

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ВИТАМИННОГО ПРЕПАРАТА НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Хроническая (в течение двух месяцев) ежедневная интоксикация дихлорэтаном в суммарной дозе 0,1 ЛД₅₀ половозрелых белых крыс вызывает усиление процессов свободнорадикального окисления, снижение активности ферментов антиоксидантной защиты и повышение содержания свободного гидроксипролина в гомогенатах эпифизов трубчатых костей. В плазме крови подопытных животных многократно увеличивается уровень С-телопептидов коллагена типа I при неизменной активности костной щелочной фосфатазы. Лечение животных витаминным препаратом «Триовит» в течение трех недель в дозе 50 мг/кг в сутки на фоне интоксикации дихлорэтаном оказывает положительный терапевтический эффект на обмен кости, снижая интенсивность хемилюминесценции, накопление первичных и вторичных продуктов липопероксидации, усиливая активность ферментных антиоксидантов, подавляя резорбтивные процессы.

Ключевые слова: дихлорэтан, интоксикация, костная ткань, метаболизм, антиоксиданты.

Литературные данные, посвященные влиянию негативных факторов окружающей среды и производственных условий, в том числе химических загрязнителей, на состояние соединительной и костной ткани, весьма ограничены. Показано снижение минеральной плотности кости в 2–3 раза у лиц, чья производственная деятельность связана с вибрацией, по сравнению с людьми других профессий [1], установлена зависимость степени развития остеопенического синдрома от дозовой нагрузки у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции [12], выявлено развитие остеопороза в различных сегментах скелета у космонавтов, находившихся в полете более 5–7 месяцев [7]. Описано остеотоксическое действие общих химических загрязнителей промышленно развитых городов (СО, NO₂, NH₃, SO, SO₂, SO₃, SH, бензол, толуол, формальдегид и др.) и выбросов металлургического производства (оксид марганца, соединения ртути, хрома, кремния и др.) [9], пестицидов (линдан, дипал, диптерекс, афос, пландрел) и динитроортокрезола [6, 8]. Нарушения роста и формирования костей, ускорение обмена костной ткани с превалированием катаболических процессов, изменения содержания кальция описаны при хроническом действии магния, фосфора, марганца, алюминия, фтора, меди, свинца, галлия [3, 4]. Снижение плотности костной ткани выявлено у работников химической промышленности, имеющих производственный контакт с хлорпроизводными алифатических

углеводородов (дихлорэтан, дихлорпропан, хлорвинил, хлорпропен, хлорэпоксипан, трихлорпропан, эпихлоргидрин) [5, 10]. Особое внимание авторы при этом обращают на интенсификацию перекисного окисления липидов (ПОЛ), дисбаланс радикалообразования и антирадикальной активности, связанные с индукцией микросомального окисления как ведущего патогенетического механизма. Влияние на метаболизм костной ткани и ее прочностные показатели вредных факторов химической природы и разработка при этом корректирующей терапии в проблеме остеопороза (ОП) остается наименее изученными. Актуальность указанной задачи определяется и тем, что заболевания костно-суставной системы на предприятиях химической промышленности среди болезней с временной утратой трудоспособности занимают третьи-четвертые места [14].

Цель работы

Изучение действия на метаболизм костной ткани крыс хронической интоксикации дихлорэтаном в низких дозах и оценка эффективности влияния антиоксидантного витаминного препарата «Триовит».

Материал и методы

Эксперименты проведены на 130 половозрелых крысах массой 186–200 г, которые были разделены на три группы: интактную, сравнения и опытную. Животные отдельных групп существенно не отличались массой, в процессе

эксперимента содержались в идентичных условиях вивария. Животным опытной группы и группы сравнения в течение двух месяцев ежедневно вводили внутривенно раствор дихлорэтана (ДХЭ) в оливковом масле в суммарной дозе 0,1 ЛД₅₀, после чего они забивались. Опытная группа крыс в течение трех недель перед забоем одновременно с ДХЭ один раз в сутки получала витаминный препарат «Триовит» внутривенно в виде суспензии в 2% растворе крахмала в дозе 50 мг/кг. У животных в плазме крови определяли содержание кальция, фосфора (реактивы «Вектор Бест», Россия), активность костной щелочной фосфатазы (КЩФ) (набор реагентов «Quidel Corporation», Германия), уровень С-телопептидов (Cross Laps) с использованием реактивов «Nordic Bioscience Diagnostics a/s», Дания. В гомогенате эпифизов бедренной кости изучали содержание белковосвязанного и свободного оксипролина [13], активность каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы наборами реагентов «Randox Med. Lab. Ltd». Об интенсивности липопероксидации судили по содержанию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (реагенты «ТБК-Агат», Россия), и накоплению первичных и вторичных продуктов ПОЛ, определяемых спектрофотометрически в гептан-изопропаноловом экстракте липидов [2], об активности свободнорадикального окисления (СРО) – по Fe-индуцированной хемилюминесценции с использованием ХЛ-003 (Россия) [11]. Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета Statistika 6.0 фирмы Stat Soft с оценкой в группах параметров выборочной средней (\bar{x}), стандартной ошибки средней ($s_{\bar{x}}$). Сравнение групп проводилось с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования

