

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

DOI 10.31718/2077-1096.19.2.103

УДК 616.33-018.25:615.916-036.12:546.16./33]-007:615.246.2]-092.9

Акімов О.Є., Міщенко А.В., Костенко В.О.

КОРЕКЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ РІЗНИХ КЛАСІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ НІТРАТНО-ФТОРИДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Українська медична стоматологічна академія м. Полтава

В деяких регіонах України екологічна ситуація є загрозовою для життєдіяльності людей та тварин. В регіонах із розвинутим сільським господарством можливе надлишкове надходження нітратів до організму людини та тварин із продуктами харчування та питною водою. Водночас в регіонах із розвинутою хімічною та металургійною (особливо виробництво алюмінію) промисловістю можливе додаткове забруднення питної води надлишковою кількістю фторидів. Таким чином, не виключеним є одночасне надлишкове надходження до організму нітратів та фторидів. Метою даної роботи є визначення впливу суспензій нанодисперсного оксиду кремнію, карболайну та лігніну гідролізованого на продукцію супероксидного аніон-радикалу (O_2^-), активність антиоксидантних ферментів, вміст оксиномодифікованих білків та концентрацію первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Матеріали та методи. Всі біохімічні дослідження проводились в 10% гомогенаті слизової оболонки шлунка щурів. В ході дослідження визначали активності супероксиддисмутази, каталази, вмісту дієнових кон'югатів, октадієнових кон'югатів, трієнових кон'югатів, вмісту оксиномодифікованих білків (ОМБ) та O_2^- . Результати. Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація призводить до збільшення базової продукції O_2^- із одночасним зниженням активностей СОД та каталази. Вміст первинних продуктів ПОЛ та ОМБ збільшується в умовах хронічної інтоксикації. Застосування суспензій ентеросорбентів знижує продукцію O_2^- , відновлює функціонування антиоксидантних ензимів, знижує вміст первинних продуктів ПОЛ та ОМБ. Висновки. Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація призводить до оксидативного ушкодження фосfolіпідів біологічних мембран та білкових структур слизової оболонки шлунка. Суспензії нанодисперсного оксиду кремнію, карболайну та лігніну є ефективними засобами для корекції оксидативного ушкодження слизової оболонки шлунка за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Ключові слова: оксидативний стрес, нанодисперсний оксид кремнію, карболайн, лігнін, нітратно-фторидна інтоксикація

Робота є фрагментом ініціативної НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941)

Вступ

В деяких регіонах України екологічна ситуація є загрозовою для життєдіяльності людей та тварин. В регіонах із розвинутим сільським господарством можливе надлишкове надходження нітратів до організму людини та тварин із продуктами харчування та питною водою. Водночас в регіонах із розвинутою хімічною та металургійною (особливо виробництво алюмінію) промисловістю можливе додаткове забруднення питної води надлишковою кількістю фторидів. Таким чином, не виключеним є одночасне надлишкове надходження до організму нітратів та фторидів.

В наших попередніх роботах ми встановили, що нітрати та фториди здатні викликати ушкодження слизової оболонки шлунка щурів за рахунок розвитку оксидативного стресу та послідовного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [1]. Нами було встановлено ключову роль в розвитку оксидативного стресу в слизовій оболонці

шлунка такого біологічного медіатора, як оксид азоту (NO) [2, 3].

Ми встановили, що використання таких ентеросорбентів як: нанодисперсний оксид кремнію, карболайн та лігнін є ефективним методом корекції надлишкової продукції оксиду азоту та його більш загрозового метаболіту, пероксинітриду (ONOO⁻) [4, 5].

На даний час не встановлена ефективність описаних вище сорбентів в корекції процесів ПОЛ та оксидативного стресу за умов хронічного надлишкового надходження нітратів та фторидів до організму людини та ссавців.

Метою даної роботи є визначення впливу суспензій нанодисперсного оксиду кремнію, карболайну та лігніну гідролізованого на продукцію супероксидного аніон-радикалу (O_2^-), активність антиоксидантних ферментів, вміст оксиномодифікованих білків та концентрацію первинних продуктів ПОЛ.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 63 щурах лінії «Вістар», яких утримували за стандартних умов віварію. Тварини були розподілені на 5 груп. Група I – 10 тварин, отримувала внутрішньо-шлунково 1 мл фізіологічного розчину щоденно протягом 30 діб. Група II – 15 тварин, отримувала розчини нітрату та фториду натрію із розрахунку 500 мг/кг нітрату та 10 мг/кг фториду натрію, з метою моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації [2]. Група III – 10 тварин, на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації отримувала суспензію нанодисперсного оксиду кремнію із розрахунку 100 мг/кг. Група IV – 13 тварин, на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації отримувала суспензію препарату на основі активованого вугілля та волокон АУТ-М (Карболайн) із розрахунку 100 мг/кг. Група V – 15 тварин, на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації отримувала суспензію препарату на основі лігніну гідролізного із розрахунку 100 мг/кг. У якості суспензій-утворювача використовувався поліетилен оксид-400. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові із серця. Всі маніпуляції із лабораторними тваринами проводились відповідно до вимог комітету з біоетики Української медичної стоматологічної академії.

