FREE RADICAL PROCESSES IN RATS' ORGANISMS ON THE BACKGROUND OF DRINKING WATER WITH DIFFERENT CONTENTS OF SODIUM AND POTASSIUM STEARATE IN COMBINATION WITH MAGNESIUM

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ НА ФОНІ ВЖИВАННЯ ВОДИ З РІЗНИМ ВМІСТОМ СТЕАРАТАМИ КАЛІЮ ТА НАТРІЮ В КОМБІНАЦІЇ З МАРГАНЦЕМ

Halina Krycka, Olena Lotocka

Department of General Hygiene and Ecology
Ternopil State Medical University, Ukraine

DOI: <https://doi.org/10.20883/pielpol.2016.58>

ABSTRACT

The effect of drinking water with different contents of sodium and potassium stearate in combination with magnesium on lipid peroxidation and antioxidants in rats' organisms was examined. After that it was established that the prolonged use of water that had concentrations of potassium and sodium stearate in different doses affected the experimental animals' hepatocyte cell membranes due to the activation of lipid peroxidation and antioxidant system suppression. The combination of stearates and magnesium increases the toxic effects.

KEYWORDS: potassium stearate, sodium stearate, magnesium chloride, lipid peroxidation, thiobarbituric reactive substances, conjugated dienes, catalase, superoxide dismutase.

АНОТАЦІЯ

Вивчено вплив питної води з різним вмістом стеарату калію та натрію в комбінації з магнієм на перекисне окислення ліпідів і стан антиоксидантного захисту в організмі щурів. Встановлено, що тривале вживання піддослідними тваринами питної води з концентраціями стеарату калію та натрію в різних дозах негативно впливає на стан клітинних мембран гепатоцитів внаслідок активації процесів перекисного окиснення ліпідів та пригніченню антиоксидантної системи. Комбінація стеаратів з магнієм навіть посилює їх токсичну дію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стеарат калію, стеарат натрію, магнію хлорид, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист, ТБК-активні продукти, дієнові кон'югати, каталаза, супероксиддисмутаза.

Постановка проблеми

Відомо, що здоров'я людини значною мірою залежить від якості води, яку вона вживає. Високий рівень забруднення джерел питного водопостачання, недостатня ефективність існуючих технологій водопідготовки, низький рівень забезпеченості водою населення викликають погіршення якості води. Однією з причин недостатньої якості питної води є низька якість природної води, яка постійно забруднюється стічними водами промислових та комунальних підприємств, поверхневими стоками з полів і територій населених пунктів з якими потрапляє велика кількість токсичних речовин [1]. Серед них не останнє місце займають поверхнево-активні речовини (ПАР) і важкі метали (ВМ).

На думку багатьох вчених, ПАР - мало токсичні для тварин і людини речовини [2,3]. Проте, ці речовини, маючи деяку хімічну спорідненість з відповідними компо-

нентами мембран клітин, при надходженні в організм накопичуються на клітинних мембранах і при досягненні відповідної концентрації можуть викликати порушення ряду важливих біохімічних процесів. ВМ також мають виражені мембранотоксичні властивості, впливають на активність ензимів та перебіг біохімічних процесів, здатні до кумуляції в тканинах і за тривалої дії спричинюють віддалені негативні ефекти. Тому ризик для здоров'я людини та тварин зростає навіть у разі надходження їх в організм у незначній кількості [4]. Більшість токсикантів мають гепатотропну спрямованість своєї токсичної дії або метаболізуються в печінці [5]. Тому доцільним було проведення експерименту на піддослідних тваринах з метою встановлення потенційної токсичної дії комбінації ПАР і ВМ на процеси вільно-радикального окислення (ВРО) в тканинах печінки.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Проблеми забруднення поверхневих та підземних вод та можливість несприятливого впливу питної води з різним хімічним складом на організм водоспоживачів неодноразово розглядали вітчизняні та зарубіжні вчені, зокрема Волощенко О.Г., Гончарук В.В., Кондратюк В.А., Мудрий І.В., Омелянець М.І., Прокопов В.О., Рахманін Ю.А., Сердюк А.М., Щербань М.Г. та інші. Досліджено, що в даний час в Україні проблема забезпечення населення питною водою нормативної якості внаслідок зростання антропогенного навантаження комунальних та промислових стоків на водні ресурси загострюється, а тому екологічну ситуацію, що склалась в Україні, можна охарактеризувати як наближену до кризової, хоча встановлено вплив різноманітних хімічних сполук, які можуть надходити в організм з питною водою і регламентовані зчисленими гігієнічними нормативами. Але узагальнення літературних даних виявило недостатню кількість досліджень дії ПАР на печінку на рівні порогових і підпорогових доз, особливо в комбінації з ВМ, що обмежує можливість прогнозування наслідків впливу цих чинників на здоров'я населення.

