД, ТБК — РП и ШО. Так, при хронической интоксика-

ции хлоридом никеля происходит повышение ДК на 35 %, КД — на 34 %, ТБК — РП — на 61 % ( $p < 0,05$ ), ШО — 66 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой.

Происходят значительные изменения в функционировании системы АОЗ (табл. 1). Так, происходит угнетение активности ферментов АОЗ, в том числе и ключевых. Наиболее сильные изменения установлены в эритроцитах, о чем свидетельствует снижение активности ферментов АОЗ — КАТ, СОД, ГПО, ГР — на 45 % ( $p < 0,001$ ), 34 % ( $p < 0,05$ ), 24 % ( $p < 0,001$ ), 21 % соответственно.

По-видимому, неблагоприятное воздействие производственных факторов осуществляется путем непосредственного, прямого влияния на клеточную мембрану с резким увеличением скорости окисления липидов, вызывающих генерацию перекисных соединений на фоне изменения антиоксидантов, приводящих к глубоким структурным изменениям [28, 29].

Т а б л и ц а 1

**Показатели системы ПОЛ — АОЗ в эритроцитах крыс при хронической интоксикации NiCl<sub>2</sub> и его коррекции препаратом «Салсоколлин» (50 мг/кг)**

Показатели, единицы измерения	Группы		
	Интактные животные (1-группа)	NiCl <sub>2</sub> 5 мг/кг (2-группа)	NiCl <sub>2</sub> 5 мг/кг + «Sal. Pall.» 50мг/кг (3-группа)
<b>эритроциты</b>			
ДК, усл. ед./мл	14,9±2,4	20,1±1,6	16,6±1,7
КД, усл. ед./мл	9,1±3,8	12,2±1,2	10,3±2,3
ТБК — РП, мкмоль/мл	7,5±1,4	12,1±1,3*	10,5±1,2
ШО, усл. ед./мл	0,12±0,02	0,2±0,01**	0,15±0,02#
СМ, усл. ед.	0,11±0,02	0,19±0,01**	0,16±0,03
КАТ нмоль/Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мл/эр/мин	0,62±0,04	0,34±0,02***	0,49±0,01###
СОД, усл. ед./мл мин.	22,1±1,8	14,5±2,3*	18,8±1,5
ГПО, нмоль/GSH/мл эр/мин	130,1±3,7	98,9±4,8***	112,5±2,6
ГР, мкМНАДФН <sub>2</sub> /мл.эр./мин.	14,8±4,4	11,7±1,5	13,5±1,8

*Примечание:* \* — различия достоверны по сравнению с 1-й группой при  $p < 0,05$ ; \*\* — различия достоверны по сравнению с 1-й группой при  $p < 0,01$ ; \*\*\* — различия достоверны по сравнению с 1-й группой при  $p < 0,001$ ; # — различия достоверны по сравнению со 2-й группой при  $p < 0,05$ ; ### — различия достоверны по сравнению со 2-й группой при  $p < 0,001$ .

В плазме крови при хронической интоксикации хлоридом никеля обнаружено (табл. 2) повышение процессов липопероксидации — ДК, ТБК-РП — 12 и 17 %, соответственно и понижение активности КАТ на 37 %.

Одновременное повышение уровня ДК и ТБК-РП свидетельствует об усилении синтеза полиненасыщенных жирных кислот по липопероксидазному и по циклооксигеназному пути [30]. В ответ на такую реакцию в организме происходит расход ферментов антиоксидантной защиты, в частности, каталазы, активность которой понижается.

При этом отмечается параллельное увеличение СМ в эритроцитах на 73 % ( $p < 0,01$ ) и в плазме на 41 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой.

Введение животным 3-й группы препарата «Салсоколлин» в дозе 50 мг/кг массы тела приводит к достоверному улучшению показателей ПОЛ — АОЗ в эритроцитах крови (табл. 1). В этой группе показатели ДК по сравнению с опытной группой снижаются на 17 %, КД — на 15 %, ТБК — РП и ШО — на 13 %, 25 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. При этом стимулируются ферменты антиоксидантной защиты. Активности ферментов КАТ, СОД, ГПО, ГР по сравнению с опытной группой повышаются на 44 % ( $p < 0,001$ ), 29, 14 и 15 % соответственно.

