

УДК 504.054: 577.121.7:577.16

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ РЕДОКС-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ И ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ЛЮДЕЙ И ЖИВОТНЫХ

**Чеснокова Л.А.¹, Кузьмичева Н.А.¹, Боев В.М.¹, Красиков С.И.¹, Михайлова И.В.¹,
Воронкова И.П.¹**

¹ ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет МЗ России», Оренбург, Россия, e-mail: k_chemistry@orgma.ru

Изучали зависимость микроэлементного состава биосред организма (волосы) от их количественного содержания в окружающей среде (вода, снег, почва) на территории агропромышленного региона, обусловленного естественными и техногенными причинами. Установили максимальный уровень прооксидантной нагрузки, создаваемый элементами с переменными степенями окисления, в питьевой воде и депонирующих средах на территории Центральной и Восточной зон региона, что создает повышенный риск усиленной генерации свободных радикалов в организме, сопровождающийся снижением уровня витаминов-антиоксидантов и угнетением активности ферментов антиоксидантной защиты. Экспериментальные исследования, проведенные на крысах линии Вистар, по изучению изолированного действия нетоксичных концентраций ионов железа (II) и хрома (VI) в питьевой воде, подтверждают их способность вызывать умеренный окислительный стресс в условиях хронического воздействия.

Ключевые слова: микроэлементы, окружающая среда, волосы, витамины, окислительный стресс, антиоксиданты, эксперимент, крысы.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE CONTENT OF REDOX-ACTIVE SUBSTANCES IN THE ENVIRONMENT AND THE DEGREE OF OXIDATIVE STRESS IN HUMANS AND ANIMALS

**Chesnokova L.A.¹, Kuzmicheva N.A.¹, Boev V.M.¹, Krasikov S.I.¹, Mikhaylova I.V.¹,
Voronkova I.P.¹**

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia, e-mail: k_chemistry@orgma.ru

Studied the dependence of the elemental composition of the body (hair) on their quantitative content in the environment (water, snow, soil) on the territory of the agroindustrial region, due to natural and anthropogenic causes. Set a maximum level of prooxidant load generated by elements with variable degree of oxidation in drinking water and depositing environments in the Central and Eastern zones of the region, creating an increased risk of enhanced generation of free radicals in the body, accompanied by decreased levels of antioxidant vitamins and inhibition of activity of antioxidant enzymes. Experimental study in Wistar rats, to study the isolated action of nontoxic concentrations of ions of iron (II) and chromium (VI) in drinking water, confirm their ability to cause mild oxidative stress in conditions of chronic exposure.

Keywords: trace elements, environment, hair, vitamins, oxidative stress, antioxidants, the experiment, the rats.

Актуальность изучения эффектов металлических загрязнений определяется как их распространенностью, так и различными механизмами воздействия на организм. Исследования последних десятилетий показали способность редокс-активных металлов генерировать реактивные радикалы в биологических системах, что может вызывать окислительный стресс. Известно, что металл-зависимая генерация свободных радикалов вызывает окислительную модификацию ДНК, ведет к усилению процессов липопероксидации. Металлы, не обладающие окислительно-восстановительной активностью, проявляют токсические эффекты с помощью других механизмов, в частности,

за счет связывания тиольных групп белков и пептидов, в том числе глутатиона, что ведет к его истощению с последующей активацией свободно радикальных процессов [1].

Проведенными ранее исследованиями [2,3] на территории Оренбургской области показано наличие биогеохимической провинции с повышенным содержанием хрома, кобальта, марганца, никеля, и других элементов, определено их природное или антропогенное происхождение. Исходя из сказанного, представляется актуальным изучение взаимосвязи между содержанием металлов в объектах окружающей среды и их накоплением в организме проживающего в данных территориях населения, а также выраженностью окислительного стресса под влиянием тяжелых металлов у животных в эксперименте, что и явилось **целью** данного исследования.