Мета статті

Встановити особливості перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та стану окисдантного захисту (АОЗ) в організмі піддослідних тварин, а саме в печінці, яка будучи місцем метаболізму хімічних сполук і біологічних компонентів особливо зазнає їх шкідливого впливу, при вживанні питної води з різним вмістом стеарату калію та натрію впродовж 30 днів в комбінації з марганцем.

Методологія

Досліди проведені на 78 білих безпородних щурах-самцях масою 180-200 г. Групи відбирали методом рандомізації. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, та норм біомедичної етики і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Було сформовано 13 груп по 6 тварин в кожній.

Тварини знаходилися на загально прийнятому раціоні віварію в однакових умовах і відрізнялися лише за якістю питної води, яку тварини споживали з автопоїлок. Щурі контрольної групи (К) вживали воду з міського водогону (6 тварин). Експериментальні групи (по 12 щурів) вживали питну воду з різними концентраціями стеаратів калію (StK) і натрію (StNa) в різних дозах. Тварини 1-ї групи (StK₁) вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 125,0 мг/дм³ (що дорівнювало максимально недіючій дозі (МНД) речовини), 2-ї групи (StK₂) - 62,5 мг/дм³ (або ½ МНД), 3-ї групи (StK₃) - 31,2 мг/

дм³ (або ¼ МНД), 4-ї групи (StNa₁) - вживали питну воду з вмістом стеарату натрію в кількості 125,0 мг/дм³ (що дорівнювало МНД речовини), 5-ї групи (StNa₂) - 62,5 мг/дм³ (або ½ МНД), 6-ї групи (StNa₃) - 31,2 мг/дм³ (або ¼ МНД). Через 25 днів від початку експерименту кожную дослідну групу поділили на 2 підгрупи по 6 щурів, яким було внутрішньошлунково введено марганцю хлорид в дозі 1/20 від ЛД₅₀.

Тварин виводили з експерименту шляхом кровопускання під тіопентал-натрієвим наркозом через 30 днів від початку дослідю. Вміст ТБК-активних (тіо-барбітурова кислота) продуктів визначали в гомогенаті печінки за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [6], кількість дієнових кон'югатів (ДК) - за інтенсивністю поглинання світла гептановою фракцією [7]. Стан ферментної ланки антиоксидантної системи оцінювали за супероксиддисмутазною активністю (СОД), яку визначали за ступенем інгібування відновлення нітротетразолію синього [8] та каталазною активністю (КТ), яку досліджували фотокolorиметричним методом за інтенсивністю забарвлення комплексу, що утворюється при взаємодії пероксиду водню з молібдатом амонію [9]. Оцінку достовірності відмінностей між групами проводили зі застосуванням непараметричного методу за U-критерієм Уїлкоксона (Уїтні-Манна) [10]. Математично-статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням програми Statistica.

Виклад основного матеріалу

До аніонних ПАР, які входять до складу синтетичних миючих засобів і широко використовуються більш ніж у 100 галузях народного господарства відносяться стеарати калію і натрію. Стеарат калію, як і стеарат натрію представляють собою суміш лужних металів і стеаратів та пальмітатів з перевагою стеарату. Токсичність стеаратів пов'язана з деструкцією їх в організмі на кислотний радикал і катіон металу, який в основному проявляє токсичну дію.

Марганець (II), який вважають відносно нетоксичним металом [11], має здатність легко змінювати ступінь окиснення, широко зустрічається у прісних водоймах, проявляючи негативну дію на гідробіоти [12]. В літературних джерелах зазначається про особливість марганцю змінювати ступінь токсичності в залежності від співвідношення рівнів концентрацій марганцю і заліза, що впливає на зміну токсичності останнього для фітопланктону [13].