Как видно из таблицы 2, препарат «Салсоколлин» при хронической интоксикации хлоридом никеля снижает уровни ДК на 4 %, ТБК — РП — на 8 % и активность фермента КАТ повышается на 44 % по сравнению с опытной группой.

Препарат «Салсоколлин» снижает уровень средних молекул в эритроцитах на 16 % и в плазме крови на 24 % ( $p < 0,001$ ).

Т а б л и ц а 2

**Показатели системы ПОЛ — АОЗ в плазме крови крыс при хронической интоксикации NiCl<sub>2</sub> и его коррекции препаратом «Салсоколлин» (50 мг/кг)**

Показатели, единицы измерения	Группы		
	Интактные животные (1-группа)	NiCl <sub>2</sub> 5 мг/кг (2-группа)	NiCl <sub>2</sub> 5 мг/кг + «Sal. Pall.» 50мг/кг (3-группа)
<b>плазма крови</b>			
ДК, моль <sup>-6</sup> /мл	4,1±0,31	4,6±0,39	4,4±0,16
ТБК — РП, нмоль/мл	2,4±0,16	2,8±0,17	2,6 ±0,15
СМ, ед. опт. плотн.	0,172±0,002	0,242±0,001***	0,183±0,002###
КАТ сек <sup>-1</sup>	0,08±0,03	0,05±0,01	0,072±0,02

Примечание: \*\*\* — различия достоверны по сравнению с 1-й группой при  $p < 0,001$ ; ### — различия достоверны по сравнению со 2-й группой при  $p < 0,001$ .

По-видимому, антиоксидантное и антитоксическое действие препарата «Салсоколлин» при хроническом отравлении хлоридом никеля обусловлено особенностями его химического состава. Известно, что из надземной части *Salsola collina* Pall. выделены и идентифицированы биологически активные флавоноиды: изорамнетин, рутин, трицин, кверцетин [31]. Установлено, что им характерно нейтрализовать активные формы кислорода путем образования комплексных соединений с ионами железа и тем самым обрывать цепные свободнорадикальные реакции [32].

#### Выводы

1. Хроническая пероральная интоксикация хлоридом никеля крыс сопровождается достоверной активацией процессов свободнорадикального окисления липидов в эритроцитах и в плазме крови. При этом отмечается супрессия антиоксидантных ферментов.

2. Препарат «Салсоколлин» оказывает выраженное антиоксидантное и антитоксическое действие при интоксикации хлоридом никеля, что подтверждает перспективность его использования для профилактики и коррекции последствий токсических поражений.

#### Список литературы

1. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. — М.: Медицина, 1994. — 256 с.
2. Nicel. Barceloux Donald G.J. Toxicol. Clin. Toxicol. — 1999. — 37, № 2. — С. 239–258.
3. Борисенкова Р.В., Гвоздева Л.Л., Луценко Л.А. Канцерогенная опасность никеля и его соединений // Медицина труда и промышленная экология. — 2001. — № 1. — С. 27–31.
4. Антошина Л.И., Павловская Н.А., Данилова Н.И., Крючкова Е.Н., Кондратович С.В. Ранняя клинико-лабораторная диагностика воздействия никеля на здоровье рабочих гальванических цехов // Медицина труда и промышленная экология. — 2002. — № 11. — С. 13–15.
5. Кулкыбаев Г.А. Медицина труда в Казахстане // Медицина труда и промышленная экология. — 2003. — № 10. — С. 2–8.
6. Додина Л.Г., Агамова Е.Е. Эффективность антиоксидантов и адаптогенов в повышении защитных реакций организма при воздействии факторов производственной и окружающей среды (обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 2. — С. 28–31.
7. Васильев А.В., Полоз Т.П., Соколов Н.Н. Лекарственные растения России — неиссякаемый источник для создания новых высокоэффективных лечебно-профилактических препаратов и биологически активных пищевых добавок // Вопр. мед. химии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 101–109.
8. Справочник по лекарственным растениям. — М.: Медицина, 1984. — 475 с.
9. Машлеева И.П., Айтимов А.С. Растительные источники сырья в производстве функциональных продуктов питания и пищевых добавок // Здоровье и болезнь. — 2005. — № 3. — С. 81–84.
10. Гордиенко А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1996. — № 4. — С. 75–78.

