

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 615.9: 615099: 543.395

Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Епишина Т.М., Мухина Е.А.

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ПАВ НА ОСНОВЕ РАПСОВОГО МАСЛА

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи Московской обл.

Введение. Изучение характера реакций перекисного окисления липидов, а также состояния антиоксидантной системы, регулирующей их течение в условиях действия на организм химических продуктов, является важным этапом исследований. Данных о развитии окислительного стресса при воздействии пестицидов недостаточно, причём это касается, прежде всего, исследований активности антиоксидантных ферментов.

Цель исследования – провести экспериментальную оценку влияния поверхностно активного вещества (ПАВ) на основе рапсового масла на антиоксидантный статус белых крыс-самцов при его многократном пероральном поступлении в организм лабораторных животных в течение шести месяцев в дозах 0,5; 5,0 и 50,0 мг/кг массы тела (м. т.) (по д. в.).

Материал и методы. Исследования по определению ферментативных показателей системы антиоксидантной защиты организма (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) выполнены на биохимическом анализаторе «ChemWell» (Awareness Technology, США) с использованием диагностических наборов реактивов производства «Randox Laboratories Ltd» (Англия). Активность каталазы определяли колориметрическим методом.

Результаты. Установлено, что при длительном действии ПАВ на теплокровные организмы возникают изменения активности антиоксидантных ферментов в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т.

Обсуждение. Исследуемое вещество, применяемое в дозе 0,5 мг/кг м.т., не оказывает ингибирующего действия на антиоксидантный статус организма. Применение ПАВ на основе рапсового масла в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т. оказывает отрицательное воздействие на антиоксидантный статус организма крыс-самцов.

Выводы. ПАВ на основе рапсового масла в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т. оказывает отрицательное воздействие на антиоксидантный статус организма крыс-самцов, что вероятно, связано с высоким содержанием в рапсовом масле эруковой кислоты и глюкозинолатов.

Ключевые слова: ПАВ; рапсовое масло; антиоксиданты; супероксиддисмутазы; глутатионпероксидазы; глутатионредуктаза; каталаза; лабораторные животные; пероральное введение; токсичность.

Для цитирования: Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Епишина Т.М., Мухина Е.А. Оценка антиоксидантного статуса организма крыс при хроническом пероральном введении ПАВ на основе рапсового масла. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(6): 498-500. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-498-500>

Для корреспонденции: Ракитский Валерий Николаевич, доктор мед. наук, проф., академик РАН, и.о. директора ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. E-mail: pesticidi@yandex.ru

Rakitskii V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M., Mukhina E.A.

THE ASSESSMENT OF THE ANTIOXIDANT STATUS OF THE ORGANISM OF RATS UNDER THE CHRONIC INTAKE OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES BASED ON THE RAPE OIL

F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Mytitschi, 141014, Russian Federation

Introduction. The study of the character of reactions of lipid peroxidation, as well as the state of the antioxidant system regulating their course under the conditions of the action of chemical products on the body, is an important stage of investigations. There is not enough data on the development of oxidative stress in cells exposed to pesticides, and this concerns, first of all, studies of the activity of antioxidant enzymes.

The aim of the study is to execute the experimental assessment of the influence of a surface active substances (SAS) on the basis of the rape oil on antioxidant status of white male rats during its multiple peroral intakes for 6 months in doses of 0.5, 5.0 and 50.0 mg/kg body weight (on a.s.).

Material and methods. Studies on the determination of enzymatic indices of the body's antioxidant defense system (superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase) were performed on a ChemWell biochemical analyzer (Awareness Technology, USA) with the use of diagnostic reagent kits by Randox Laboratories Ltd (England). The catalase activity was determined by the colorimetric method.

Results. Under the prolonged action of surfactants on warm-blooded organisms, changes in the activity of antioxidant enzymes were established to occur in doses of 5,0 and 50,0 mg/kg b.m.

Discussion. The test substance used in a dose of 0.5 mg/kg bm does not have an inhibitory effect on the antioxidant status of the organism. The use of a surfactant based on rapeseed oil at doses of 5.0 and 50.0 mg/kg mt has a negative effect on the antioxidant status of an organism of male rats.

Conclusion. Surfactants based on rapeseed oil in doses of 5.0 and 500 mg/kg b.m. have a negative effect on the antioxidant status of an organism of male rats, which is probably due to the high content of erucic acid and glucosinolates in rapeseed oil.

