

Л. Е. МУРАВЛЕВА, В. В. КОЙКОВ, К. С. АМАНОВА, Б. И. ТУЛЕУОВ

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСА ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА, ПОВЫШАЮЩЕГО РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА К ДЕЙСТВИЮ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА И СВЧ-ОБЛУЧЕНИЯ**

(Карагандинская государственная медицинская академия)

*Изучена динамика параметров окислительного метаболизма в крови крыс, подвергнутых сочетанному воздействию несимметричного диметилгидразина (НДМГ) и СВЧ-облучения, а также на фоне коррекции комплексом природных антиоксидантов – витаминов С и Е, препаратов боярышник и эссенциале. Установлено, что сочетанное действие НДМГ и СВЧ-облучения вызывает рост уровня первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ, средних молекул, а также катаболитов и продуктов деструкции нуклеиновых кислот в эритроцитах на фоне снижения уровня РНК и ДНК, а также активности аденозиндезаминазы. Использование комплекса природных антиоксидантов позволяет четко и достоверно ограничить накопление продуктов окислительной деструкции липидов, белков и нуклеиновых кислот в эритроцитах.*

Поиск путей повышения резистентности организма к токсическому действию факторов техногенного загрязнения окружающей среды – актуальная проблема современной медицины и биологии. Характерная черта действия антропогенных факторов в настоящее время – их комбинированность, при этом наиболее частым является сочетанное действие химических и физических факторов [1]. К группе наиболее опасных токсикантов относятся гидразин и его производ-

ные, в частности несимметричный диметилгидразин (НДМГ). Данные соединения широко применяются в различных отраслях промышленности, сельском хозяйстве, медицине. Физические факторы представлены прежде всего различными видами электромагнитных излучений. Наиболее биологически активным частотным диапазоном электромагнитных полей является СВЧ-диапазон [2, 3].

Установлено, что независимо от природы внешнего воздействия механизм реализации его

негативных эффектов в живом организме включает активацию свободно-радикального окисления [4]. Отдельные исследования комбинированного действия НДМГ и СВЧ-облучения выявили более существенный характер сдвигов показателей окислительного метаболизма, чем при изолированном действии данных факторов, что позволило сделать предположение об их взаимопотенцирующем эффекте [5–7]. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск препаратов, способных ограничивать негативные эффекты НДМГ и СВЧ-облучения. С учетом достаточности широкого диапазона свободнорадикальных нарушений, вызванных данными факторами, методы фармакологической коррекции окислительного стресса должны включать комплекс антиокислительных агентов, обладающих широким механизмом действия.

Нами изучена возможность использования комплекса природных антиоксидантов в качестве средства повышения резистентности организма у животных, подвергнутых сочетанному действию СВЧ и НДМГ.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили плазма и эритроциты крови крыс контрольной и опытных групп. Всего в исследование было включено 60 беспородных белых крыс обоего пола (30 самцов и 30 самок). Контрольную группу (n=20, в том числе 10 самцов и 10 самок) составили крысы, которым в течение 30 суток внутрижелудочно вводили воду. В первой опытной группе (n=20, в том числе 10 самцов и 10 самок) животные были подвергнуты ежедневному внутрижелудочному введению НДМГ в дозе 5 мг/кг массы тела и ежедневному тотальному СВЧ-облучению с плотностью потока энергии 24 мВт/см<sup>2</sup>, время экспозиции – 10 минут в сутки. В качестве источника СВЧ-излучения использовали портативный аппарат для микроволновой терапии «Луч-3». Вторая опытная группа (n=20, в т.ч. 10 самцов и 10 самок) также была подвергнута сочетанному воздействию СВЧ теплового диапазона и НДМГ, однако через 10 дней после начала эксперимента животным внутрижелудочно начинали вводить комплекс препаратов – витамин С в дозе 50 мг/кг, витамин Е в дозе 2 мг/кг, препарат эссенциале® Н в дозе 5 мг/кг и спиртовую настойку боярышника в дозе 300 мг/мл. Данную комбинацию препаратов можно рассматривать

как комплекс природных антиоксидантов – витаминов С и Е, флавоноидов и витаминов, входящих в состав боярышника, эссенциальных фосфолипидов и витаминов, входящих в состав эссенциале. Введение комплекса препаратов продолжали вплоть до окончания эксперимента. Для каждой группы срок эксперимента составил 30 суток, а количество внутрижелудочно вводимого образца – 1 мл/кг массы тела. Содержание животных, их облучение, введение НДМГ и комплекса препаратов осуществлялось в лаборатории НИЦ КГМА (отв. В. С. Тритэк). По завершении животные выводились из эксперимента методом неполной декапитации и проводился забор проб крови.

