

УДК 615.916 : 615.279.038

О.І. Цебржинський

Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка
вул. Остроградського, 2, Полтава, 36003, Україна
tsebrzhinsky@mail.ru

ПОРІВНЯННЯ КОРЕКЦІЙНОЇ ДІЇ ДИФЕНІЛСИЛАНДІОЛУ ТА КОМПЛЕКСУ АНТИОКСИДАНТІВ ПРИ ФТОРИСТІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

У морських свинок гіперфтороз (100 діб щоденно перорально отримували 25 мг NaF на кг маси тіла) корегували або комплексом біоантиоксидантів (α -токоферолу ацетат – 50 мг/кг, аскорбінова кислота – 100 мг/кг, кверцетин – 25 мг/кг; 1 раз на 5 діб, 100 діб) або дифенілсиландіолом (100 днів вводили також per os в щоденній дозі 50 мг/кг маси тіла на добу). Гальмування всмоктування фториду стінками тонкого кишечника (що сприяло зниженню його концентрації у біологічних рідинах та органах) і найбільш високий відсоток виживання тварин (92%) є основними перевагами дифенілсиландіолу проти комплексу біоантиоксидантів. Крім того, істотне значення має тенденція до нормалізації активності цитохромоксидази в усіх досліджених органах, вмісту малонового діальдегіду та його приросту у крові й у печінці, аскорбінової кислоти в мозку, креатину в сечі. Дія комплексу антиоксидантів сприяла посиленню екскреції фториду із сечею, але виживання тварин склало 60%.

Ключові слова: гіперфтороз, комплекс антиоксидантів, дифенілсиландіол.

Вступ. В Україні у деяких районах Полтавської області й Карпат є перевищення у питній воді норми (0,5-1,5 мг/л) вмісту фтору, що сприяє розвитку флюорозу зубів та усього організму. Фториста інтоксикація характеризується спалахом вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО) у крові і ослабленням у крові й органах антиоксидантного захисту (АОЗ) [5, 7, 8].

Проблема зниження надходження фторид-іону в організм актуальна і далека від вирішення. Частково захищають від фторидів введення до раціону сполук бору і солей кальцію та магнію, молочних білкових продуктів [2]. Фторид-іон утворює з іонами кальцію і магнію нерозчинні солі (CaF_2 , MgF_2), із сполуками бору – міцні комплексні сполуки (NaBF_4). Обидва ці варіанти характерні для результатів взаємодії фторидів із сполуками кремнію (Na_2SiF_6 , R_2SiF_2), проте кремнійфтористі сполуки в більшості токсичні. Дифенілсиландіол (ДФСД, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Si}(\text{OH})_2$) – малотоксичний (LD_{50} =

2150 мг/кг) [3], погано розчинний у воді. Ми припустили, що, як і інші кремнієві сполуки, він здатний обмінювати гідроксили на фтор, утворюючи з останнім більш міцний зв'язок. Відомо, що антиоксиданти (АО) оптимально діють в комплексі, оскільки утворюють ланцюг передачі відновлювальних еквівалентів, наприклад, НАДФН → глутатіон → аскорбінова кислота → токоферол, причому в цьому ланцюзі аскорбінова кислота і токоферол є есенціальними нутрієнтами [4]. Припускаємо, що ізольоване введення АО [9] є менш ефективним, ніж комплексне. В умовах швидкого використання АО їх екзогенне надходження може бути підвищене.

Тому метою цієї роботи стало порівняння захисного ефекту дифенілсиландіолу і антиоксидантного комплексу за умов хронічної фтористої інтоксикації.