Key words: surfactant; rapeseed oil; antioxidants; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; glutathione reductase; catalase; laboratory animals; oral administration; toxicity

For citation: Rakitskii V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M., Mukhina E.A. The assessment of the antioxidant status of the organism of rats under the chronic intake of surface-active substances based on the rape oil. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(6): 498-500. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-498-500>

For correspondence: Valery N. Rakitskii, MD, Ph.D., DSci., professor, Academician of the RAS Acting director of the F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Mytitschi, 141014, Russian Federation. E-mail: pesticidi@yandex.ru

Information about authors:

Rakitsky V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-65074>; Chkhvirkiya E.G., <http://orcid.org/0000-0003-4543-73644>; Epishina T.M., <http://orcid.org/0000-0003-0331-0701>; Mukhina E.A., <http://orcid.org/0000-0003-4544-8792>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: 15 March 2018

Accepted: 24 April 2018

Введение

Одним из важных приёмов повышения урожайности сельскохозяйственных культур является регламентированная борьба с сорной растительностью с использованием химического метода, основанного на применении гербицидов [1–6].

В промышленности пестицидов используются также поверхностно активные вещества (ПАВ), которые уменьшают поверхностное натяжение воды, что приводит к получению более стойких эмульсий гербицидов и улучшению смачиваемости растений [7, 8]. При поступлении в организм ПАВ они вызывают развитие биологических эффектов, связанных с их активным взаимодействием с липидами (особенно клеточных мембран) [9–11]. На молекулярном уровне механизм действия ПАВ осуществляется путём связывания гидрофильного радикала молекулы ПАВ с липидами биологической мембраны, в результате чего мембрана диссоциирует на смесь комплексов «липид-ПАВ», «белок-липид-ПАВ» и образуется комплекс «белок-ПАВ». Это приводит к нарушению клеточного метаболизма, проницаемости мембран и, как следствие, к гибели клетки [12, 13]. По данным современной литературы, белковые и липидные компоненты клеточных мембран, а также циркулирующие в крови липопротеидные частицы, являются наиболее доступным субстратом при окислительном стрессе [14, 15].

В развитии окислительного стресса ведущую роль отводят активным формам кислорода (АФК), обладающим высокой реакционной способностью и вызывающим повреждение клеточных и внеклеточных структур. Однако АФК, как и продукты липидной пероксидации, могут выполнять в организме человека двойную роль: с одной стороны, при неконтролируемом течении процессов перекисного окисления они могут вызывать развитие окислительного стресса, а с другой стороны, – обеспечивают регуляцию ряда важнейших физиологических процессов: участвуют в метаболизме белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот; участвуют в обезвреживании ксенобиотиков; обеспечивают фагоцитарную активность клеток [16–23]. Поэтому изучение характера реакций перекисного окисления липидов, а также состояния антиоксидантной системы, регулирующей их течение в условиях действия на организм химических продуктов, является важным этапом исследований.

Данных о развитии окислительного стресса при воздействии пестицидов недостаточно, причём это касается, прежде всего, исследований активности антиоксидантных ферментов.

Отсутствие данных о характере биологического действия ПАВ на основе рапсового масла на антиоксидантную систему теплокровных при длительном введении послужило основанием для проведения настоящих исследований.

Цель исследования – изучить влияние ПАВ на основе рапсового масла на антиоксидантный статус белых крыс-самцов при его многократном пероральном поступлении в организм животных в течение шести месяцев.

Для достижения поставленной цели определялась активность ферментативных антиоксидантов в организме белых крыс-самцов при многократном пероральном воздействии (6 месяцев) ПАВ на основе рапсового масла в дозах 0,5; 5,0 и 50,0 мг/кг массы тела (м. т.)

Материал и методы

Исследования выполнены в соответствии с «Методическими указаниями по гигиенической оценке новых пестицидов» [4, 24] и согласно утверждённому Стандартным операционным процедурам. Хронический эксперимент проводился на 40 белых крысах-самцах, масса тела которых перед началом опыта была 200–235 г. Животные были разделены на 4 группы (по 10 животных в каждой группе). В опытных группах испытывали действие ПАВ в дозах 0,5; 5,0 и 50,0 мг/кг м. т., четвертая группа служила контролем. Животные на протяжении шести месяцев 5 раз в неделю получали ПАВ с кормом. Крысы контрольной группы получали корм без вещества. В динамике опыта проводили наблюдение за состоянием и поведением животных, потреблением воды и пищи, фиксировали сроки гибели животных [25–27].

