

4. Klonne, D.R. Acute toxicity and primary irritation of para-tertiary butylphenol / D.R. Klonne, R.C. Myers, D.J. Nachreiner // Drug and chemical toxicology. – 1988. – Vol. 11, №1. – P. 43-54.
5. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis / M. Eriksson [et al.] // Int J Cancer. – 2008. – Vol. 123, №7. – P. 1657-1663.
6. Santucci, K. Association of naphthalene with acute hemolytic anemia / K. Santucci, B. Shah // Acad Emerg Med. – 2000. – Vol. 7, №1. – P. 42-47.
7. Pesticide exposure and lymphohaematopoietic cancers: a case-control study in an agricultural region (Larissa, Thessaly, Greece) / M. Kokouva [et al.] // BMC Public Health. – 2011. – № 11. – P. 5-13.
8. EPA Health Effects Notebook for Hazardous Air Pollutants [Электронный ресурс]. URL: <http://www3.epa.gov/ttn/atw/hlthef/naphthal.html> (дата обращения: 18.11.2016).
9. Louis, K.S. Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods / K.S. Louis, A. C. Siegel // Methods Mol Biol. – 2011. – Vol. 740. – P. 7-12.
10. Böyum, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g / A Böyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. – 1968. – Vol. 97. – P. 77-89.
11. Metabolism and cytotoxicity of naphthalene and its metabolites in isolated murine Clara cells / C.H. Chichester [et al.] // Molecular Pharmacology. – 1994. – Vol. 45, №4. – P. 664-672.
12. Determination of cytotoxic and genotoxic effects of naphthalene, 1-naphthol and 2-naphthol on human lymphocyte culture / M. Kapuci [et al.] // Toxicology and Industrial Health. – 2014. – Vol. 30, №1. – P. 82-89.
13. Naphthalene exposure: effects on gene expression and proliferation in human cord blood cells / C. Diodovich [et al.] // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2003. – Vol. 17, №5. – P. 286-294.
14. Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: preliminary observations / A. Faustini [et al.] // Occup Environ Med. – 1996. – Vol. 53, №9. – P. 583-585.
15. Bajaj, A.K. Contact depigmentation from free para-tertiary-butylphenol in bindi adhesive / A.K. Bajaj, S.C. Gupta, A.K. Chatterjee // Contact Dermatitis. – 1990. – Vol. 22, №2. – P. 99-102.
16. Zimerson, E. Contact allergy to the monomers in p-tert-butylphenol-formaldehyde resin / E. Zimerson, M. Bruze // Contact Dermatitis. – 2002. – Vol. 47, №3. – P. 147-153.
17. Naphthalene sulfonate polymers with CD4-blocking and anti-human immunodeficiency virus type 1 activities / S. Rusconi [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 1996. – Vol. 40, №1. P. 234-236.
18. Bayer CropScience Россия URL: <http://www.bayercropscience.ru/ru/MTSPA.html> (дата обращения: 18.11.2016).

УДК 611.018.4:616-099:622.343.5

© Г.Р. Давлетгареева, Е.Р. Фаршатова, Ф.Х. Камилов, 2017

Г.Р. Давлетгареева, Е.Р. Фаршатова, Ф.Х. Камилов
**НЕФЕРМЕНТАТИВНОЕ ЗВЕНО АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ
 КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ КОМПОНЕНТАМИ
 МЕДНО-ЦИНКОВОЙ КОЛЧЕДАННОЙ РУДЫ**
*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Уфа*

При моделировании хронической интоксикации элементами руды у экспериментальных животных происходит накопление в костях ряда тяжелых металлов (меди, цинка, стронция, железа, марганца, кадмия, свинца, ртути), усиление костной резорбции, изменение окислительно-антиоксидантного баланса с превалированием окислительных процессов. Однако патогенетические и патохимические механизмы действия комплекса этих элементов на костную ткань остаются неясными и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования – оценить уровень основных компонентов неферментативного звена антиоксидантной системы в костной ткани при длительном поступлении компонентов медно-цинковой колчеданной руды.