Всі біохімічні дослідження проводились в 10% гомогенаті слизової оболонки шлунка щурів. Ви-

значення активності супероксиддисмутази (СОД), каталази, вмісту дієнових кон'югатів (ДК), октадієнових кон'югатів (ОДК), трієнових кон'югатів та вмісту окисно-модифікованих білків (ОМБ) проводилось згідно методичних рекомендацій [6]. Визначення базової продукції O_2^- проводилось за методикою О.І. Цебржинського [7].

Отримані результати піддавались статистичній обробці із використанням критерію Манна-Уїтні. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація призводить до збільшення базової продукції O_2^- із одночасним зниженням активностей СОД та каталази (Таб.1). Застосування суспензій ентеросорбентів знижує продукцію O_2^- та відновлює функціонування антиоксидантних ензимів. Фториди здатні збільшувати продукцію O_2^- шляхом впливу на мітохондріальні електротранспортні ланцюги (ЕТЛ) та на мікосомальні ЕТЛ [8, 9]. Також іони фтору здатні блокувати іони металів в активних центрах ферментів антиоксидантної системи. Нітрати, після їх відновлення до NO, здатні регулювати продукцію O_2^- від мікосомального та мітохондріального ЕТЛ [10, 11, 12]. Проте, при збільшенні концентрації NO, який походить із нітрат-нітрит редуцтазного компоненту циклу NO, навпаки продукція O_2^- від мікосомального та мітохондріального ЕТЛ зростає [1, 3].

Таблиця 1.

Продукція супероксидного аніон-радикала та активність антиоксидантних ферментів в слизовій оболонці шлунка щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації та при корекції ентеросорбентами різних класів ($M \pm m$).

Показники	Групи				
	Група I	Група II	Група III	Група IV	Група V
Базова продукція O_2^- , нмоль/с на г	0,4±0,01	1,18±0,01*	0,86±0,01**	0,93±0,02**	0,92±0,03**
Активність СОД, у.о.	0,73±0,14	0,33±0,02*	1,04±0,19**	0,75±0,04**	0,78±0,07**
Активність каталази, нкат/г	204±4	136±10*	250±3**	256±21**	254±24**

* - різниця статистично значуща відносно Групи I ($p < 0,05$)

** - різниця статистично значуща відносно Групи II ($p < 0,05$)

Таблиця 2.

Показники перекисного окиснення ліпідів в слизовій оболонці шлунка щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації та при корекції ентеросорбентами різних класів ($M \pm m$).

Показники	Групи				
	Група I	Група II	Група III	Група IV	Група V
Вміст ДК, мкмоль/л гомогенату	0,249±0,004	0,28±0,003*	0,243±0,007**	0,263±0,002**	0,237±0,003**
Вміст ОДК, мкмоль/л гомогенату	0,295±0,003	0,352±0,013*	0,298±0,002**	0,287±0,004**	0,329±0,002
Вміст ТК, мкмоль/л гомогенату	0,155±0,002	0,184±0,005*	0,157±0,001**	0,160±0,005**	0,162±0,004**
Вміст ОМБ, у.о.	0,052±0,003	0,094±0,002*	0,060±0,006**	0,075±0,002**	0,061±0,008**

* - різниця статистично значуща відносно Групи I ($p < 0,05$)

** - різниця статистично значуща відносно Групи II ($p < 0,05$)

Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація збільшує концентрацію ДК на 12,4% (Таб.2), концентрація ОДК збільшується на 19,3%, концентрація ТК збільшується на 18,7%. Вміст ОМБ збільшується на 80,8%. Таким чином в слизовій оболонці шлунка збільшується інтенсивність ПОЛ, про що свідчить накопичення первинних продук-

тів ПОЛ (ДК, ОДК, ТК). Разом із тим зростання концентрації ОМБ свідчить про розповсюдження процесу не тільки на біологічні мембрани, а й на інші полімерні структури тканини.

Суспензія нанодисперсного оксиду кремнію знижує вміст первинних продуктів ПОЛ: вміст ДК знижується на 13,2%, вміст ОДК на 15,3%, вміст

ТК на 14,6%. Концентрація ОМБ знижується на 36,2%.

Суспензія карболайну знижує вміст первинних продуктів ПОЛ: вміст ДК знижується на 6,1%, вміст ОДК на 18,5%, вміст ТК на 13%. Концентрація ОМБ знижується на 20%.

