УДК: 616.831.71-003.219:615.272

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ПОЛЛЮТАНТОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗЖЕЧКЕ БЕЛЫХ КРЫС

Мажитова М.В.

ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань, e-mail: marinamazhitova@yandex.ru

Окислительный стресс является неспецифической реакцией организма на любое воздействие, в том числе и токсической природы. Для оценки глубины повреждения необходимо оценить степень интенсивности окислительных процессов и уровень антиоксидантной защиты. Наиболее уязвимой структурой при отравлениях серосодержащим газом является центральная нервная система. Ее неоднородность позволяет предположить разную степень устойчивости к воздействию токсиканта. В данной работе изучено хроническое влияние природного газа Астраханского месторождения на свободнорадикальные процессы в мозжечке самцов и самок белых крыс двух возрастных групп. Установлено, что реакция ткани мозжечка на токсическое воздействие имеет возрастные и половые особенности. Показано положительное влияние антиоксидантов α-токоферола и эмоксипина на изучаемые показатели мозжечка в условиях хронической интоксикации.

Ключевые слова: серосодержащий газ, мозжечок, свободнорадикальное окисление, антиоксиданты

INVESTIGATION OF THE SULFUR-CONTAINING POLLUTANTS INFLUENCE TO THE FREE-RADICAL PROCESSES IN THE CEREBELLUM OF WHITE RATS

Mazhitova M.V.

Astrakhan State University, Astrakhan, e-mail: marinamazhitova@yandex.ru

The oxidizing stress is a nonspecific reaction of an organism to any influence, including toxic nature. For an estimation of the depth of damage it is necessary to estimate the degree of intensity of oxidizing processes and the level antioxidation protection. The most vulnerable structure at poisoning with sulfur-containing gas is the central nervous system. Its heterogeneity allows assuming different degree of stability to influence by the toxicant. In the given work the chronic influence of the Astrakhan deposit natural gas on free-radical processes in the cerebellum of male and female white rats of two age groups has been studied. It is established that reaction of the cerebellum tissue to toxic influence has age and sexual features. Positive influence of antioxidants α-tocopherol and emoxipin, on studied indicators in the conditions of a chronic intoxication has been shown.

Keywords: sulfur-containing gas, cerebellum, free-radical oxidation, antioxidants

Природный промышленный газ Астраханского месторождения богат серосодержащими соединениями. Содержание сероводорода в нем достигает 25 % по объему, что делает его чрезвычайно токсичным. Превращения различных ксенобиотиков и в том числе сероводорода происходит в системе микросомальных монооксидаз и связаны в основном с процессами окисления с участием цитохрома P_{450}. На первом этапе действие серосодержащего газа приводит к образованию кислородных метаболитов серы радикальной природы (S_2O_3, SO_3) и кислорода (супероксид анион-радикал, синглетный кислород), что инициирует перекисное окисление липидов. Образованные активные частицы, воздействуя на структуры мембран, передают радикальные свойства на липидные молекулы, тем самым, продолжая цепную реакцию. В ходе этих процессов образуются продукты окисления фосфолипидов, что нарушает физико-химические свойства клеточных и субклеточных мембран вследствие усиления их гидрофильности [7].

Самой уязвимой структурой при отравлениях серосодержащим газом является ЦНС [3]. Нейротоксичность сероводорода настолько велика, что при экстремально высокой концентрации в окружающем воздухе (1420 мг/м^3) достаточно одного вдоха для наступления летального исхода. Ранее [5] нами было исследовано влияние серосодержащего газа на течение свободнорадикальных процессов в больших полушариях, продолговатом и среднем мозге. Цель нашего исследования – изучить влияние хронического воздействия природного серосодержащего газа Астраханского месторождения на антиоксидантную защиту и свободнорадикальные процессы в мозжечке белых крыс.