Хроническая интоксикация половозрелых белых крыс компонентами медно-цинковой колчеданной руды при внутривенном введении суспензии измельченного порошка руды в 2% растворе крахмала приводила к снижению показателей содержания в костной ткани α -токоферола, аскорбиновой кислоты, глутатиона восстановленного, свободных тиоловых групп, достигающих статистической значимости к концу третьего месяца. Обсуждаются патохимические механизмы развития остеопенического синдрома при действии элементов руды цветных металлов.

Ключевые слова: остеопенический синдром, элементы медно-цинковой колчеданной руды, костная ткань, α -токоферол, аскорбат, глутатионвосстановленный, свободные тиоловые группы.

G.R. Davletgareeva, E.R. Farshatova, F.Kh. Kamilov
**NON-ENZYMATIC LINK OF BONE TISSUE ANTIOXIDANT PROTECTION
 DURING INTOXICATION WITH COMPONENTS OF COOPER-ZINC PYRITIC ORE**

Modeling chronic intoxication with elements of ore in experimental animals leads to accumulation in the bones of some heavy metals (copper, zinc, strontium, iron, manganese, cadmium, lead, mercury), increased bone resorption, changes of oxidant-antioxidant balance with the prevalence of oxidative processes. However, pathogenetic and pathochemical mechanisms of action of these elements on bone remain unclear and require further study.

The purpose of the study was to assess the level of the main components of the non-enzymatic link of the antioxidant system in the bone tissue under prolonged intake of the components of copper-zinc pyritic ore.

Chronic intoxication of sexually mature white rats with components of copper-zinc pyritic ore by intraventricular injection of crushed ore powder suspension in 2% solution of starch led to decrease in the bone tissue of α -tocopherol, ascorbic acid, glutathione restored, free thiol groups, reaching statistical significance by the end of the third month. The paper discusses the pathochemical mechanisms of development of osteopenic syndrome under action of elements of ores of nonferrous metals.

Key words: osteopenic syndrome, elements of copper-zinc pyritic ore, bone tissue, α -tocopherol, ascorbate, glutathione restored, free thiol groups.

Рабочие предприятий по добыче и обогащению руды цветных металлов имеют длительный контакт с тяжелыми металлами и другими токсическими элементами. Среди комплекса негативных факторов, действующих на горняков, добывающих медно-цинковую колчеданную руду, ведущую роль играет воздействие полиметаллической пыли, выделение которой сопровождает все основные технологические процессы добычи [2]. Образование рудничной пыли достигает интенсивности до 2,5 ПДК. Она является высокодисперсной и содержит в своем составе более 80 компонентов, включающих медь, цинк, железо, свинец, сурьму, кадмий, ртуть, хром, мышьяк, серебро и другие элементы, которые попадают в организм горняков и накапливаются в тканях [1]. Действие элементов, содержащихся в рудах, приводит к нарушению метаболических и физиологических процессов в различных органах и тканях, включая соединительную и костную. Неслучайно болезни костно-мышечной и соединительной ткани у работающих на предприятиях по добыче и обогащению цветных металлов занимают в структуре заболеваемости с временной утратой трудоспособности высокое ранговое место [2,3]. Распространенность этого класса болезней среди горняков связана также с развитием такой хронической патологии, как остеопороз. У горняков, добывающих медно-цинковую руду подземным способом, снижение костной прочности обнаруживается значительно чаще, чем у работников наземных служб горнодобывающего предприятия, и коррелирует со стажем работы по добыче руды [5,11]. При моделировании хронической интоксикации элементами руды у экспериментальных животных происходит накопление в костях ряда тяжелых металлов (меди, цинка, стронция, железа, марганца, кадмия, свинца, ртути), усиление костной резорбции, изменение оксидантно-антиоксидантного баланса с превалированием оксидативных процессов [5,11]. Однако патогенетические и патохимические механизмы действия комплекса этих элементов на костную ткань остаются неясными и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования – оценить уровень основных компонентов неферментативного звена антиоксидантной системы в костной ткани при длительном поступлении компонентов медно-цинковой колчеданной руды.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 36 половозрелых белых крысах-самцах массой 200-240 г. Опытной группе животных с помощью

