

Б. М. Галкін, М. Я. Головенко, І. Є. Барінова, В. Є. Осетров, Т. О. Філіпова

КОРЕКЦІЯ АНТИОКСИДАНТАМИ АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ І КАТАЛАЗИ В УМОВАХ ОКИСНЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Негативний антропогенний вплив на навколишнє середовище останніми десятиліттями спричинив створення низки вітчизняних і міжнародних програм. Один із найважливіших напрямків цих досліджень — вивчення принципів корекції адаптаційних механізмів людини при дії несприятливих факторів середовища.

До найнебезпечніших забруднювачів навколишнього середовища можна віднести окисли азоту і вуглецю — як продукти господарської діяльності, так і наслідки хімічних катастроф.

Високі концентрації окислів азоту спричинюють в організмі послідовні трифазні зміни: гострий бронхіт, набряк легень, бронхоспастичне облітерування. Навіть при невеликих дозах вони викликають леге-

невий фіброз і знижують активність легеневих макрофагів, що призводить до зниження резистентності організму до вірусних і бактеріальних інфекцій [1].

Чадний газ, проникаючи через дихальні шляхи, проходить через альвеолярно-капілярні мембрани, розчиняється в плазмі крові і фіксує Hb з утворенням HbCO. Це знижує здатність крові переносити кисень, що призводить до гіпоксії тканин і, за інтенсивного впливу, може закінчитися летально.

Гострі отруєння чадним газом і діоксидом азоту супроводжуються порушенням тканинних процесів, пов'язаних з утилізацією кисню. Ці порушення строго специфічні, однією зі складових цих змін є окиснювальний стрес [2; 3].

До ферментативних компонентів біоантиоксидантного комплексу належать супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза. Обидва ферменти каталізують реакції знешкодження активних форм кисню, тобто сильних окисників. Субстратом СОД є активна форма кисню, так званий супероксиданіон, що під дією ферменту перетворюється на менш сильний окисник — перекис водню. Він є субстратом іншого ферменту — каталази, що відновлює перекис до води. Таким чином, відбувається пряме знешкодження активних форм кисню, що запобігає ушкодженню ними тканин організму [4].

Еномеланін і пектин — відомі антиоксиданти. Їхня захисна дія при ураженнях СО і NO₂ вивчена, але в літературі



відсутні дані про вплив даних сполук на каталазу і СОД [5].

Тому вивчення впливу обраних токсикантів на ферменти, що є важливими факторами адаптації до шкідливих умов навколишнього середовища, а також пошук речовин, здатних коригувати ці зміни, — актуальна проблема сучасної екологічної токсикології.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводили на безпородних білих мишах-самцях масою 14–18 г. Для вивчення дії NO₂ і створення моделі СО-гіпоксії використовували динамічні отруєння експериментальних тварин. Концентрації NO₂ і СО у камері визначали стандартними хімічними методами [6]. Тривалість експозиції при дії NO₂ дорівнювала 60 хв, а концентрація газу в камері була 600–800 мг/м³. За цих умов 60–80 % експериментальних тварин гинули. Тривалість експозиції при дії чадного газу становила 10 хв при концентрації 19 000 мг/м³, що викликало загибель 60–80 % експериментальних тварин.

Вивчалися антиокиснювальні властивості еномеланіну — природного поліфенольного комплексу, виділеного зі шкірки темних сортів винограду і бурякового пектину.

Усі вивчені речовини вводили однократно, внутрішньочеревинно за 20 хв до інтоксикації.

Активність каталази і СОД визначали методом [7].

Статистичну обробку результатів проводили методом середньої арифметичної і її середньої квадратичної помилки за критерієм Стьюдента [8].

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті експерименту було встановлено, що при дії на експериментальних тварин діоксиду азоту активність ка-

талази знижувалася на 27,5 %. Уведення еномеланіну різко підвищувало активність каталази, і вона перевищувала таку в інтактній групі на 57,5 %.

Уведення пектину так само сприяло різкому відновленню активності каталази, і вона була на 54,5 % вищою, ніж у інтактній групі (табл. 1).

При вивченні СОД фіксували аналогічні зміни. При інтоксикації діоксидом азоту її активність знижувалася на 30,7 %. Еномеланін відновлював дефіцит, і активність ферменту зростала на 25,2 % порівняно з отруювальним контролем. Однак порівняно з інтактною групою вона залишалася на 11,8 % нижчою.

При профілактичному введенні пектину реєстрували відновлення активності СОД практично до значень інтактною групи.

Обробка тварин чадним газом викликала падіння активності каталази на 43,7 % (табл. 2).

І еномеланін, і пектин при такому ураженні виявляли свої антиоксидантні властивості і відновлювали активність фер-

менту. При введенні еномеланіну вона перевищувала контрольні дані практично на 20 %, а при введенні пектину — на 18,6 %.