Объектом исследования является агропромышленный регион (Оренбургская область), разделенный на 3 территориально-экономические зоны – Западную, Центральную и Восточную, характеризующиеся неравнозначным содержанием Ni, Cr, Co, V, Cu, Zn, Mn, Sr, Fe, Pb, Cd в питьевой воде, в почве и снежном покрове. Для оценки степени накопления перечисленных выше элементов определяли их содержание в волосах студентов 1-го курса ОрГМУ (17-18 лет), постоянно проживающих в течение последних 3-х лет в различных зонах области. Обследованные разделены на 3 группы, подобранные по принципу «копия-пара» и сопоставимые по полу и возрасту. Исключались больные сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом, заболеваниями печени. Содержание 25-и элементов определяли в АНО «Центр биотической медицины» под руководством А.В. Скального (г. Москва, аккредитация Госстандарта России – Рос. RU0001-513118 от 29.05.2003 г.) с использованием методов атомно-эмиссионной спектromетрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой и масс-спектриметрии (МУ 4.1.1482-03). Показатели элементограмм сравнивали со средними значениями содержания элементов в волосах, полученными в популяционных исследованиях в регионах России [4]. Проксидантная нагрузка (Евода, Еснег) оценивалась как произведение концентрации элементов (мкмоль/л) на величину стандартного электродного потенциала (В/моль).

Экспериментальные исследования выполнены на 120-и взрослых крысах-самцах линии Вистар массой 250-300 г. Животные были разделены на группы и содержались на стандартном пищевом рационе. Животные контрольной группы потребляли бутилированную воду, животным экспериментальной группы на протяжении 45-и суток в питьевую воду добавляли Fe^{2+} из расчета 0,5 ПДК. Животные второй экспериментальной группы с питьевой водой получали Cr^{6+} из расчёта 1 ПДК [5]. По окончании эксперимента животных под эфирным наркозом декапитировали в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными. В лизатах эритроцитов определяли

активность супероксиддисмутазы (СОД) по скорости аутоокисления адреналина в адренохром, активность каталазы кинетическим методом прямой регистрации разложения пероксида водорода на спектрофотометре Genesys 5 (США) [6,7]. Интенсивность процессов липопероксидации определяли по уровню диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и тканях печени и селезенки [8,9]. Состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по интенсивности спонтанной и Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции [10]. Результаты статистически обработаны с использованием t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни.

Результаты: Изучение микроэлементного состава снежного покрова по среднегодовым данным показало многократное превышение фоновых значений по большинству элементов в Восточной зоне с высоким суммарным показателем ($Z_c=142,56$), с низким ($Z_c=49,34$) в Западной зоне и средним ($Z_c=115,53$) в Центральной зоне. Максимальное превышение относительно кларка почв установлено также в Восточной зоне, где уровень загрязнения определен как средний ($Z_c= 19,46$), в Западной и Центральной зонах – низкий (Z_c соответственно 14,29 и 13,40).

Однотипный микроэлементный состав депонирующих сред свидетельствует о сформировавшейся техногенной провинции, приуроченной к промышленным центрам центра и востока региона с высоким содержанием Cu, Zn, Ni, Pb, Co, Mn, Cr. В питьевой воде по химическому составу превышений уровня ПДК не наблюдалось, однако отмечено повышенное содержание железа, близкое к уровню ПДК (0,3 мг/л), в Восточной зоне.

Далее проведено сравнение содержания ряда элементов в почве городских и сельских территорий для установления их возможного происхождения. Так, в почве городских территорий достоверно выше содержание Pb, что обусловлено антропогенным загрязнением. Также в почве городов несколько выше содержание Ni, Cr, Co относительно сельских территорий. Следует отметить, что содержание большинства загрязнителей в снеговом покрове и почве имеет определенную сопоставимость.

На востоке регионе высокое содержание Ni, Co, Cr, Pb в почве сопряжено с загрязнением снегового покрова и свидетельствует преимущественно об антропогенном влиянии. В Западной зоне наличие высокого содержания хрома в почве при его фоновом уровне в снеговом покрове говорит о его природном происхождении, усиленном действием техногенных факторов.

По литературным данным, элементный состав биосред организма соответствует их уровню в окружающей среде [2], вследствие чего исследование биосубстратов достаточно информативно для изучения обмена элементов и их токсического воздействия. Сравнение с референтными значениями (табл. 1) демонстрирует повышенные концентрации в волосах

Cu и Ni на всей территории, Mn и Zn в Западной и Центральной зонах. Обращает внимание, что содержание селена значительно ниже нормального уровня на всей территории, особенно в Восточной зоне, при этом его выраженный дефицит отмечен у 81% обследуемых, у остальных содержание элемента соответствовало нижней границе нормы. Так же, несмотря на повышенное содержание некоторых элементов в депонирующих средах, в частности хрома, кобальта и цинка, в волосах жителей их уровни не превышают референтный уровень.