специального металлического зонда внутрижелудочно ежедневно в течение 3-х месяцев вводили суспензию измельченного порошка медно-цинковой колчеданной руды в 2% растворе крахмала из расчета 60 мг на 100 г массы животного. Расчет вводимой дозы порошка руды осуществляли исходя из минимальной токсичной дозы меди, составляющей для крыс 2,11 мг на 100г массы [9] и среднего содержания ее в руде – 3,5%. Животные контрольной группы получали внутрижелудочно 2% раствор крахмала. Для экспериментов использовали руду Учалинского месторождения, добываемую ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат», г. Учалы.

Животные содержались в одинаковых условиях вивария на стандартной диете. Через 1, 2 и 3 месяца животных под легким эфирным наркозом выводили из эксперимента и в гомогенатах эпифизов бедренных костей определяли содержание восстановленного глутатиона (ГВ) [6], свободных тиоловых групп (СТГ) [12], α -токоферола [14], аскорбиновой кислоты [16] и общую антиоксидательную активность (ОАА) [7]. Концентрацию белка в гомогенатах изучали по Лоури.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программы Statistica 6,0 for Windows с определением в группах значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартиля [Q_1 - Q_3]. Сравнение групп проводили с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферони. Различия считали значимыми при $P \leq 0,05$, а при $P < 0,1$ различия оценивали как статистически вероятными.

Результаты и обсуждение

Длительное поступление компонентов медно-цинковой колчеданной руды в организм животных постепенно снижало уровень показателей антиоксидантной защиты в костной ткани, который к концу третьего месяца эксперимента достигал статистической значимости (см. таблицу). Так, общая антиоксидантная активность костной ткани через 3 месяца интоксикации составляла лишь 71,4% от первоначального уровня. Истощение антиоксидательных резервов при хронической интоксикации компонентами руды может быть следствием разных механизмов.

Ряд металлов с переменной валентностью (Fe, Cu и др.) в свободном состоянии стимулируют течение свободнорадикальных процессов, инициируя образование активных форм кислорода [8,9]. Активное потребление антиоксидантных ресурсов в костной ткани может быть следствием накопления в ней

этих элементов. Так, α -токоферол, относящийся к группе жирорастворимых фенольных антиоксидантов, является эффективным перехватчиком гидроксильного, пероксидных и алкоксильных радикалов, находится в липидном бислое и защищает остатки ненасыщенных жирных кислот липидов биологических мембран [8]. Основными антиоксидантами цитозоля клеток являются аскорбиновая кислота и восстановленные тиолы, в частности глутатион и свободные тиоловые группы других пептидов и белков [15]. Аскорбиновая кислота реагирует с супероксиданионом, гидроксилрадикалом, пероксидным и алкоксильным радикалами, синглетным кислородом, в результате чего образуется дегидроаскор-

батный радикал, который восстанавливается за счет глутатионового цикла. Наличие достаточного количества аскорбата необходимо для регенерации окисленного токоферола [4]. Вместе с тем в присутствии свободных ионов железа, меди и некоторых других металлов переменной валентности, а значительное увеличение их содержания в костной ткани экспериментальных животных при хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды было установлено ранее [5, 11], аскорбиновая кислота проявляет прооксидантное действие [4], и в условиях длительного воздействия руды аскорбиновая кислота может быть не только антиоксидантом, но и прооксидантом.