Суспензія лігніну гідролізного знижує вміст первинних продуктів ПОЛ: вміст ДК знижується на 15,4%, вміст ОДК на 6,5%, вміст ТК на 12%. Концентрація ОМБ знижується на 36%.

Механізмом, який лежить в основі позитивного ефекту досліджуваних суспензій, є адсорбція надлишкових іонів фтору та нітрат-іонів. В наших попередніх дослідженнях було встановлено, що досліджувані сорбенти мають різну афінність щодо адсорбції нітратів та фторидів [4, 5, 13]. Проте, незважаючи на різний вплив на цикл оксиду азоту, досліджувані сорбенти ефективно зменшують вміст первинних продуктів ПОЛ та маркери ушкодження білків.

Висновки

Хронічна нітратно-фторидна призводить до оксидативного ушкодження фосфоліпідів біологічних мембран та білкових структур слизової оболонки шлунка.

Суспензії нанодисперсного оксиду кремнію, карболайну та лігніну є ефективними засобами для корекції оксидативного ушкодження слизової оболонки шлунка за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Література

1. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VA Generatsiya svobodnykh radikalov i protsessy peroksidnogo oksleniya lipidov v slizistoy obolochke zheludka krysa v usloviyakh sochetannoy nitratoyn i fluoridnoy intoksikatsii [Free radical generation and lipid peroxidation processes in the gastric mucosa of rats under conditions of combined nitrate and fluoride intoxication]. Bulletin AGIUV. 2016;3:42-46. (Russian)
2. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. J. Ukr. Biochem. 2016;88(6):70-75. doi:

3. Akimov OYe, Kostenko VO. Superoxide and peroxy-nitrite production in gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication. Journal of Grodno State Medical University. 2018; 16(6):730-734. doi:
4. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VA Vliyaniye suspenzii nanodispersnogo kremnezoma na funktsionirovaniye tsikla oksida azota v slizistoy obolochke zheludka krysa pri sochetannoy nitratoyn i fluoridnoy intoksikatsii [The effect of nanodispersed silica suspension on the functioning of the nitric oxide cycle in the gastric mucosa of rats with combined nitrate and fluoride intoxication]. Medical Journal BMDU. 2017;1:40-44. (Russian)
5. Akimov OYe, Kostenko VO. Vplyv riznykh karbonovykh sorbentiv na funktsionuvannya tsykladu oksydu azotu v slizoviy obolontsi shkuriv za umov poyednanoi nitrato-floridnoy intoksikatsiyi [Influence of various carbonic sorbents on the functioning of the nitrogen oxide cycle in the mucous membrane of the stomach of rats under conditions of combined nitrate fluoride intoxication]. Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy. 2017;17(2):5-8. (Ukrainian)
6. Kaydashev IP, editor. Metody klinichnykh ta eksperymental'nykh doslidzhen' v medytsyni [Methods of clinical and experimental research in medicine]. Poltava; 2003. 320 p. (Ukrainian).
7. Kostenko VO, Tsebrzhins'kii OI. Produktiya superoksidnoho anion-radykala ta oksydu azotu u tkanyni nyrok pislya khirurhichnoho vtruchannya [Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material]. Fiziol Zh. 2000; 46(5):56-62. (Ukrainian).
8. Shuhua X, Ziyou L, Ling Y, Fei W, Sun G. A Role of Fluoride on Free Radical Generation and Oxidative Stress in BV-2 Microglia Cells. Mediators Inflamm. 2012;102954. doi: 10.1155/2012/102954..
9. Fina BL, Lombarte M, Rigalli JP, Rigalli A. Fluoride increases superoxide production and impairs the respiratory chain in ROS 17/2.8 osteoblastic cells. PLOS ONE. 2014;9(6):e100768. doi: 10.1371/journal.pone.0100768.
10. Bouaziz-Ketata H, Salah GB, Salah HB, Marrekchi R, Jamoussi K, Boudawara T, Fakhfekh F, Zeghal N. Nitrate-induced Biochemical and Histopathological Changes in the Liver of Rats: Ameliorative Effect of Hyparrhenia hirta. Biomed Environ Sci. 2014;27(9):695-706. doi: 10.3967/bes2014.105.
11. Romero-Puertas MC, Sandalio LM. Nitric oxide level is self-regulating and also regulates its ROS Partners. Front. Plant. Sci. 2016;7:316. doi: 10.3389/fpls.2016.00316.
12. Yang T, Peleli M, Zollbrecht C, Giuliatti A, Terrando N, Lundberg JO, Weitzberg E, Carlström M. Inorganic nitrite attenuates NADPH oxidase-derived superoxide generation in activated macrophages via a nitric oxide-dependent mechanism. Free Radic. Biol. Med. 2015;83:159-66. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.016.
13. Akimov OYe, Kovalova IO, Kostenko VO. Vliyaniye enterosorbentov na metabolism arginina i protsessy peroksidnogo oksleniya lipidov v krovii krysa v usloviyakh khronicheskoy sochetannoy intoksikatsii nitratom i fluoridom natriya [Influence of enterosorbents on arginine metabolism and lipid peroxidation processes in rats blood under conditions of chronic combined intoxication with nitrate and sodium fluoride]. Bulletin AGIUV. 2016;3:37-41. (Russian).