Хімічне забруднення довкілля виконує роль стресора, що спричинює структурно-функціональні відхилення у клітинах та їх мембранах, порушує гомеостаз і викликає активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [14]. У сукупності відбувається реакція-відповідь організму на дію хімічних агентів у вигляді токсичного стресу [15].

Активні форми кисню, що утворюються у процесах ПОЛ, забезпечують цитотоксичну дію, впливають на регуляцію процесів поділу клітин, модуляцію апоптозу та ліпідні компоненти біомембран [16].

Останніми роками чимало досліджень присвячені процесам вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Це великою мірою зумовлено тим, що дефект в зазначеній ланці метаболізму здатний суттєво знизити резистентність організму до впливу на нього несприятливих чинників зовнішнього та внутрішнього середовища. Внаслідок вільнорадикального розриву поліненасичених жирних кислот при ПОЛ утворюються ТБК-активні продукти (ТБК-АП), які слугують біомаркером наявності цих процесів і оксидативного стресу. Таким чином, концентрація ТБК-АП відображає активність процесів ПОЛ в організмі та може бути маркером ступеня інтоксикації організму. Як правило, високий вміст ТБК-активних продуктів відповідає важкому ступеню ендогенної та екзогенної інтоксикації.

Для оцінки інтенсивності ПОЛ найбільш часто використовують кількісне визначення ДК та ТБК-активних продуктів. Досліджено, що при ПОЛ у тканинах на перших етапах утворюються ДК поліненасичених вищих жирних кислот, пізніше – ТБК-АП. Останні призводять до пошкодження клітинних мембран і стінок судин, що є одним з провідних факторів розвитку запального процесу та його хронізації.

Результати досліджень показали, що при вживанні води з різними концентраціями стеарату калію і натрію відмічалися зміни показників ПОЛ (рис. 1).

Концентрація ТБК-АП у гомогенаті печінки тварин контрольної групи дорівнювала $1,18 \pm 0,03$ мкмоль/кг. В інших групах цей показник був більший за виключенням тварин 3-ї групи. Так, на 30 добу експерименту в гомогенаті печінки щурів 1-ї групи відмічалось зростання концентрації ТБК-АП в 2,4 рази ($p < 0,01$), 2-ї групи – в 1,6 раз ($p < 0,01$) в порівнянні з контролем. В 3-й групі концентрація показника була практично на рівні контрольних величин.

Рис. 1. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів в гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію (Примітка: тут і надалі * – достовірність відмінностей показників дослідних і контрольної груп (* – $p < 0,1$; ** – $p < 0,01$)).

Концентрація ДК в гомогенаті печінки, як видно на рис. 1, також збільшилася в порівнянні з контрольною групою. Так, в 1-й групі показник зріс в 2,2 рази ($p < 0,01$), а в 2-й – в 1,5 раз ($p < 0,01$). В 3-й групі різниці з контрольною групою практично не було. При вживанні води з різними концентраціями стеарату натрію відмічалися наступні зміни показників ПОЛ: в гомогенаті печінки тварин 4-ї групи відмічалось зростання ТБК-АП та ДК в 2,1 рази, в 5-й групі – в 1,6. В 6-й групі різниці з контрольною практично не було.

Введення щурам на фоні 25 денного споживання води з різними концентраціями стеарату калію і марганцю хлориду призвело до ще більшої стимуляції процесів ПОЛ (рис. 2). Так, кількість ТБК-АП у щурів 1-ї групи, які вживали питну воду з найбільшою концентрацією стеарату калію, після внутрішньо шлункового введення марганцю хлориду зросла в 3,6 рази в порівнянні з контрольними величинами ($p < 0,01$), а в 2-й – в 3,0 рази ($p < 0,01$). В 3-й групі кількість ТБК-АП також перевищувала контрольні величини в 2,2 рази ($p < 0,1$).