При интоксикации ДХЭ в гомогенате эпифизов бедренной кости наблюдалось увеличение уровня продуктов липопероксидации, свидетельствующее об интенсификации ПОЛ (табл. 1), как в гептановой фазе, содержащей преимущественно неэтерифицированные интермедиаты пероксидации жирных кислот и нейтральных липидов, так и в изопропаноловой фазе, представляющей переокисленные радикалы жирных кислот в структуре сложных липидов. Введение экспериментальным животным триовита, содержащего в одной таблетке 40 мг токоферола ацетата, 10 мг β-каротина, 100 мг аскорбиновой кислоты и 50 мг селена в комплексе с дрожжами, способствовало снижению образования диеновых конъюгатов ацилгидроперекисей (ДК) в обеих фазах липидных экстрактов гомогената кости, а также вторичных продуктов ПОЛ – кетодиенов, сопряженных триенов и ТБК-активных продуктов.

Ингибирующий эффект триовита на процессы свободнорадикального окисления подтвердился при исследовании хемилюминесценции гомогената костной ткани (табл. 2). Интоксикация ДХЭ сопровождалась повышением показателей, характеризующих нарастание СРО: спонтанной светимости, отражающей эти процессы в тканях без внешнего вмешательства, амплитуды быстрой вспышки, констатирующей образование свободных радикалов после инициирования солями двухвалентного железа, и светосуммы, определяющей способность биосубстрата подвергаться окислению. У подопытной группы животных, леченных триовитом на фоне интоксикации поллютантом, обнаруживается статистически значимое снижение всех показателей интенсификации хемилюминесценции.

Таблица 1. Содержание продуктов липопероксидации при интоксикации ДХЭ и введении триовита ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Группы крыс	ТБК-продукты, нмоль/г ткани	Гептановая фаза		Изопропанольная фаза	
		ДК, усл.ед.	КД и СТ, усл. ед.	ДК, усл.ед.	КД и СТ, усл. ед.
Интактная, n=20	3,08±0,30	0,78±0,005	0,96±0,02	1,04±0,024	0,85±0,003
Сравнения (ДХЭ), n=20	4,75±0,22 p=0,0008	0,98±0,011 p=0,0007	1,03±0,013 p=0,0361	1,10±0,014 p=0,0483	0,94±0,021 p=0,0034
Опытная (ДХЭ+триовит) n=20	3,86±0,25 p=0,0487 p ₁ =0,0263	0,85±0,01 p=0,0073 p ₁ =0,0009	0,88±0,008 p=0,0324 p ₁ =0,0009	1,06±0,03 p=0,874 p ₁ =0,0491	0,82±0,016 p=0,346 p ₁ =0,0008

Таблица 2. Изменение показателей индуцированной железом хемилюминесценции костной ткани крыс при хронической интоксикации ДХЭ и лечении триовитом

Показатели, усл.ед.	Группа крыс		
	Интактная, n=12	Сравнения, n=9	Опытная, n=10
Спонтанная светимость, Sp	0,19±0,04	0,34±0,04 p=0,0099	0,25±0,01 p=0,1345 p ₁ =0,0433
Амплитуда быстрой вспышки, h	1,13±0,07	5,11±0,19 p<<0,001	2,43±0,16 p=0,0008 p ₁ =0,0012
Светосумма, S Fe ²⁺	1,73±0,13	5,01±0,27 p<<0,001	3,48±0,22 p=0,0007 p ₁ =0,0018

Таблица 3. Влияние триовита на активность ферментов антиокислительной системы в гомогенатах костной ткани при интоксикации крыс дихлорэтаном

Фермент	Группа крыс		
	Интактная, n=12	Сравнения, n=10	Опытная, n=10
СОД, Ед/мг белка	7,52±0,24	4,36±0,19 p=0,0006	8,95±0,26 p=0,0067 p ₁ <<0,001
ГПО, Ед/мг белка	462±31,8	268±20,4 p<<0,001	504±33,6 p=0,0837 p ₁ <<0,001
Каталаза, мкмоль/мг белка	11,1±0,32	8,0±0,57 p=0,0016	10,3±0,34 p=0,1588 p ₁ =0,0068

Антиоксидантный эффект триовита проявился и при определении активности основных ферментов антиокислительной системы. У крыс подопытных групп под влиянием триовита наблюдалась в гомогенатах кости активация супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы (табл. 3).