Таблица

Общая антиокислительная активность и уровень компонентов неферментативной антиоксидантной защиты в костной ткани крыс при интоксикации элементами медно-цинковой колчеданной руды

Показатели	контрольная, n=8	Группа животных		
		опытная		
		Через 1 месяц, n=10	Через 2 месяца, n=10	Через 3 месяца, n=8
ГВ, мкмоль/мг белка	2,62[1,99-3,24]	1,81[1,51-2,20] P=0,0104	2,02[1,59-2,10] P=0,0573	1,57[1,30-1,82] P=0,0043
СТГ, мкмоль/мг белка	8,00 [6,85-10,2]	7,70 [6,72-9,8] P=0,6018	7,05 [6,08-9,41] P=0,1804	6,09 [5,2-9,62] P=0,0281
Аскорбат, мкг/мг белка	2,15 [1,81-2,58]	2,21 [1,96-2,45] P=0,3184	2,04 [1,82-2,06] P=0,3004	1,58 [1,36-1,89] P=0,0569
α -Токоферол, мкг/мг белка	12,4 [10,8-13,8]	11,6 [10,2-11,8] P=0,4082	11,5 [10,6-12,3] P=0,3529	10,2 [9,9-10,8] P=0,0281
ОАА, %	21,4[17,5-24,1]	20,4[18,3-2,58] P=0,5163	18,9 [17,2-20,8] P=0,0648	15,3 [12,9-17,7] P=0,0047

Другим механизмом неспецифического токсического действия металлов, содержащихся в руде, является связывание сульфгидрильных групп [9], что наряду с воздействием активных форм кислорода приводит к снижению уровня восстановленного глутатиона и свободных тиоловых групп.

Восстановленный глутатион занимает одно из центральных позиций в системе антиокислительной защиты клеток. Уровень тиоловых группировок оказывает влияние на окислительно-восстановительный баланс клеток, на состояние неспецифической резистентности организма, процессы пролиферации и апоптоза, активность ферментов и метаболизм клетки, внутриклеточные механизмы передачи гормональных и других регуляторных сигналов, значительную группу факторов транскрипции и их связывание с регуляторными боксами ДНК [10, 17]. Реагируя на состояние окислительно-восстановительного статуса редоксчувствительные транскрипционные факторы изменяют транскрипцию нескольких сотен генов, входящих в систему антиоксидант-реактивного элемента, являющегося ключевым фактором в

поддержание внутриклеточного гомеостаза при токсических, стрессорных и других воздействиях [13]. Через активацию антиоксидант-реактивного элемента регулируется также экспрессия ключевых факторов антиокислительной физиологической защиты и биотрансформации: глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион – S-трансферазы, тиоредоксина, тиоредоксинредуктазы, глюкуронидтрансферазы, гамма-глутамилцистеинлигазы, уронилтрансферазы, металлотионеина и др. [8, 17].

Свободные тиоловые группы в условиях окислительного стресса подвергаются в первую очередь окислению и на них приходится основная доля ингибирования свободных радикалов [4]. Они также вовлекаются в ферментативное восстановление фенольных антиоксидантов (α -токоферола и др.). Окисление SH-групп может приводить к опасному угнетению ферментов, коферментные функции которых выполняют серосодержащие соединения (глутатион, липоевая кислота, коэнзим А), а также тиоловых металлопротеиназ (цитохром P-450, митохондриальная креатинкиназа и др.), нарушению ряда гормональных рецепторов [4,17].

Снижение уровня восстановленного глутатиона в условиях интоксикации элементами медно-цинковой колчеданной руды может быть следствием нарушения ферментных систем его регенерации.

Костная ткань активно реагирует на изменения минерального состава и поступление токсичных элементов [5,9], и истощение ее антиоксидантных резервов при действии компонентов руды цветных металлов может быть одним из ведущих патогенетических механизмов снижения костной прочности и разви-

тия остеопенического синдрома в результате активации свободнорадикальных процессов и нарушения процессов метаболизма.

Выводы. При хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды в костной ткани экспериментальных животных наблюдается истощение содержания компонентов неферментативного звена антиоксидантной защиты, что приводит к уменьшению общей антиокислительной активности и отражается на метаболизме ткани со снижением костной прочности.