Исследования по определению ферментативных показателей системы антиоксидантной защиты организма (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) выполняли на биохимическом анализаторе «Chem Well» (Awareness

Technology, США) с использованием диагностических наборов реактивов производства «Randox Laboratories Ltd» (Англия).

Активность каталазы определяли колориметрическим методом [28]. Ее активность рассчитывали по формуле:

$$E = (A_{хол} - A_{оп}) \cdot V \cdot t \cdot K,$$

где E – активность каталазы (мкат/л); $A_{хол}$ и $A_{оп}$ – экстинкция холостой и опытной проб; V – (0,1 мл) объём вносимой пробы; t – время инкубации; K – коэффициент миллимолярной экстинкции окрашенного комплекса перекиси водорода с молибдатом аммония ($22,2 \cdot 10^3 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Результаты исследований обработаны статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

Изучение хронического действия ПАВ на основе рапсового масла проведено на 40 крысах-самцах. Испытывали действие доз 0,5; 5,0 и 50,0 мг/кг м. т.

В динамике исследований изменений в поведении животных, потреблении воды и пищи, а также гибели животных в контрольной и опытных группах не зарегистрировано.

При многократном (в течение шести месяцев) пероральном введении исследуемого ПАВ животным в дозе 0,5 мг/кг м. т. во все сроки исследования (1, 3 и 6 мес) изменений по всем изученным ферментативным антиоксидантам не выявлено (по сравнению с животными контрольной группы). Статистически достоверные изменения изученных показателей выявлены у животных опытных групп, получавших соединение в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т.

Через 1 месяц после начала воздействия изучаемого соединения в крови подопытных животных выявлено статистически достоверное снижение активности каталазы в дозе 50,0 мг/кг м. т. ($p < 0,05$).

Через 3 месяца после начала воздействия выявлены следующие статистически достоверные изменения изученных показателей:

- в дозе 5,0 мг/кг м. т. – снижение активности глутатионредуктазы ($p < 0,05$);
- в дозе 50,0 мг/кг м.т. – снижение активности глутатионредуктазы и увеличение активности супероксиддисмутазы (СОД) ($p < 0,05$).

После шести месяцев в дозе 50,0 мг/кг м. т. в крови подопытных животных отмечалось статистически достоверное снижение активности глутатионредуктазы и каталазы ($p < 0,05$).

Таким образом, при изучении хронического действия ПАВ на основе рапсового масла установлено, что многократное (в течение шести месяцев) пероральное введение вещества не вызывает статистически достоверных изменений активности ферментативных антиоксидантов (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы и каталазы) в дозе 0,5 мг/кг м. т. Вещество, применяемое в указанной дозе, не оказывает ингибирующего действия на антиоксидантный статус организма. Применение ПАВ на основе рапсового масла в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т. оказывает отрицательное воздействие на антиоксидантный статус организма крыс-самцов.

Выводы

1. В результате проведённых исследований по оценке влияния изученного ПАВ на активность ферментативных антиоксидантов в крови белых крыс-самцов установлено, что при многократном пероральном поступлении в организм теплокровных ПАВ вызывает статистически достоверные изменения активности глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы и каталазы и не оказывает влияние на изменение активности глутатионпероксидазы.
2. Длительное многократное поступление ПАВ в организм опытных животных в дозе 0,5 мг/кг м. т. не вызывает статистически достоверных изменений изученных показателей и, следовательно, не оказывает ингибирующего действия на антиоксидантный статус организма теплокровных.
3. Многократное поступление ПАВ в организм опытных животных в дозах 5,0 и 50,0 мг/кг м. т. вызывает статистически достоверное снижение активности глутатионредуктазы через

3 месяца воздействия; в дозе 50 мг/кг м. т. отмечено снижение активности каталазы через 1 и 6 месяцев, глутатионредуктазы через 3 и 6 месяцев, увеличение активности супероксиддисмутазы (СОД) через 3 месяца. Следовательно, ПАВ в этих дозах оказывает отрицательное воздействие на антиоксидантный статус организма крыс-самцов, что вероятно, связано с высоким содержанием в рапсовом масле эруковой кислоты и глюкозинолатов.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование не имеет финансовой поддержки.