Лечение триовитом оказывало положительное влияние на минеральный обмен кости, повышая в плазме крови уровни кальция и магния, в костной ткани – содержание белковосвязанного оксипролина, на фоне снижения уровня свободного оксипролина, отражающего интенсивность процессов катаболизма основного белка органического матрикса кости – коллагена типа I (табл. 4). Эти данные свидетельствуют о защитном действии триовита на обмен костной ткани при интоксикации хлорсодержащим углеводородом.

На выраженный терапевтический эффект триовита указывают и изменения содержания в плазме крови у крыс биохимических маркеров костного ремоделирования – костной щелочной фосфатазы и С-концевых телопептидов коллагена типа I (β-Cross Laps). Интоксикация

ДХЭ (группа сравнения) приводила к значительному увеличению содержания С-концевых телопептидов, отражающих интенсивность течения резорбтивных процессов [15], а введение триовита (опытная группа) способствовало существенному снижению катаболизма костной ткани. В то же время уровень активности КЩФ, отражающей остеогенез [16], у обеих групп крыс, подвергшихся интоксикации ДХЭ, не претерпел существенных изменений в сравнении с группой интактных животных.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о защитном влиянии триовита на процессы обмена веществ в костной ткани при хронической химической нагрузке дихлорэтаном и подтверждают данные других авторов о том, что одним из механизмов негативного действия хлорорганических соединений на метаболизм скелета является интенсификация свободнорадикального окисления [4, 6, 9]. В литературе имеются указания на то, что активные формы кислорода (супероксид- и гидроксильный радикалы), пероксид водорода в костной ткани ингибируют Ca²⁺ – АТФ, снижают биосинтез коллагена остеобластами, активиру-

Таблица 4. Действие триовита на показатели обмена костной ткани крыс при хронической интоксикации ДХЭ

Показатели	Группа животных		
	Интактная, n=12	Сравнения, n=16	Опытная, n=10
Свободный оксипролин, мкмоль/г	0,48±0,016	0,54±0,012 p=0,0403	0,50±0,017 p=0,7428 p ₁ =0,0483
Белковосвязанный оксипролин кости, мкмоль/г	3,59±0,027	3,50±0,121 p=0,7404	3,68±0,140 p=0,8262 p ₁ =0,3424
Са общ. плазмы, ммоль/л	2,42±0,06	1,82±0,15 p=0,0046	2,30±0,13 p=0,6307 p ₁ =0,0436
Mg плазмы, ммоль/л	1,57±0,02	1,39±0,02 p=0,0128	1,62±0,06 p=0,4420 p ₁ =0,0271
КЩФ плазмы, Ед/л	6,4±0,31	7,0±0,32 p=0,1765	6,9±0,27 p=0,1843 p ₁ =0,7341
□-Cross Laps плазмы, нг/мл	0,43±0,11	1,60±0,36 p<<0,001	0,94±0,24 p=0,0548 p ₁ =0,0433

ют функционирование остеокластов, ускоряют выход Ca²⁺ из костной ткани и повышают в ней активность фосфолипазы A₂ [4]. Результаты проведенных экспериментов не противоречат этим сведениям, однако, какой из перечисленных механизмов является ведущим при интоксикации хлорированными углеводородами, требует дальнейшего исследования. Не исключено, что токсическое действие ДХЭ связано и с опосредованным влиянием на костно-минеральный обмен путем поражения основных органов детоксикации – печени и почек, а также нарушениями гормональных и цитокиновых регуляторных воздействий. Важно, что введение антиоксидантного витаминного препарата с усилением защиты от действия хронического окислительного стресса оказывает терапевти-

ческий эффект, снижая течение резорбтивных процессов в костной ткани.

Выводы

1. Хроническая интоксикация дихлорэтаном сопровождается усилением в костной ткани катаболических процессов, интенсификацией свободнорадикального окисления на фоне развития недостаточности антиокислительной защиты.

2. Антиоксидантный витаминный препарат триовит оказывает защитный терапевтический эффект на обмен кости, снижая при длительном поступлении хлорированных углеводородов течение процессов перекисидации и резорбции, повышая ферментативное звено антиоксидантной защиты.