Статистично вірогідних змін активності СОД при дії чадного газу не реєстрували.

Під впливом окисного стресу різко зростає проникність мембранних структур мітохондрій, саркоплазматичного ретикулула і лізосом шляхом зміни властивостей ліпідів. Крім того, у нормі окисидантна система необхідна для дезінтоксикації екзогенних і ендогенних оксидантів, а в умовах гіпоксії активація антиоксидантної системи веде до наростання вираженості окиснювального стресу з вторинним ушкодженням мембран. Унаслідок енергодефіциту знижується активність ферментів антиоксидантного захисту: СОД (відновлення кисню до перекису водню), каталази (відновлення перекису водню до води) [9].

У такий спосіб активація окиснювально-відновних процесів, з одного боку, забезпечує кисневий обмін і високий

Таблиця 1

Вплив еномеланіну і пектину на активність супероксиддисмутази і каталази при ушкодженні діоксидом азоту, M±m; n=10

Варіант	Активність СОД, од/мг білка	Активність каталази, од/мг білка
Інтакт	1,86±0,07	16,70±2,90
NO ₂	1,31±0,05	12,10±1,30
NO ₂ +еномеланін	1,64±0,05	26,30±1,00*
NO ₂ +пектин	1,8±0,6*	25,80±3,00*

Примітка. В табл. 1, 2: * — вірогідність розбіжностей порівняно з контролем при P≤0,05.

Таблиця 2

Вплив еномеланіну і пектину на активність супероксиддисмутази і каталази при ушкодженні чадним газом, M±m; n=10

Варіант	Активність СОД, од/мг білка	Активність каталази, од/мг білка
Інтакт	1,86±0,07	16,70±2,90
СО	1,80±0,05	9,40±1,50
СО+еномеланін	2,00±0,10	20,00±1,50*
СО+пектин	2,10±0,09	19,80±2,00*



субстратний потенціал, а з іншого боку — ефективну утилізацію недоокиснених субстратів і мобілізацію їх в окиснювальних процесах, що веде до високої інтенсивності окиснювально-відновних реакцій, до синтезу макроергічних інтермедіаторів і активності анаболічного обміну, що, власне, і підтримує високу ефективність ферментативного антиоксидантного захисту [10].

Фенольні сполуки з двома і більше гідроксильними групами в бензольному ядрі в орто-, пара- або метаположенні відрізняються великою різноманітністю хімічних властивостей і біологічної активності. Ці класи фенольних сполук у фізіологічних умовах утворюють буферну окиснювально-відновну систему.

Антиоксидантні властивості фенолів пов'язані з наявністю в їхній структурі слабких фенольних гідроксильних груп, що легко віддають свій атом водню при взаємодії з вільними радикалами. В цьому ви-

падку феноли виступають у ролі пасток вільних радикалів, перетворюючись на малоактивні фенокисьні радикали.

Виходячи з отриманих під час дослідження результатів, можна стверджувати, що вивчені БАС виявляють виражені антиоксидантні властивості при ураженні діоксидом азоту і чадним газом. З огляду на вкрай низьку токсичність еномеланіну і пектину, вони можуть бути запропоновані для подальшого скринінгу з метою створення лікарських форм.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Галкин Б. Н.* Фармакологическая коррекция токсического действия диоксида азота: Дис. ... канд. биол. наук. — Одесса, 1995.

2. *Барина И. Е.* Фармакологическая коррекция гемической гипоксии аргинином, ацетилцистеином и эномеланином: Дис. ... канд. биол. наук. — Одесса, 1997.

3. *Лукьянова Л. Д.* Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюлл.

эксп. биол. и медицины. — 1997. — Т. 124, № 9. — С. 244-254.

4. *Jaite M., Emilio de J., Inmaculada S.* Oxygen-induced mitochondrial damage and aging // Free radicals and aging / Eds. J. Emerit, B. Chance. — Basel: Birkhauser, 1992. — P. 47-57.

5. *Волков Н. И., Хоронюк С. Л.* Применение антиоксидантов полифенольного ряда для коррекции тканевой гипоксии при мышечной деятельности. Антигипоксантаы и актопротекторы. Итоги и перспективы. — СПб., 1994. — С. 180.

6. *Другов Ю. С., Баликов А. П.* Методы анализа загрязнителей воздуха. — М.: Химия, 1984. — 364 с.

7. *Асатиани В. С.* Ферментные методы анализа. — М.: Наука, 1969. — С. 428-430.

8. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — М.: Высш. школа, 1975. — 320 с.

9. *Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биол. — 1991. — Т. 113, вып. 4. — С. 442-455.

10. *Nakachima M.* Involvement of free radicals in cerebral vascular reperfusion injury evaluated in a transient focal cerebral ischemia model of rats // Free. Radic. Biol. Med. — 1999. — Vol. 26, N 5-6. — P. 722-729.