Для достижения поставленной цели животных группировали по половому и возрастному признакам: самцы и самки 6- и 24-месячного возраста. Животные содержались в условиях вивария на стандартном рационе при свободном доступе к воде и пище. Формировали контрольные группы (без воздействия) и опытные, получавшие ингаляторно ССГ в дозе 150 мг/м^3 по 4 часа в день понедельник-пятница в течение 6 недель. Для изучения антиоксидантной коррекции части животных

в течение 14 дней перед декапитацией вводили перорально α-токоферол в дозе 1 мг/100 г массы тела, другим группам – внутримышечно водный раствор эмоксипина (0,5 мг/100 г массы тела). Животных декапитировали после наркотизации этаминалом натрия (внутрибрюшинно в дозе 5 мг на 100 г массы тела). Выделяли мозжечок, из которого готовили гомогенаты на фосфатном буферном растворе (pH 7,45) на холоду в кратчайшие сроки непосредственно перед исследованиями. В среднем мозге спектрофотометрическими методами определяли уровень свободнорадикальных процессов (перекисное окисление липидов (ПОЛ): исходный уровень малонового диальдегида (МДА), скорость спонтанного (Сп.ПОЛ) и аскорбатзависимого (Аск.ПОЛ) ПОЛ [8], окислительную модификацию белков (ОМБ) [1], содержание конечных метаболитов NO [6], окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), а также антиоксиданты (каталаза [4] и СОД [9] жирорастворимые антиоксиданты: α-токоферол, β-каротин, витамин А, α-токоферилхинон (α-ТФХ), оксотокоферол (ОТФ) [10]) и общую антиокислительную активность (АОА) [2]. Достоверность различий двух средних величин определяли с помощью критерия t-Стьюдента.

Результаты исследования уровня свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты ткани мозжечка разнополых молодых и старых животных на фоне хронического воздействия ССГ представлены в табл. 1,2. Увеличение уровня МДА, скорости спонтанного ПОЛ, ОМБ и ОВП у молодых самцов иллюстрируют интенсификацию СРО под действием ССГ. У самок того же возраста изменения оказались менее выраженными, чем у самцов, и проявились в снижении скорости спонтанного ПОЛ и ОВП, но в усилении уровня ОМБ и NO-метаболитов.

Таблица 1

Уровень свободнорадикальных процессов в мозжечке белых крыс после хронического ингаляторного воздействия серосодержащим газом ($M \pm m$, $n = 10$)

Молодые	**♂ контроль**	**♂ ССГ**	**♀ контроль**	**♀ ССГ**
МДА, нмоль/0,5 г ткани	3,02 ± 0,19	4,31 ± 0,308*	3,015 ± 0,240	3,692 ± 0,291
Сп.ПОЛ, нмоль/ч	28,262 ± 1,01	34,385±1,981*	31,07 ± 1,775	25,850±1,250*
Аск.ПОЛ, нмоль/ч	113,73 ± 6,37	103,387± 7,091	72,18 ± 4,138#	70,15±3,409
ОМБ, мкмоль/мг белка	0,25 ± 0,013	0,38±0,031*	0,28 ± 0,012	0,42±0,025*
NO, мкмоль	28,60 ± 1,144	32,72±2,423	46,80 ± 1,217#	84,71±5,758*
ОВП, эВ	0,108±0,007	0,127±0,008*	0,209 ± 0,008#	0,180±0,009*
Старые	**♂ контроль**	**♂ ССГ**	**♀ контроль**	**♀ ССГ**
МДА, нмоль/0,5 г ткани	3,54 ± 0,204	5,42±0,315*	2,15 ± 0,137#Δ	4,75±0,282*
Сп.ПОЛ, нмоль/ч	26,22 ± 2,012	33,33±2,65*	16,25 ± 0,898#Δ	31,17±1,767*
Аск.ПОЛ, нмоль/ч	65,91 ± 4,500Δ	78,80±3,578*	55,76 ± 3,787Δ	70,24±3,411*
ОМБ, мкмоль/мг белка	0,34 ± 0,014Δ	0,43±0,032*	0,35 ± 0,011Δ	0,44±0,025*
NO, мкмоль	31,58 ± 1,579	35,12±2,869	40,11 ± 1,203#Δ	37,89±2,573
ОВП, эВ	0,170 ± 0,008Δ	0,235±0,015*	0,190 ± 0,011	0,231±0,013*

Примечание.

– достоверно по сравнению с самцами того же возраста; Δ – достоверно по сравнению с группой молодых животных; * – достоверно по сравнению с контрольной (без воздействий) группой; ° – достоверно по сравнению с группой животных, получавших серосодержащий газ.