1.10.2010

Список литературы:

1. Вербова А.Ф. Состояние костной ткани у больных вибрационной болезнью // Гигиена и санитария. – 2004. – № 4. – С. 35-37.
2. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование в лаборатории и оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000. – 167 с.
3. Евстафьева Е.В., Башкин В.Н., Орлинский Д.Б., Васильева Г.К. Физиологические и биогеохимические аспекты действия пестицидов на организм человека // Гигиена и санитария. – 1994. – № 1. – С. 45-46.
4. Казимирко В.К., Коваленко В.Н., Мальцев В.И. Остеопороз: патогенез, клиника, профилактика и лечение. – Киев: Мирион, 2006. – 160 с.
5. Камиллов Ф.Х., Меньшикова И.А., Нурлыгаянов Р.З. и др. Состояние минеральной плотности костной ткани у рабочих химического производства // Мед. вестник Башкортостана. – 2007. – № 1. – С. 78-82.
6. Ковешников В.Г., Пикалюк В.С. Минеральный баланс организма при интоксикации пестицидами на фоне антиоксидантной терапии // Актуальные проблемы инфекц. патологии, клинич. иммунологии и токсикологии. – М. – Луганск, 1990.
7. Оганов В.С., Бакулин А.В., Новиков В.Е. и др. Изменения костной ткани человека в космическом полете. Некоторые закономерности и особенности // Остеопороз и остеопении. – 2005. – № 1. – С. 4-8.
8. Пикалюк В.С. Особенности роста, строения и формирования скелета при токсическом поражении организма диптерексом и антиоксидантной терапии // Актуальные проблемы экологич. иммунологии, морфологии и иммунореабилитации в условиях индустриального региона Донбасса. – М. – Луганск, 1991. – С. 66.

9. Побел А.Н. Структурно-метаболические нарушения костной ткани под влиянием экологических факторов // Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение. Под ред. Н.А. Корша, В.В. Поворознюка и др. – Харьков: Золотые страницы, 2002. – С. 66-71.
10. Рамазанова Л.М., Меньшикова И.А., Камиллов Ф.Х. Нарушения минеральной плотности костной ткани у мужчин – работников химического производства // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2008. – № 9 (91). – С. 199-203.
11. Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Хемилюминесцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине. – Уфа: БГМУ, 1995. – 90 с.
12. Харченко В.П., Расохин Б.М., Зубовский Г.А. Значение остеоденситометрии в определении костной минеральной плотности позвоночника у участников ликвидации аварии на ЧАЭС // Медицина труда и пром. экология. – 2001. – № 2. – С. 29-32.
13. Шараев П.Н., Пишков В.Н., Зубарев О.Н. и др. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани. – Ижевск, 1990. – С. 3-10.
14. Шаяхметов С.Ф., Дьякович М.П., Мещакова Н.М. Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников предприятий химической промышленности // Медицина труда и пром. экология. – 2008. – № 8. – С. 27-33.
15. Christgan S., Rosenguist C., Alexandersen P. et al. Clinical evaluation of the Serum Cross Laps ELLSA, a new assay measuring the serum concentration of bone – derivated degradation products of type I collagen C-telopeptides // Clin. Chem. – 1998. – Vol. 44, № 11. – P. 2290-2298.
16. Garnego P., Shih W.J., Gineyts E. et al. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1994. – Vol. 79. – P. 1693-1699.

Сведения об авторах:

Бикметова Э.Р., ассистент кафедры биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета

Меньшикова И.А., ассистент кафедры биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета, кандидат медицинских наук

Рамазанова Л.М., ассистент кафедры биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета, кандидат биологических наук

Камиллов Ф.Х., профессор, заведующий кафедрой биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, профессор

Иванова Г.В., старший научный сотрудник кафедры биологической и биоорганической химии
Башкирского государственного медицинского университета

450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3; Тел. 8-989-955-08-18, E-mail: bro-raops@yandex.ru

Bikmetova E.R., Menshikova I.A., Ramazanova L.M., Ivanova G.V., Kamilov F.Kh.

Effectiveness of activity of antioxidant vitaminous preparation on metabolism of bone tissue at chronic intoxication by the dichloroethane during the experiment

Chronic (during two months) daily intoxication by the dichloroethane in the cumulative doze of 0,1 LD50 of mature white rats causes strengthening the processes of free-radical oxidation, reduction in the activity of the ferments of antioxidant protection and increase in the content of free hydroxiprolin in homogenates of the epiphyses of tubular bones. In the plasma of the blood of experimental animals the level S -bodypeptids of a collagen of the type I repeatedly increases with the constant activity of bone alkaline phosphatase. The treatment of animals by vitamin preparation "Triovit" during three weeks at the dose of 50 mg/kg in a 24 hour period against the background to intoxication by dichloroethane renders positive therapeutic effect on the exchange of the bone, reducing the intensity of chemiluminescence, the accumulation of the primary and secondary products of lipo-peroxidation, strengthening the activity of fermentation antioxidants, suppressing resorptive processes.

Key words: dichloroethane, intoxication, bone tissue, metabolism, antioxidants.