Литература (пп. 4, 6, 22, 23 см. References)

1. Ракитский В.Н. *Новая гигиеническая классификация пестицидов. Защита растений*. М. 2000(3): 6.
2. *Гигиенические нормативы пестицидов в объектах окружающей среды*, ГН 1.2.2701-10.
3. *Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации*. М. 2010.
4. Куликова Н.А., Лебедева Г.Ф. *Гербициды и экологические аспекты их применения: Учебное пособие*. М: ЛИБРОКОМ, 2010:152.
5. Мельников Н.Н. Новожилов К.В. и др. *Справочник по пестицидам*. М.: Химия, 1985: 352.
6. Волощенко О.И., Мудрый И.В. *Гигиеническое значение поверхностно-активных веществ*, Киев, «Здоровье», 1991: 104-30.
7. Храпова Н.Г. *О зависимости природных и синтетических антиоксидантов. Биоантиоксиданты в регуляции метаболизма в норме и патологии*. М. 1982.:59-73.
8. Храпова Н.Г. Перикисное окисление липидов и системы, регулирующие его интенсивность Храпова Н.Г. *Биохимия липидов и их роль в обмене веществ*. М., Наука. 1998: 147-55.
9. Ленинджер А. *Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клеток*. Издательство «Мир», Москва.1976: 975.
10. Владимиров Ю. А., Азизова О.А., Деев О.А. и др. Свободные радикалы в живых системах. *Итоги науки и техники. ВИНТИ Сер. Биофизика*. 1991; 29.
11. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и биоантиоксиданты. *Вестник РАМН*. 1998; 7: 43-51.
12. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопросы медицинской химии*. 2001; 47 (6): 561-81.
13. Клебанов Г.И., Теселкин Б.О., Бабенкова И.В. Антиоксидантная активность сыворотки крови. *Вестник РАМН*. 1999 (2): 15-22.
14. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Про оксиданты и антиоксиданты*. М., «Слово», 2006: 576.
15. Пьявель Л.И., Любинская Л.А. Структура – пестицидная активность – токсичность производных сульфонилмочевин. *Актуальные вопросы токсикологии, гигиены применения пестицидов и полимерных материалов в народном хозяйстве*. Киев. 1991: 40.
16. Журавлев А. И., Пантюшенко В.Т. Свободнорадикальная патология и методы ее профилактики биоантиоксидантами. *Сельскохозяйственная биология. Сер. Биология животных*. 1989(2):17-24.
17. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. *Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. Рекомендации*. СПб., 2000.
18. Клинский Ю.Д. Структура, свойства, биологическая регуляция глутатионпероксидазы. Клинский Ю.Д. Колесниченко Л.С. *Успехи современной биологии*. 1999; 113. Вып. 1.:107-23.
19. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем. *Успехи соврем. естествознания*. 2006(7): 37-41.
20. *Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов*. Киев. 1988: 210.
21. Рылова М.Л. *Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте*. Л., Медицина.1964:227.
22. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. *Лабораторные методы исследований в клинике: Справочник*. Под ред. В.В. Меньшикова. М. Медицина. 1987: 368.
23. Калб В.Г., Камышников В.С. *Клиническая биохимия: Пособие для врачей-лаборантов*. Минск. Беларусь.1976: 311.
24. Королук М.А., Иванова Л.И., Майоров И.Г. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*.1988;(1):16-8.
25. Ноткин Е.Л. *Статистика в гигиенических исследованиях*. М. 1986: 965.
26. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности. *Фармакология и токсикология*. 1962; (1): 111-9.