О более глубоком нарушении свободнорадикального окисления в мозжечке у молодых самцов под действием ССГ говорит значимое снижение АОА, активности каталазы и СОД, α-токоферола и α-ТФХ. У молодых самок же, напротив, активности каталазы и СОД увеличились при достоверном снижении β-каротина и α-токоферола. Такие разнонаправленные изменения в активности антиоксидантов мозжечка самок позволили сохранить АОА этого отдела ЦНС на уровне контрольных значений.

Если у молодых животных больший повреждающий эффект газа выявлен в мозжечке у самцов, то в группах старых животных и у самцов, и у самок возросли ПОЛ по всем показателям, уровень ОМБ и ОВП. Эти изменения произошли на фоне снижения АОА у животных обоего пола, а также усиления активности СОД у старых самцов, снижения витамина А и увеличения α-ТФХ в мозжечке старых самок.

Учитывая активизацию свободнорадикальных процессов на фоне ингаляций

ССГ, нами изучена возможность антиоксидантной коррекции возникших изменений α-токоферолом и эмоксипином.

Введение α-токоферола на фоне хронической интоксикации усилило скорость спонтанного ПОЛ ($P < 0,05$), NO-метаболитов ($P < 0,05$) и ОВП ($P < 0,05$) в мозжечке молодых самцов. Несмотря на усиление пероксидации липидов, ОМБ на этом фоне снизилось ($P < 0,05$). Усиление ПОЛ и ОВП, возможно, связано с перегрузкой собственной антиоксидантной системы мозжечка, т.к. экзогенных α-токоферол увеличил активность СОД, содержание α-токоферола и α-ТФХ в этой области у молодых самцов.

Таблица 2

Уровень антиоксидантной защиты мозжечка белых крыс после хронического ингаляторного воздействия серосодержащим газом ($M \pm m$, $n = 10$)

Молодые	**♂ контроль**	**♂ ССГ**	**♀ контроль**	**♀ ССГ**
АОА, %	57,28 ± 3,27	47,42 ± 3,302*	65,75 ± 2,96	61,18 ± 4,233
Каталаза, у.е./мг белка	3,31 ± 0,24	2,23 ± 0,145*	2,94 ± 0,18	3,67 ± 0,284*
СОД, у.е./мг белка	37,18 ± 1,12	28,52 ± 2,987*	40,77 ± 1,65	48,27 ± 3,109*
Витамин А, мкмоль/1г ткани	0,018 ± 0,0012	0,016 ± 0,002	0,028 ± 0,002 #	0,026 ± 0,003
β-каротин, мкмоль/1г ткани	0,21 ± 0,013	0,19 ± 0,021	0,38 ± 0,022 #	0,30 ± 0,028*
α-тф, мкмоль/1г ткани	0,661 ± 0,031	0,51 ± 0,033 *	0,813 ± 0,044 #	0,69 ± 0,034*
α-ТФХ, ед. оп. пл./1г тани	1,803 ± 0,085	1,42 ± 0,098*	2,011 ± 0,144	1,87 ± 0,121
ОТФ, мкмоль/1г ткани	0,35 ± 0,02	0,34 ± 0,031	0,46 ± 0,021 #	0,44 ± 0,025
Старые	**♂ контроль**	**♂ ССГ**	**♀ контроль**	**♀ ССГ**
АОА, %	53,44 ± 2,38	40,11 ± 2,135*	58,25 ± 3,02	45,44 ± 3,153*
каталаза, у.е./мг белка	3,04 ± 0,124	1,58 ± 0,084 *	3,15 ± 0,095	2,34 ± 0,186*
СОД, у.е./мг белка	35,71 ± 1,43	47,85 ± 3,918*	42,53 ± 2,13 #	44,56 ± 3,891
Витамин А, мкмоль/1г ткани	0,012 ± 0,001 Δ	0,014 ± 0,002	0,024 ± 0,002 #	0,018 ± 0,002*
β-каротин, мкмоль/1г ткани	0,17 ± 0,009 Δ	0,11 ± 0,009*	0,31 ± 0,025 #	0,25 ± 0,012*
α-тф, мкмоль/1г ткани	0,405 ± 0,022 Δ	0,317 ± 023*	0,684 ± 0,027 # Δ	0,45 ± 0,021*
α-ТФХ, ед. оп. пл./1г ткани	1,134 ± 0,078 Δ	0,92 ± 0,082	1,604 ± 0,091 # Δ	1,98 ± 0,11*
ОТФ, мкмоль/1г ткани	0,28 ± 0,02 Δ	0,29 ± 0,024	0,31 ± 0,017 Δ	0,29 ± 0,031

Эмоксипин, напротив, снизил все показатели ПОЛ и ОМБ ($P < 0,05$) у молодых самцов, но так же как α-токоферол увеличил ОВП ($P < 0,05$), при повышении активности каталазы ($P < 0,05$) и СОД ($P < 0,05$).