Об'єкти та методи дослідження. Досліди проведені на морських свинках-самцях середньою масою 250-350 г. Морські свинки обрані як тварини, організм яких (як і людини) не синтезує аскорбінову кислоту. Інтактну групу (умовна норма) склали 20 морських свинок. Контрольну групу (n = 20) склали тварини, яким вводили *per os* терміном 100 діб у щоденній дозі 25 мг фториду натрію на кг маси тіла у вигляді водного розчину. Першу дослідну групу утворили 12 тварин, яким на тлі інтоксикації вводили 1 раз на 5 днів комплекс АО, що включає α -токоферолу ацетат – 50 мг/кг, аскорбінову кислоту – 100 мг/кг, кверцетин – 25 мг / кг. У літературі є відомості про позитивну роль великих доз антиоксидантів при фтористій інтоксикації [2]. Морським свинкам другої дослідної групи (n = 12) на тлі інтоксикації терміном 100 днів вводили *per os* у щоденній дозі 50 мг дифенілсиландіолу (ДФСД) на кг маси тіла.

Досліди проводилися з дотриманням норм біоетики, тварин виводили з експерименту під гексеналовим наркозом. У крові та органах визначали концентрацію фтору [6] та величини показників, які найбільш реагують на вплив фторид-іону: ВРПО, АОЗ, окислювального та ліпідного обмінів [1]. Відзначимо, що концентрація вторинного продукту ВРПО малонового діальдегіду (МДА-0) вказує на рівень пероксидації, а приріст Δ МДА – на рівень АОЗ в обернено пропорційній залежності, зниження активності цитохромоксидази визначає тканинну гіпоксію, креатинурія може бути маркером токоферольної недостатності [2].

Результати та їх обговорення. Виживання тварин до кінця експерименту при флюорозі склало 75%, при корекції комплексом біоантиоксидантів – 60%, при корекції дифенілсиландіолом – 92%. Дифенілсиландіол зменшував у 4 рази інтенсивність всмоктування фториду слизової тонкого кишечника у порівнянні з інтактними та інтоксикованими тваринами. Отримані біохімічні дані репрезентовані у таблиці 1.

Таблиця 1

**Вплив комплексу АО і дифенілсиландіолу
при гіперфторозі**

Показники \ Групи	Інтакт	NaF	NaF + АО	NaF + ДФСД
<i>Сироватка крові</i>				
Фторид, мкмоль/л	36,0 \pm 3,9	83,8 \pm 8,4 p1<0,001	55,7 \pm 2,0 p1,2<0,002	34,7 \pm 5,2 p2<0,001

Церулоплазмін, ЕД	30,8 \pm 1,7	24,4 \pm 2,2 p1<0,02	19,8 \pm 1,6 p1<0,001, p2<0,1	52,3 \pm 6,7 p1,2<0,01
Холестерин, ммоль/л	1,39 \pm 0,1	2,45 \pm 0,14 p1<0,001	1,88 \pm 0,12 p1,2 <0,001	2,02 \pm 0,14 p1<0,001, p2<0,05
Кров				
МДА-0, мкмоль/л	4,0 \pm 0,4	7,5 \pm 1,1 p1<0,01	2,4 \pm 0,2 p1<0,1, p2<0,001	11,7 \pm 0,4 p1,2<0,001
Δ МДА, мкмоль/л	0,8 \pm 0,1	2,0 \pm 0,4 p1<0,01	2,4 \pm 0,1 p1<0,001	1,6 \pm 0,4 p1<0,05
%	20	27	100	14
СОД, ЕД	1,05 \pm 0,09	1,72 \pm 0,12 p1<0,05	0,72 \pm 0,10 p1,2<0,02	0,96 \pm 0,07 p2<0,001
Каталаза, ЕД	2,08 \pm 0,48	0,96 \pm 0,10 p<0,05	1,34 \pm 0,14	1,14 \pm 0,11
GSH-пероксидаза, ЕД	58,0 \pm 12,1	108,0 \pm 16,7 p1<0,05	106,7 \pm 10,6	–
Глюкоза, моль/л	3,44 \pm 0,34	7,67 \pm 0,85 p1<0,001	3,70 \pm 0,32 p2<0,001	–
Печінка				
МДА-0, мкмоль/кг	63,0 \pm 4,7	72,2 \pm 6,3	57,7 \pm 2,9 p2<0,05	74,5 \pm 0,95 p1<0,05
Δ МДА, %	27	47	13	16
АК, ммоль/кг	1,55 \pm 0,24	1,32 \pm 0,15	1,14 \pm 0,46	0,51 \pm 0,10 p2<0,001
ДАК, ммоль/кг	0,87 \pm 0,14	0,76 \pm 0,11	4,11 \pm 0,46 p1,2<0,001	0,24 \pm 0,07 p2<0,002
Цитохромоксидаза, ЕД	0,82 \pm 0,05	0,49 \pm 0,07 p1<0,001	0,31 \pm 0,03 p1<0,001 p2<0,01	0,76 \pm 0,12 p2<0,1
Серце				
АК, ммоль/кг	0,63 \pm 0,09	1,16 \pm 0,16 p1<0,01	0,49 \pm 0,17 p2<0,02	0,79 \pm 0,07 p2<0,1
ДАК, ммоль/кг	0,62 \pm 0,14	0,43 \pm 0,14	2,26 \pm 0,23 p1,2<0,001	0,14 \pm 0,06 p1<0,001 p2<0,1
Цитохромоксидаза, ЕД	1,36 \pm 0,13	1,21 \pm 0,09	0,91 \pm 0,08 p1<0,01 p2<0,02	1,14 \pm 0,07