Состояние окислительного метаболизма эритроцитов характеризовали по уровню его первичных, вторичных и конечных продуктов: диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД), суммарных первичных (СПП) и вторичных (СВП) продуктов, основания Шиффа (ШО). Уровень ДК и КД определяли по методу В.Н. Ушкаловой и Г.Д. Кадочниковой [8]. Для определения СПП, СВП и ШО использовали методический прием К.А. Львовской и соавт. [7]. В эритроцитах определяли уровень кислоторастворимой фракции (КРФ), а также уровень РНК и ДНК по методу E.W. Johns (1964) в модификации Л.И. Маркушева и соавт. [10]. В эритроцитах определяли активность аденозиндезаминазы (АДА) по методу В.Сronslein et al. [11], содержание средних молекул (СМ) по методу А.Н. Ковалевского и О.Е. Нифантьева, 1990 [12]. Кроме того, в плазме крови животных определяли содержание мочевой кислоты с помощью стандартного набора реактивов ООО «Агат-Мед». Полученные данные были обработаны методом вариационной статистики. Достоверность различий оценивали непараметрическим методом по X-критерию Ван-дер-Вальдена.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень продуктов липопероксидации в эритроцитах подопытных животных представлен на рис. 1.

Сравнивая уровень продуктов липоперекисного каскада в эритроцитах крыс, подвергнутых сочетанному воздействию НДМГ и СВЧ, с контролем, следует отметить четкий и достоверный (p<0,01) рост уровня ДК – на 89,9%, уровня КД – на 137,1%, уровня СПП – на 25,9%, уровня СВП – на 18,9%, уровня ШО – на 244,4%. Причем, если

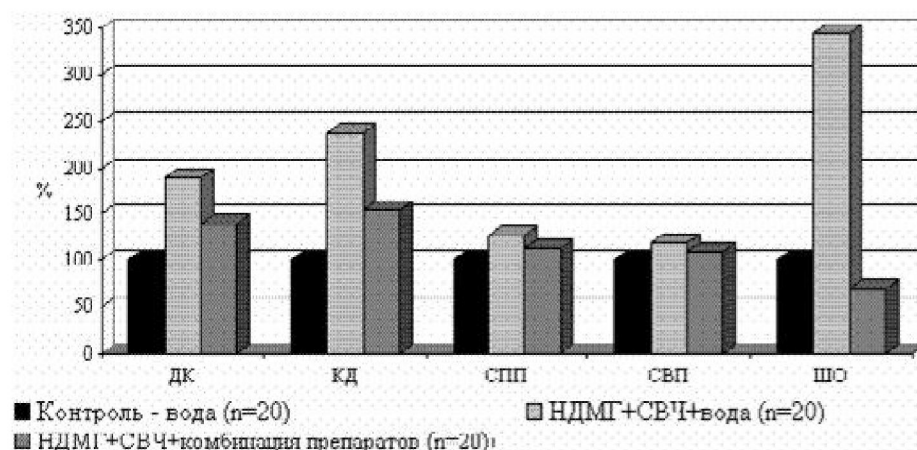


Рис. 1. Уровень продуктов липопероксидации в эритроцитах крыс

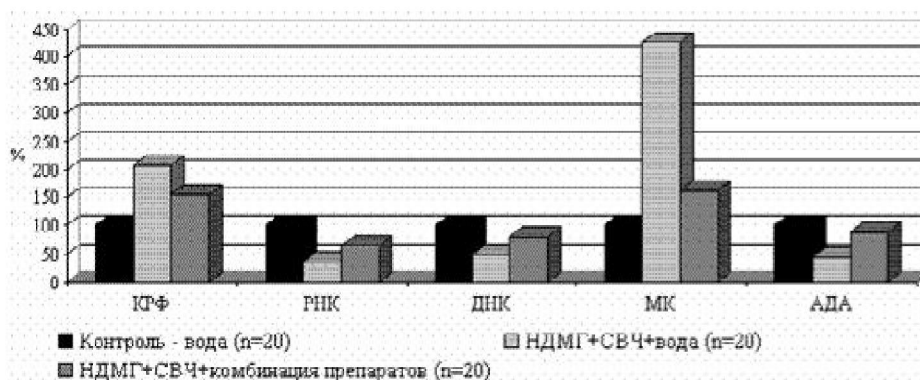


Рис. 2. Параметры метаболизма веществ нуклеотидной природы в крови крыс

для самцов рост уровня ШО происходит на 302,2% ( $p < 0,01$ ), то у самок лишь на 199,4% ( $p < 0,01$ ). В изменение же других показателей половая принадлежность не вносит существенных различий.