В мозжечке молодых самок витамин Е, с одной стороны, снизил уровень МДА и ОМБ, но увеличил кинетические характеристики ПОЛ. Так же α-токоферол снизил возросший на фоне ингаляций ССГ уровень конечных метаболитов NO ($P < 0,05$). Эти изменения свободнорадикального окисления отмечены на фоне снижения активности каталазы ($P < 0,05$) и повышения содержания β-каротина ($P < 0,05$) и α-ТФХ ($P < 0,05$).

Эмоксипин при неизменном уровне МДА снизил скорость индуцированного ПОЛ, но увеличил скорость спонтанного процесса в мозжечке молодых самок. При этом и NO-метаболиты, и ОВП значимо снизились, что сопровождалось снижением активности каталазы.

В старших возрастных группах самцов и самок оба антиоксиданта привели к снижению ПОЛ, ОМБ и ОВП в мозжечке. И эмоксипин, и α-токоферол оказали большее влияние на антиоксидантную систему мозжечка старых самцов. Витамин Е увеличил активность каталазы ($P < 0,05$), содержание β-каротина ($P < 0,05$) и эндогенного α-токоферола ($P < 0,05$) при снижении активности СОД ($P < 0,05$), а эмоксипин увеличил активность каталазы ($P < 0,05$), что повысило АОА ткани.

У старых самок в мозжечке витамин Е увеличил активность каталазы, содержание витамина А ($P < 0,05$), β-каротина ($P < 0,05$) и α-токоферола ($P < 0,05$), а эмоксипин увеличил только активность каталазы ($P < 0,05$).

На основании полученных результатов можно заключить, что хроническая интоксикация серосодержащим газом Астраханского месторождения смещает баланс свободнорадикальных процессов в мозжечке крыс в сторону усиления процессов пероксидации на фоне ослабления антиоксидантной защиты. Половая специфика реакции мозжечка в ответ на действие токсиканта выражена в большей степени у молодых животных. Больший повреждающий эффект

ССГ оказывает на свободнорадикальные процессы в мозжечке старых крыс обоего пола. Применение антиоксидантов способно предотвратить или сгладить последствия сероводородной интоксикации.

Список литературы

1. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов // Вопросы мед. химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.

2. Клебанов Г.И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов / Г.И. Клебанов, И.В. Бабенкова, Ю.О. Геселкин // Лаб. дело. – 1988. – №5. – С. 59–62.

3. Клейн А.В. Влияние хронического комплексного воздействия оксида серы и промышленной пыли на центральную нервную систему / А.В. Клейн, Т.И. Ивонина // Тез. докл. науч. конф. ЦНИЛ Свердловского мед. института. – Свердловск, 1989. – С. 68–69.

4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванов, М.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.

5. Мажитова М.В. Модуляция перекисного окисления липидов в разных отделах центральной нервной системы под воздействием серосодержащего газа / М.В. Мажитова, Д.Д. Теплый, Д.Л. Теплый, Н.Н. Тризно, Д.В. Карпеева, О.А. Ходарина // Экология и жизнь: XV междунар. научно-практич. конф. – Пенза, 2008. – С. 32–34.

6. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.

7. Полунин И.Н. Токсический отек легких при остром отравлении сероводородсодержащим газом / И.Н. Полунин, Р.И. Асфандияров, Н.Н. Тризно // Астрахань, 1999. – 219 с.

8. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Т. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей // Лаб. дело. – 1985. – №11. – С. 678–681.

10. Tailor S.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis/ S.L. Tailor, M.P. Lambden, A.L. Tappel // Lipids. – 1976. – 11, № 7. – P. 530–538.

Рецензенты:

Тризно Н.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Астрахань;

Фельдман Б.В., д.б.н., зав. кафедрой биологии с курсом ботаники ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 28.07.2011.