Головний мозок				
АК, ммоль/кг	1,31±0,37	1,14±0,19	0,78±0,40	0,98±0,21
ДАК, ммоль/кг	0,63±0,11	0,95±0,18	2,66±0,36 p2<0,002	0,22±0,04 p1<0,002 p2<0,001
Цитохромоксидаза, ЕД	1,09±0,05	0,92±0,05 p1<0,05	0,66±0,05 p1<0,001 p2<0,01	1,36±0,07 p1<0,01 p2<0,001
Нирки				
АК, ммоль/кг	1,45±0,34	1,72±0,22	0,62±0,31 p1<0,05 p2<0,02	0,73±0,09 p1<0,1 p2<0,002
ДАК, ммоль/кг	0,36±0,11	0,66±0,15	2,83±0,30 p1,2<0,001	0,26±0,06 p2<0,05
Цитохромоксидаза, ЕД	1,06±0,04	0,88±0,09 p1<0,001	0,72±0,04 p1<0,001 P2<0,1	1,16±0,06 p2<0,02
Фторид, мкмоль/л	20,7±2,3	87,3±9,5 p1<0,001	55,9±9,5 p1<0,001 p2<0,01	16,9±2,0 p2<0,001
Сеча				
Креатин, ммоль/л	0,39±0,06	2,49±0,46 p1<0,001	0,28±0,08 p2<0,001	0,41±0,08 p2<0,001
Фторид, мкмоль/л	33,3±1,7	550±60 p1<0,001	936,8±109,5 p1<0,001 p2<0,002	452,6±52 p1<0,001

Примітка. Порівняння: p1 – з величинами норми, p2 – з величинами контролю; p > 0,1 не вказано.

Скорочення: СОД – супероксиддисмутаза, GSH – глутатіон, АК – аскорбінова кислота, ДАК – дегідроаскорбінова кислота, МДА-0 – ТБК-реагуючі продукти до інкубації проби, ΔМДА – приріст за час інкубації малонового діальдегіду, що утворився після тригодинної інкубації гомогенату органу в залізо-аскорбінатному прооксидантному буферному розчині.

Гіперфтороз викликав гіперглікемію (на 123%) внаслідок активації аденілатциклазної месенджерної системи, гіперхолестеринемію (на 7%), як відповідь на перекисну руйнацію мембран, зниження активності каталази та цитохромоксидази за рахунок заняття фторид-іоном лігандного місця O₂ у йона Fe⁺³. Інгібування активності церулоплазмину пов'язане із заміщенням фторид-іоном лігандного місця O₂ у йона Cu⁺² II типу. Джерелом активних форм кисню, що ініціює ВРПО, при флюорозі є дихальний

вибух нейтрофілів, ініційований крізь кальцієву месенджерну систему [5]. Збільшення активностей GSH-пероксидази і СОД можливо пояснити індукцією їх субстратами на генному рівні. Концентрації аскорбіату і дегідроаскорбіату в органах майже не змінилася, концентрація креатину в сечі збільшилася (у 6,4 рази), що свідчить про нестачу токоферолу в організмі тварин. Оскільки найбільше фториду в крові, то у крові найбільше (у 1,9 рази), ніж в органах, зросла концентрація МДА-0, що свідчить про посилення в ній ВРПО. Збільшення приросту Δ МДА у печінці вказує на зниження антиоксидантного потенціалу. Але в той же час у 16,5 разів збільшилася концентрація фтору в сечі.