Использование комплекса природных антиоксидантов позволяет существенно ограничить накопление продуктов ПОЛ в эритроцитах крыс, подвергнутых действию НДМГ и СВЧ облучения, – уровень продуктов липопероксидации достоверно ниже цифр, отмечаемых для крыс, которым коррекция не проводилась. Так, уровень ДК ниже на 27% ( $p < 0,01$ ), уровень КД – на 35,98% ( $p < 0,01$ ), уровень СПП – на 11,2% ( $p < 0,01$ ), уровень ШО – на 80,1% ( $p < 0,01$ ).

Уровень веществ нуклеотидной природы в эритроцитах крыс представлен на рис. 2. Установлено, что сочетанное действие НДМГ и СВЧ-облучения вызывает достоверный рост уровня КРФ на 108,1% ( $p < 0,01$ ) на фоне достоверного снижения уровня РНК – на 64,2% ( $p < 0,01$ ) и ДНК – на 50,8% ( $p < 0,01$ ). Данные изменения можно объяснить наличием глубокого окислительного стресса в организме крыс. При этом, по-видимому, окислительной деструкции подвергаются

как зрелые, так и незрелые формы эритроцитов. На преобладание деструктивных и катаболических процессов указывает существенный рост в эритроцитах уровня МК – на 327,9% ( $p < 0,01$ ) и уровня СВ – на 183,3% ( $p < 0,01$ ). Изменения затрагивают и энергетический метаболизм эритроцитов, в который вовлечены пуриновые основания. Так, уровень активности АДА снижается на 53,9% ( $p < 0,01$ ).

Достоверно положительный результат отмечается при коррекции метаболических сдвигов в организме крыс с помощью комплекса природных антиоксидантов ( $p < 0,01$ ). Так, уровень КРФ относительно цифр, отмечаемых для группы животных, не подвергнутых коррекции комплексом антиоксидантов, ниже на 26,9%, уровень РНК выше на 85%, уровень ДНК – на 65,5%. Достоверные различия характерны и для других катаболитов: уровень МК в плазме ниже на 62,4% ( $p < 0,01$ ), уровень СВ в эритроцитах – на 47,1% ( $p < 0,01$ ). Достаточно большие различия между двумя группами сравнения присущи активности АДА – на 89,9% ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что сочетанное действие

НДМГ и СВЧ-облучения потенцирует развитие деструктивных процессов в организме подопытных животных. На наш взгляд, эти изменения связаны с высокой биологической активностью экзогенных факторов. Известно, что биотрансформация гидразина и его производных протекает в печени и кишечнике с участием цитохрома P450 и флавиносодержащих монооксигеназ с образованием диазометана, метил-радикала и ионов диметил-диазония. Предполагается, что азотсодержащие соединения могут активировать молекулярный кислород путем одновалентного восстановления последнего до супероксид-аниона. Супероксид при взаимодействии с водой с большой скоростью дисмутирует с образованием перекиси водорода и чрезвычайно активного оксиданта – гидроксильного радикала. Именно данные активные формы кислорода вызывают окислительную деструкцию липидов, белков и нуклеиновых кислот в клетках организма животных, в частности в эритроцитах. Кроме того, известно, что СВЧ-облучение индуцирует существенные перестройки в мембранных структурах эритроцитов и приводит к изменению их кооперативных связей и тем самым повышает доступ оксидантов к мембранным фосфолипидам.

Результаты нашего исследования указывают на высокую эффективность комплекса природных антиоксидантов в коррекции окислительного стресса, вызванного сочетанным действием НДМГ и СВЧ-облучения. Высокая степень эффективности, по нашему мнению, связана с особенностями фармакокинетики каждого конкретного препарата. Позитивный эффект от применения витаминов С и Е связан с лимитированием образования АФК, снижением давления окислительного стресса и стабилизацией мембран клеток [13]. Эффект применения препарата боярышник определяется наличием в его составе флавоноидов, способных перехватывать свободные радикалы и АФК, восстанавливать глутатион, оказывать мембраностабилизирующее действие [14]. Эссенциале обладает выраженными гепатопротективными и мембраностабилизирующими свойствами, что определяется антирадикальными свойствами эссенциальных фосфолипидов и антиоксидантов, входящих в состав препарата [12].