References

1. Rakitsky V.N. *New hygienic classification of pesticides. Protection of plants*. 2000 (3): 6.
2. Rakitsky V.N. New hygienic classification of pesticides. *Protection of plants*. 2000(3). 6:2. Hygienic standards of pesticides in environmental objects, GN 1.2.2701-10.
3. *State catalog of pesticides and agrochemicals allowed for use on the territory of the Russian Federation*. Moscow, 2010.
4. Potapov A., Rakitski V., Nikolaeva N. New Russian toxicological-hygienic classification of pesticides. *Toxicology Letters*. September. 2005; 158. suppl. 1: 136.
5. Kulikova N.A., Lebedeva G.F. *Herbicides and ecological aspects of their use: Textbook*. Moscow: Librokom, 2010: 152.
6. *Pesticide Chemistry. Crop protection, Public health, Environmental safety*. Ed. by Ohkawaa H., Miyagawa H., Lee P.W. Verlag. WILEY-VCH, 2007: 497.
7. Melnikov N.N. Novozhilov K.V. and others. *Reference book on pesticides*. Moscow: Chemistry, 1985: 352.
8. Voloshchenko O.I., Mudryi I.V. *Hygienic value of surface-active substances*. Kiev, "Health", 1991: 104-30.
9. Khrapova N.G. On the Dependence of Natural and Synthetic Antioxidants. Khrapova N.G. *Bianthioxidants in the regulation of metabolism in the norm and pathology*. Moscow 1982.:59-73.
10. Khrapova N.G. Peroxide oxidation of lipids and systems regulating its intensity. *Biochemistry of lipids and their role in the metabolism*. Moscow, Nauka, 1998:147-155.
11. Leningrader A. *Biochemistry. Molecular basis of structure and function of cells*. Publishing house "Mir", Moscow.1976-5.
12. Vladimirov Yu. A., Azizova O.A., Deev O.A. Free radicals in living systems. *Itogi Nauki i Tekhniki*. VINITI. Biophysics. 1991; 29.
13. Vladimirov Yu.A. Free radicals and bioantioxidants. *Vestnik RAMN*. 1998; 7: 43-51.
14. Dubinina E.E. The role of active forms of oxygen as signal molecules in the metabolism of tissues under conditions of oxidative stress. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 2001; 47(6): 561-81.
15. Klebanov GI, Teselkin BO, Babenkova I.V. Antioxidant activity of blood serum. *Vestnik RAMN*. 1999; (2): 15-22.
16. Menshikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar I.A., Krugovykh N.F., Trufakin V.A. *Oxidative stress. About oxidants and antioxidants*. Moscow: "The Word", 2006: 576.
17. Povyakel L.L., Lyubinskaya L.A. Structure - pesticidal activity - toxicity of derivatives of sulfonylureas. *Actual issues of toxicology, hygiene of the use of pesticides and polymeric materials in the national economy*. Kiev. 1991: 40.
18. Zhuravlev A.I., Pantyushenko V.T. Free radical pathology and methods of its prevention by bioantioxidants. *Sel'skokhozyajstvennaya biologiya. Biologiya zhivotnykh*. 1989(2):17-24.
19. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. *Methods for assessing free radical oxidation and the body's antioxidant system: Method. Recommendations*. St. Petersburg., 2000.
20. Klinsky Yu.D. Structure, properties, biological regulation of glutathione peroxidase. Klinsky Yu.D. Kolesnichenko L.S. *Uspekhi sovremennoj biologii*. 1999; 113. Issue 1:107-23.
21. Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Bizenkova M.N. General characteristics of the sources of formation of free radicals and antioxidant systems. *Uspekhi sovrem. estestvoznaniya*. 2006(7): 37-41.
22. Bidluck W.R. Damage of microsomal membrane by lipid peroxidation. Bidluck W.R. Tappel A.L. *Lipid*.1973.8(3):177-82.
23. Guidi G. The enzyme glutathione peroxidase in arachidonic acid metabolism of human platelets. Guidi G., Schiavon R, Biasioli A. E. A. *J. Lab. Gin. Med*.1984;104: 574-82.
24. *Guidelines for the hygienic assessment of new pesticides*. Kiev. 1988; 210.
25. Rylova M.L. *Methods for investigating the chronic effects of environmental hazards in an experiment*. L., Medicine.1964: 227.
26. Menshikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.P. etc. Laboratory methods of research in the clinic: Handbook. V.V. Menshikov. Moscow. Medicine. 1987: 368.
27. *Clinical biochemistry: Manual for laboratory doctors*. V.G. Kalb, V.S. Kamyshnikov. Minsk. Belarus.1976:311.
28. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorov I.G. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoe delo*. 1988 (1): 16-8.
29. Notkin E.L. *Statistics in the field of hygiene*. Moscow. 1986; 965.
30. Prozorovskiy V.B. Use of the method of least squares for probit analysis of the curves of lethality. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1962; (1): 111-9.