Вплив комплексу АО при гіперфторозі виявив:

- незмінність активності глутатіонпероксидази;
- нормалізацію концентрацій МДА-0 в печінці та креатину в сечі;
- проміжні між нормою та патологією величини вмісту фториду, холестерину в сироватці крові, фториду нирок, активності каталази крові;
- зниження нижче значень норми та контролю на інтоксикацію активностей церулоплазміну сироватки крові, СОД крові, цитохромоксидази печінки, серця, нирок, мозку, концентрацій МДА-0 крові, аскорбінази нирок;
- підвищення вище значень норми та інтоксикації концентрацій фториду в сечі (у 1,7 рази проти величин норми та у 28 разів проти величин контролю), дегідроаскорбіату у складі печінки, серця, нирок, Δ МДА крові.

Вплив дифенілсиландіолу при гіперфторозі виявив:

- незмінність концентрацій фториду у сироватці крові, аскорбінази в серці та мозку, креатину в сечі, активності СОД у крові;
- нормалізацію концентрації фториду у сечі;
- проміжні між нормою та патологією величини концентрації холестерину в сироватці крові, активності каталази крові та цитохромоксидази печінки та серця;
- зниження нижче значень норми та контролю на інтоксикацію приросту МДА крові та печінки після інкубації, концентрацій аскорбінової кислоти в печінці та нирках, дегідроаскорбінової кислоти у печінці, серці, мозку, нирках, фториду в нирках;
- підвищення вище значень норми та інтоксикації виявлено для активностей церулоплазміну сироватки крові, цитохромоксидази мозку, концентрації МДА-0 крові.

Всі зміни при корегуючих впливах при гіперфторозі можуть бути пояснені залишковою кількістю фторид-іону, особливо у крові. Крім того, підвищені дози АО комплексу могли АО ефект перетворити у прооксидантний.

Висновки. Гальмування всмоктування фториду стінками тонкого кишечника (що сприяло зниженню його концентрації у біологічних рідинах та органах) і найбільш високий відсоток виживання тварин є основними перевагами дифенілсиландіолу проти комплексу біоантиоксидантів. Крім того, істотне значення має нормалізація активності цитохромоксидази в усіх досліджених органах, вмісту МДА-0 і Δ МДА у крові, Δ МДА у печінці, АК в мозку, креатину в сечі.

Список використаної літератури:

1. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, О.О. Гейко та ін.]. – Полтава, 1997. – 271 с.
2. Грехова Т.Д. Фтор и его соединения // Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V-VIII групп / Т.Д. Грехова, Б.А. Кацнельсон, В.Я. Русин. – Л. : Химия, 1989. – С. 332–368.
3. Кельман Г.Я. Токсические свойства химикатов – добавок для полимерных материалов / Г.Я. Кельман. – М. : Медицина, 1974. – 144 с.
4. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава, 1992. – С. 120–155.
5. Цебржинский О.И. Воздействие фторид-иона на антиоксидантный статус животных / О.И. Цебржинский // Фтор, проблеми екології, біології, медицини, гігієни : матеріали наук.-практ. конф. – Полтава, 1993. – С. 99–101.
6. Цебржинский О.И. Определение концентрации фторид-иона в тканях / О.И. Цебржинский // Організація токсикологічної допомоги в Україні : тези доповідей наук.-практ. конф. – К., 2002. – С. 65.
7. Barbier O. Molecular mechanisms of fluoride toxicity / Barbier Olivier, Arreola-Mendoza Laura, Raz Del Luz María // Chemico-Biological Interactions. – 2010. – № 188. – P. 319–333.
8. Blayloc Russell L. Excitotoxicity: a possible central mechanism in fluoride neurotoxicity / Russell L. Blayloc // Fluoride. – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 301–314.
9. Varskeviciene L.L. Effect of tokopherol on the production of malondialdehyde in rat tissue homogenates after hypobaric exposure / L.L. Varskeviciene, R.C. Cerniauskiene, P.S. Drybauskas // Len. Physiol. and Biophys. – 1984. – Vol. 3, № 1. – P. 47–53.