Таким образом, комплекс природных антиоксидантов, представленный витаминами С и Е, препаратами боярышник и эссенциале, является эффективным средством повышения резистент-

ности организма к сочетанному действию НДМГ и СВЧ-облучения. Данный способ антирадикальной защиты может быть рекомендован для ограничения степени окислительной деструкции липидов, белков и нуклеиновых кислот в организме, подвергнутом сочетанному действию химического и физического фактора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004. 720 с.
2. Белов А.А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных (обзор) // Промышл. токсикология. 1999. № 5. С. 3-15.
3. Григорьев Ю.Г. Электромагнитные поля и здоровье населения // Гигиена и санитария. 2003. № 3. С. 14-16.
4. Ревич Б.А. Загрязнение окружающей среды и здоровье населения. Введение в экологическую эпидемиологию. М., 2001. 159 с.
5. Башарин В.А. Экспериментальная оценка состояния системы глутатиона и перекисного окисления липидов в различных органах и тканях при острых отравлениях 1,1-диметилгидразином и фенилгидразином: Автореф. дис. ... канд. мед наук. СПб., 2001. 20 с.
6. Кислицкая В.Н., Култанов Б.Ж., Муратова А.З. Сравнительная оценка показателей ПОЛ в эритроцитах, сперматозоидах и печени крыс при СВЧ-облучении мощностью 20 Вт и коррекции настойкой боярышника // Медицина и экология. 2004. № 3 (32). С. 94-96.
7. Метаболический статус крыс при сочетанном действии несимметричного диметилгидразина и СВЧ-облучения / Муравлева Л. Е., Койков В. В., Култанов Б. Ж. и др. // Материалы международной научно-практической конференции «Наука: теория и практика». Прага, 2005. С. 42-43.
8. Ушкалова В.Н., Кадочникова Г.Д. Исследование параметров, характеризующих активность перекисного окисления липидов при изучении адаптации человека к новым климато-географическим условиям // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1987. № 5. С. 571-573.
9. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов ПОЛ / Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е. и др. // Вопросы мед. химии. 1991. № 4. С. 92-93.
10. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом / Маркушева Л. И., Савина М. И., Решина В. М. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. № 7. С. 18-20.
11. Cronstein B.N., Rosenstein E.D., Kramer S.V. et al. // I. Immunol. 1985. № 135. P. 1366-1371.
12. Ковалевский А.Н., Нифантьев О.Е. Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы. // Лаб. дело. 1990. № 10. С. 35-39.
13. Макаров В.Г., Макарова М.Н., Селезнева А.И. Изучение механизма антиоксидантного действия витаминов и флавоноидов // Вопросы питания. 2005. № 1. С. 10-13.
14. Природные антиоксиданты как гепатопротекторы / Бунетян Н. Д., Герасимова О. А., Сахарова Т. С. и др. // Фармакология и токсикология. 1999. Т. 62, № 2. С.64-67.

### **Резюме**

Симметриялы емес диметилгидразин мен ӨЖЖ–сәулеленудің бірлескен әсеріне ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы тотығу метаболизмінің параметрлері, сонымен қатар, табиғи антиоксиданттар – С және Е витаминдері, боярышник және эссенциале препараттары комплексінің коррекция фонында, қандағы тотығу метаболизмінің параметрлері зерттелді. НДМГ және ӨЖЖ – сәулеленудің бірлескен әсері, липидтердің асқын тотықтың тотығуының (ПОЛ) алғашқы, екінші ретті және соңғы өнімдерінің деңгейін, орташа молекулалар (СМ) деңгейін жоғарылатаыны, сонымен қатар, РНҚ және ДНҚ деңгейінің төмендеу фонында, эритроциттердегі нуклеин қышқылдарының деструкциялық өнімдері мен катаболиттерінің жоғарылайтындығы, аденазиндезаминаза белсенділігінің төмендейтіндігі дәлелденді.

Табиғи антиоксиданттар комплексін қолдану, липидтердің, ауыздар мен нуклеин қышқылдарының тотығулық деструкциялық өнімдерінің эритроциттердегі жинақ-

талуын нақты және айқын шектеуге мүмкіншілік береді.

### **Summary**

We had studied dynamic of an oxidative metabolism parameters in blood of the rats subjected to combined influence of nonsymmetrical dimethylhydrazine (NDMH) and SHF-irradiation, and also at correction by a complex of natural antioxidants – vitamins C and E, preparations of hawthorn and essenciale. It is established, that combined action of NDMH and SHF-irradiation causes growth of a level of primary, secondary and final products of the lipid peroxidation, middle-weight molecules, and also the nucleic acid catabolism and destruction products in erythrocytes, at decrease of the RNA and DNA level, and also decrease of an adenosine deaminase activity. Use of the natural antioxidant complex precisely and authentically allows to limit accumulation of the lipid, protein and nucleic acid oxidative destruction products in erythrocytes.