Реферат

КОРРЕКЦИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА КРЫС ЭНТЕРОСОРБЕНТАМИ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРАТНО-ФТОРИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Акимов О.Е., Мищенко А.В., Костенко В.А.

Ключевые слова: оксидативный стресс, нанодисперсный оксид кремния, карболайн, лигнин, нитратно-фторидная интоксикация

В некоторых регионах Украины экологическая ситуация является угрожающей для жизнедеятельности людей и животных. В регионах с развитым сельским хозяйством возможно избыточное поступление нитратов в организм человека и животных с продуктами питания и питьевой водой. В то же время в регионах с развитой химической и металлургической (особенно производство алюминия) промышленностью возможно дополнительное загрязнение питьевой воды избыточным количеством фторидов. Таким образом, не исключено одновременное избыточное поступление в организм нитратов и фторидов. Целью данной работы является определение влияния суспензий нанодисперсного оксида кремния, карболайна и лигнина гидролизного на продукцию супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$), активность антиоксидантных ферментов, содержание окислительно-модифицированных белков и концентрацию первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Материалы и методы. Все биохимические исследования проводились в 10% гомогенате слизистой оболочки желудка крыс. В ходе исследования определяли активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, содержание диеновых конъюгатов, октадиеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, содержания окислительно-модифицированных белков (ОМБ) и $O_2^{\cdot-}$. Результаты. Хроническая нитратно-фторидная интоксикация приводит к увеличению базовой продукции $O_2^{\cdot-}$ с одновременным снижением активностей СОД и каталазы. Содержание первичных продуктов ПОЛ и ОМБ увеличивается в условиях хронической инток-

сикации. Применение суспензий энтеросорбентов снижает продукцию $O_2^{\cdot-}$, восстанавливает функционирование антиоксидантных ферментов, снижает содержание первичных продуктов ПОЛ и ОМБ. Выводы. Хроническая нитратно-фторидная приводит к оксидативному повреждению фосфолипидов биологических мембран и белковых структур слизистой оболочки желудка. Суспензии нанодисперсного оксида кремния, карболайна и лигнина являются эффективными средствами для коррекции оксидативного повреждения слизистой оболочки желудка в условиях хронической нитратно-фторидной интоксикации.

Summary

CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS IN GASTRIC MUCOSA OF RATS BY ENTEROSORBENTS OF DIFFERENT CLASSES DURING CHRONIC NITRATE FLUORIDE INTOXICATION

Akimov O.Ye., Mishchenko A.V., Kostenko V.O.

Key words: oxidative stress, nanosized silicon oxide, carboline, lignin, nitrate-fluoride intoxication.

In some regions of Ukraine, the environmental conditions can be considered as threatening for the life of people and animals. There has been reported excessive accumulation of nitrates in the bodies of humans and animals with food and drinking water in regions with developed agriculture. At the same time, in regions with developed chemical and metallurgical (especially aluminium production) industries, additional contamination of drinking water with excess fluoride has been found out to take place. Thus, simultaneous excess intake of nitrates and fluorides into the human body cannot be excluded. The purpose of this work is to determine the effect of nanosized silica, Carboline and hydrolytic lignin suspensions on the production of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), the activity of antioxidant enzymes, the content of oxidative-modified proteins and the concentration of primary products of lipid peroxidation (POL). Materials and methods. All biochemical studies were carried out in 10% gastric mucosa homogenates of the rats. The study assessed the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase, content of diene conjugates, octadiene conjugates, trien conjugates, the content of oxidative-modified proteins (OMP) and $O_2^{\cdot-}$ production. Results. Chronic nitrate-fluoride intoxication leads to an increase in the basic $O_2^{\cdot-}$ production with a simultaneous decrease in the activities of SOD and catalase. The content of primary POL and OMB increases during chronic intoxication. Usage of enterosorbent suspensions reduces $O_2^{\cdot-}$ production, restores functioning of antioxidant enzymes, lowered the content of primary POL and OMP. Conclusions. Chronic nitrate-fluoride intoxication leads to oxidative damage to the phospholipids of biological membranes and the protein structures of the gastric mucosa. Suspensions of nanosized silicon oxide, carboline and lignin are effective means for correcting oxidative damage to the gastric mucosa during chronic nitrate-fluoride intoxication.