Рекомендує до друку О.В. Катрушов
Отримано 26.09.2015

О.И. Цебржинский

Полтавский национальный педагогический университет имени В.Г. Короленко

СРАВНЕНИЕ КОРРЕКЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ ДИФЕНИЛСИЛАНДИОЛА И КОМПЛЕКСА АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ФТОРИСТОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

У морских свинок гиперфтороз (100 суток ежедневно перорально получали 25 мг NaF на кг массы тела) корректировали или комплексом биоантиоксидантов (α -токоферола ацетат – 50 мг/кг, аскорбиновая кислота – 100 мг/кг, кверцетин – 25 мг/кг; 1 раз в 5 суток, 100 суток), или дифенилсиландиолом (100 дней вводили также per os в ежедневной дозе 50 мг/кг в сутки). Торможение всасывания фторида стенками тонкого кишечника (что способствовало снижению его концентрации в биологических жидкостях и органах) и наиболее высокий процент выживаемости животных (92%) являются основными преимуществами дифенилсиландиола по сравнению с комплексом биоантиоксидантов. Кроме того, существенное значение имеет тенденция к нормализации активности цитохромоксидазы во всех исследованных органах, содержания малонового диальдегида и его прироста в крови и в печени, аскорбиновой кислоты в мозге, креатина в моче. Действие комплекса антиоксидантов способствовало усилению экскреции фторида с мочой, но выживание животных составило 60%.

Ключевые слова: гиперфтороз, комплекс антиоксидантов, дифенилсиландиол.

O.I. Tsebrzhynskyy

Poltava V.G. Korolenko National Pedagogical University

COMPARISON EFFECT DIPHENYLSILANDIOL AND ANTIOXIDANT COMPLEX AT INTOXICATION FLUORIDES

Diphenylsilanediol – is low toxic ($LD_{50} = 2150$ mg/kg), poorly water-soluble compound capable to exchange hydroxyl to fluoride and thereby to act as a factor of counteraction fluoride intoxication. The aim of the work was to compare the protective effect of diphenylsilanediol and antioxidant complex under conditions of chronic fluoride intoxication. Experiments was conducted on guinea pigs – animals which organism (like man) not synthesize ascorbic acid. In guinea pigs hiperftoroz (100 days daily orally received 25 mg of NaF per kg body weight) was corrected by the bioantioxidants complex (α -tocopherol acetate 50 mg/kg, ascorbic acid – 100 mg/kg and quercetin – 25 mg/kg one time for 5 days and 100 days) or diphenylsilanediol (100 days and administered daily per os at the dose of 50 mg/kg a day).

Experiments conducted in compliance with bioethics: animals was taken out of the experiment under hexenal anesthesia. In the blood, tissues, urine the fluoride concentrations were determined and the value of indicators that are most responsive to the influence of fluoride ion: non-enzymatic free radical peroxidation biopolymers antioxidant protection, oxidative and lipid metabolism.

It has been established, that inhibition of fluoride absorption of intestinal wall (that helped to reduce its concentration in biological fluids and organs), and the high percentage of animal survival (92%) are the main advantages of diphenylsilanediol as compared with bioantioxidants complex. Furthermore, the tendency is essential to normalize the activity of cytochrome oxidase in all organs examined, malondialdehyde content and its increase in the blood and liver, ascorbic acid in the brain, creatine in urine. The action of the complex of antioxidants helped to increase the excretion of urine fluoride on animal survival was 60%.

Key words: *hyperftoroz, antioxidant complex, diphenylsilanediol.*