11. *Johnson P.J., McFarlane I.G.* Meeting report: International autoimmune hepatitis group // *Hepatology*. — 1993. — № 18. — P. 996–1005.
12. *Конакбаева Р.Д., Меурманова Р.Т.* Флавоноиды — растительные гепатопротекторы: состояние, проблемы и перспективы // *Медицина и экология*. — 2000. — № 4. — С. 120–122.
13. *Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б., Просенко А.Е.* Фенольные биооксиданты. — Новосибирск: СО РАМН, 2003. — 328 с.
14. *Адекенов С.М., Токпаев А.Х., Кульмагамбетова Э.А. и др.* Гепатопротекторное и антиоксидантное средство. Предпат. РК № 5696 от 15.01.98 г.
15. *Draper H., Hadley M.* A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malonaldehyde // *Xenobiotica*. — 1990. — V.20. — № 9. — P. 901–907.
16. *Ушкालова В.Н., Кадоchnikova Г.Д.* Использование параметров, характеризующих активность перекисного окисления липидов при адаптации человека к новым климатогеографическим условиям // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. — 1987. — № 5. — С. 571–573.
17. *Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лившиц Р.И.* Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // *Вопр. мед. химии*. — 1991. — № 4. — С. 92–93.
18. *Гончаренко М.С., Латипова А.М.* Метод оценки перекисного окисления липидов // *Лаб. дело*. — 1985. — № 1. — С. 60–61.
19. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и соавт.* Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело*. — 1988. — № 10. — С. 15–17.
20. *С.Чевари, И.Чаба., И.Секей* // *Лаб. дело*. — 1984. — № 6. — С. 362–365.
21. *Кругликова Г.О., Штутман Ц.М.* Глутатионпероксидазна та глутатионредуктазна активність печінки шурів після введення селеніту натрію // *Український біохімічний журнал*. — 1976. — № 2. — С. 223–229.
22. *Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А.* Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // *Лаб. дело*. — 1990. — № 8. — С. 19–22.
23. *Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуэль Л.М.* Анализ методов определения продуктов ПОЛ в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопросы медицинской химии*. — 1987. — № 1. — С. 118–121.
24. *Коробейникова Э.Н.* Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // *Лабораторное дело*. — 1989. — № 7. — С. 8–9.
25. *Aebi H. et. al.*, In *methoden der Enrumatizchen Analusen* Rid N.U. — Benrgmeyer. 1970 ed 2636.
26. *Ковалевский А.Н., Нифантьев О.Е.* Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы // *Лаб. дело*. — 1989. — № 10. — С. 35–37.
27. *Осипович В.К., Тушикова З.А., Маркерев И.М.* Определение средних молекул в плазме крови // *Лаб. дело*. — 1987. — № 3. — С. 221–234.
28. *Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И.* Человек и противокислительные вещества. — Л.: Наука, 1985. — С. 41–48.
29. *Айдарханов Б.Б., Локишина Е.А., Ленская Е.Г.* Молекулярные аспекты механизма антиокислительной активности витамина Е: особенности действия  $\alpha$  — токоферолов // *Вопросы медицинской химии*. — 1989. — № 3. — С. 2–8.
30. *Ronston D.* Free radicals // *Anasthesia*. — 1988. — V. 43. — № 4. — P. 315–320.
31. *Адекенов С.М.* Направленный поиск цитопротекторов растительного происхождения // *Фармация Казахстана. Спец. выпуск*, 2004. — Сент. — С. 4–9.
32. *Сейтембетова А.Ж., Адекенов С.М.* Природные полифенольные соединения-перспективный источник антиоксидантов. — Алматы, 2001. — 165 с.