Вміст ДК у гомогенаті печінки всіх трьох дослідних груп перевищував як контрольні величини, так і показники у щурів, яким не вводили важкий метал. Так, у щурів 1-ї групи показники практично однаково зросли в 3,3 рази, а 2-ї – в 2,7 рази. Навіть в 3-й групі вони в 2 рази перевищували контрольні величини, що може свідчити про те, що марганець змінює ступінь окиснення і токсичності стеарату калію, викликаючи посилення вільнорадикальних процесів в тканині печінки.

У тварин, які вживали воду зі стеаратом натрію, спостерігалось менш виражені зміни даних показників.

Рис. 2. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів в гомогенаті печінки піддослідних тварин під дією субтоксичних доз марганцю на тлі вживання питної води з різним вмістом стеаратів калію та натрію.

Так, кількість ТБК-АП та ДК у щурів 4-ї групи, які вживали питну воду з найбільшою концентрацією стеарату натрію, після внутрішньо шлункового введення марганцю хлориду зросла практично однаково – в 2,4 рази в порівнянні з контрольними величинами ($p < 0,01$), в 2-й – в 2,0 рази ($p < 0,01$). В 3-й групі кількість ТБК-АП також перевищувала контрольні величини в 1,8 раз ($p < 0,1$). Якщо порівняти між собою стеарати, то можна зробити висновок, що марганця хлорид на фоні вживання

води з субтоксичним вмістом стеарату калію більш негативно впливає на печінку, ніж стеарат натрію.

Причинами посилення ВРО можуть бути зниження активності системи антиоксидантного захисту, які здатні знешкоджувати активні форми кисню, котрі і є безпосередніми ініціаторами пероксидного окиснення білків, а також пригнічення активності внутрішньоклітинних протеаз, що забезпечують деградацію білкових молекул. Проведені нами дослідження активності антиоксидантних ферментів підтвердили це. Стан ферментної ланки антиоксидантної системи оцінювали за активністю каталази (КТ) та супероксиддисмутази (СОД). Встановлено, що у піддослідних тварин, які споживали воду з різними концентраціями стеарату калію, було пригнічення активності цих показників (рис. 3).

У 1-й дослідній групі тварин, які вживали питну воду з вмістом стеарату калію в кількості 125,0 мг/дм³, спостерігалось зменшення КТ в 1,9 разу ($p < 0,001$), в 2-й групі, які питну воду з вмістом стеарату калію 65,5 мг/дм³ – в 1,2 разу в порівнянні з контрольною групою. Щодо СОД, то спостерігалися наступні зміни: у 1-й групі тварин активність ензиму зменшилася в 2,4 раз ($p < 0,001$), а в 2-й групі – в 1,8 раза. В 3-й групі обидва показника мало відрізнялися від контролю.

Споживання води з різними концентраціями стеарату натрію викликало активацію ферментів АОЗ. В 4-й групі рівень КТ в гомогенаті печінки збільшився в 1,4 раза, а СОД – в 2,0 раза ($p < 0,01$). В 5-й групі зміни були менш вираженими, хоча збереглася тенденція в зростанні КТ, а кількість СОД в 1,4 раза була вища в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,01$). В 6-й групі показники мало відрізнялися від контрольних величин.

Рис. 3. Зміни показників антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки піддослідних тварин при вживанні питної води з різним вмістом стеарату калію та натрію

Введення щурам цих груп марганцю хлориду в дозі 1/20 від ЛД₅₀ призвело до ще більшого пригнічення АОЗ. Так, в 1-й групі відмічалось достовірне ($p < 0,001$) зниження обох показників: активність КТ зменшилася в 2,0 рази, а СОД в 2,4 рази в порівнянні з контрольною групою (рис. 4). В 2-й групі пригнічення показників було менш виражене – в 1,4 і 1,9 разів відповідно ($p < 0,001$).

Рис. 4. Зміни показників антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки піддослідних тварин під дією субтоксичних доз марганцю на тлі вживання питної води з різним вмістом стеаратів калію і натрію.

І лише в останній 3-й групі рівень ензимів знаходився практично на рівні контрольних величин. В 4-й групі, тварини якої споживали воду з найбільшою концентрацією стеарату натрію, навпаки, відмічалось зростання ферментів АОЗ. Рівень КТ в гомогенаті печінки збільшився в 1,7 раза, а СОД – в 3,0 раза ($p < 0,01$). В 5-й групі зміни були менш вираженими, а кількість КТ та СОД в 1,4 раза була вища в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,01$). В 6-й групі показники мало відрізнялися від контрольних величин.