Сведения об авторах статьи:

Давлетгареева Гульназ Ришатовна – заочный аспирант кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 227-66-07. E-mail: Tabletkadg@yandex.ru.

Фаршатова Екатерина Рафаэлевна – к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 273-85-71. E-mail: farshatova-ekaterina@mail.ru.

Камилов Феликс Хусанович – д.м.н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 227-66-07.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние полиметаллической пыли медно-цинковых колчеданных руд на состояние минерального обмена и костной ткани / Э.Ф. Аглетдинов [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – №15. – С.15-18.
2. Аскарлова, З.Ф. Профессиональный риск у работников горнодобывающих предприятий / З.Ф. Аскарлова, В.П. Чашин, Э.И. Денисов. – СПб.: Норд-медиздат, 2010. – 216 с.
3. Оценка общей и профессиональной заболеваемости на предприятиях горной промышленности Казахстана / Ж.Е. Баттакова [и др.] // Медицина труда и пром. экология. – 2008. – № 2. – С.1-5.
4. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение) // Физиологические и клинико-биохимические аспекты. – СПб.: Изд-во Медицинская пресса, 2006. – 400 с.
5. Остеопороз: влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани / Ф.Х. Камилов [и др.]. – Уфа: Изд-во «ГУП РБ Уфимский полиграфкомбинат», 2015. – 311 с.
6. Карпищенко А.И., Глушков С.И. Влияние острой интоксикации дихлорэтаном на показатели системы глутатиона / А.И. Карпищенко, С.И. Глушков // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – № 6. – С. 52-56.
7. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов / Г.И. Клебанов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1988. – Т.34, вып. 6. – С.59-62.
8. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
9. Токсикологическая химия: метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие / Е.Ю. Афанасьева [и др.] / под ред. Н.И. Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1015 с.
10. Турпаев, К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // Биохимия. – 2002. – Т. 61. – С. 339-359.
11. Фаршатова, Е.Р. Влияние металлов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах, на метаболизм костной ткани / Е.Р. Фаршатова, И.А. Меньшикова, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 4. – С.56-58.
12. Bellomo G., Thor H., Orrenius S. Modulation of cellular glutathione and protein thiol status during quinine metabolism / G. Bellomo, H.Thor, S. Orrenius // Method. Enzymol. – 1990. – Vol.186. – P. 627-635.
13. Cullinan S.B. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK /Nrf2 signaling pathway / S.B. Cullinan, I.A. Diehe // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2006. – Vol. 38, № 3. – P.317-332.
14. Desai I.D. Vitamin E analysis methods for animal tissues // Method. Enzymol. – 1984. – Vol.105. – P.138-147.
15. Meister A. Glutathione – ascorbic acid antioxidant system in animals // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269, №13. – P.9397-9400.
16. Omaye S.T. Selectod methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids / S.T. Omaye, J.W. Turnball, H.E. Sauberlich // Method. Enzymol. – 1971. – Vol. 62. – P.1-11.
17. Sies H. Glutathione and its role in cellular function // Free Radic. Biol. Med. – 1999. – Vol. 27, № 9/10. – P.916-921.

УДК 615.272/273-092.4

© Коллектив авторов, 2017

З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова, Е.В. Виноградова, И.А. Семенец **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА В МЫШЦАХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СИМВАСТАТИНА** *ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону*

На сегодняшний день ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коферментА-редуктазы (статины) являются препаратами выбора для снижения уровня холестерина. В то же время применение статинов ассоциируется с развитием специфического побочного эффекта – статиновой миопатии, характеризующейся внезапным появлением мышечной боли. Цель исследования – анализ активности ферментов антиоксидантной защиты в мышцах крыс после длительного введения симвастатино. В мышечной ткани крыс определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) и концентрацию восстановленного глутатиона (GSH). Установлено, что в основе развития миотоксичности при длительном введении симвастатино лежит дезинтеграция ферментативных антиоксидантных процессов, что лежит в основе окислительного повреждения миоцитов. Полученные данные могут быть использованы для разра-