Висновки

Таким чином, в результаті проведеного експерименту можна зробити наступні висновки:

1. Вживання піддослідними тваринами питної води з вмістом стеаратів калію та натрію в різних дозах на протязі 25 днів викликає зростання рівня показників перекисного окиснення ліпідів, а саме ТБК-активних продуктів та дієнових кон'югат, кількість яких прямо пропорційна до концентрації стеаратів у питній воді.
2. Вживання піддослідними тваринами питної води з вмістом стеаратів калію та натрію в різних дозах з наступним введенням субтоксичних доз марганцю викликає більш виражену активацію процесів перекисного окиснення ліпідів, яка більше проявляється на фоні вживання стеарату калію.
3. Вживання піддослідними тваринами питної води з вмістом стеаратів калію та натрію в різних дозах викликало зміни вмісту ферментів антиоксидантного захисту вода зі стеаратом калію пригнічує активність цих показників, а зі стеаратом натрію викликає активацію. Введення субтоксичних доз марганцю призвело до посилення даних змін.

Отримані результати вимагають подальшого вивчення в майбутньому.

Література

1. Мацієвська О. О. Еколого-гідрохімічна оцінка поверхневих водних об'єктів Львівської області / О.О. Мацієвська // Вісник національного університету "Львівська політехніка" – 2011. - № 712. С. 68-73.
2. Грабовська О. С. Біологічний вплив поверхнево активних речовин на живий організм / О. С. Грабовська, С. С. Грабовський, В. В. Каплінський [та ін.] // Біологія тварин. – 2006. – т.8, № 1-2. – С. 16-21.
3. Волощенко О. И., Мудрый И. В. Влияние синтетических детергентов на уровень эндогенных поверхностно-активных веществ // Гигиена и санитария. – 1987. – № 1. – С. 14–15.
4. Мудрый И.В. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм / И.В. Мудрый, Т.К. Короленко // Врачебное дело. – 2002. - №5-6. – С. 6-9
5. Сікора В.З. Вплив солей важких металів на морфологію печінки / В.З. Сікора, В.В. Захлебаєва // Вісник Сумського державного університету. – 2005. – № 3 (75). – С. 5-9.
6. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
7. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – 63-64 с.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, И. Сеней // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.
9. Королук М. А. Способ определения активности каталазы / М. А. Королук // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 6–19.
10. Гельман В.Я. Медицинская информатика: практикум. – СПб. Питер, 2001. – 480 с.
11. Barceloux D.G. Manganese. / D.G. Barceloux // Clinical Toxicology – 1999. - № 37:293–307 p.
12. Линник Р.П. Методы исследования сосуществующих форм металлов в природных водах (Обзор) / Р. П. Линник, П. Н. Линник, О. А. Запорожец // Методы и объекты химического анализа. - 2006. - № 1. - С. 4-26.
13. Яришкіна Л. О. Дослідження забруднення Запорізького водосховища деякими важкими металами / Л. О. Яришкіна, М. О. Заїка // Екологічна безпека – 2010. - №2 (10).
14. Трахтенберг И. М. Тиоловые яды / И. М. Трахтенберг, Л. М. Шафран // Общая токсикология / Подред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова. – М. : Медицина, 2002. – С. 111–175.
15. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111, № 6. – С. 923–931.
16. Гасо В. Я. Перекисне окиснення ліпідів у прудкої ящірки з екосистем різного ступеня антропогенної трансформації / В. Я. Гасо, О. Ю. Клименко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2011. – Вип. 2, т. 2. – С. 128–134.

The manuscript accepted for editing: 23.09.2016

The manuscript accepted for publication: 25.10.2016

Funding Sources: This study was not supported.

Conflict of interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Address for correspondence:

Halina Hrycka

Майдан Волі, 1.

Ternopil, 46000, Ukraine

phone: +380 (0352) 254661

e-mail: krytska@tdmu.edu.ua

Department of General Hygiene and Ecology

Ternopil State Medical University, Ukraine