Таблица 1

Микроэлементный состав волосяного покрова (мкг/г) и показатели прооксидантной (Е, мкмоль.В/л) и суммарной (Кмет) нагрузки элементов с переменной степенью окисления

	Западная зона (n=12)	Центральная зона (n=12)	Восточная зона (n=12)	Референтные значения (А.В. Скальный, 2003)
Co	0,021±0,004***	0,027±0,006***	0,035±0,006***	0,02-0,11
Cr	0,357±0,058***	0,541±0,114***	0,4015±0,090	0,26-0,70
Cu	13,053±0,913	13,745±1,590	16,515±2,871	8-12
Fe	17,968±1,769	20,345±2,771	12,702±0,997	13-27
I	1,049±0,389	0,826±0,125***	0,603±0,180	0,27-4,2
Mn	0,981±0,201	1,122±0,241***	0,784±0,171***	0,32-0,93
V	0,102±0,039	0,025±0,085	0,071±0,015	-
Zn	191,964±15,894	209,100±18,242	150,905±14,896	94-183
Ni	0,625±0,114	0,666±0,164	0,661±0,139***	0,15-0,55
Se	0,162±0,041	0,196±0,038	0,116±0,026	0,65-2,43
Евода	6,281±0,548**	4,902±0,369***	9,193±0,776***	
Еснег	339,07±26,14	875,20±45,18	1351,21±98,14**	
Кмет	34,33	37,48	47,94	
	1	2	3	

Примечание:

* t > 2,0; p < 0,05
 ** t > 2,6; p < 0,01
 *** t > 3,2; p < 0,001

Зоны сравнения:

1 – Западная зона – Центральная зона
 2 – Центральная зона – Восточная зона
 3 – Восточная зона – Западная зона

Для характеристики возможного прооксидантного влияния на организм элементов с переменными степенями окисления рассчитаны показатели Евода и Еснег с максимальными значениями на востоке, повышенный суммарный показатель Кмет организма установлен у жителей Восточной зоны (табл. 2).

Таким образом, проведенные нами исследования показали неравномерное количественное содержание микроэлементов в воде и депонирующих средах (снег, почва) на территории агропромышленного региона с повышенным содержанием в Восточной зоне и

минимальным – в Западной зоне, обусловленное естественными и техногенными причинами. Другим результатом можно считать неравнозначное содержание элементов в биосубстратах (волосы), отражающее как их фоновое содержание в окружающей среде, так и техногенные воздействия. Установлены различные уровни прооксидантной нагрузки в воде и снеге, обусловленной содержанием редокс-элементов, что создает риск возникновения окислительного стресса в организме. Далее оценивали витаминную обеспеченность проживающих на данных территориях детей [11].

Таблица 2

Содержание витамина С в моче и витаминов А и Е в сыворотке крови детей (M±m)

Показатель	Референтные величины		Восточная зона	Центральная зона	Западная зона	Достоверность различий
			1	2	3	
Витамин А, мкг/мл	0,3-0,7 мкг/мл	M±m	0,21±0,01	0,39±0,02	0,38±0,02	$p_{1-2} < 0,05$
		N	23%	35%	39%	$p_{1-3} < 0,05$
		< N	51%	46%	29%	$p_{2-3} > 0,05$
Витамин Е, мкг/мл	8-12 мкг/мл		6,32±0,44	8,11±0,56	8,00±0,56	$p_{1-2} < 0,05$
		N	19%	29%	25%	$p_{1-3} < 0,05$
		< N	48%	40%	37%	$p_{2-3} > 0,05$
Аскорбиновая кислота, мг/час	0,7-1,2 мг/час		0,36±0,03	0,50±0,04	0,47±0,03	$p_{1-2} < 0,05$
		N	7%	13,5%	16,7%	$p_{1-3} < 0,05$
		< N	93%	85%	90,2%	$p_{2-3} > 0,05$

Примечание: N – содержание в пределах нормы; < N – содержание ниже нормы.

Показан максимальный процент детей со сниженным уровнем витаминов – антиоксидантов в Восточной зоне (табл. 2) с более интенсивным уровнем прооксидантной нагрузки. Известно несколько механизмов, посредством которых значительная прооксидантная нагрузка может служить причиной витаминной недостаточности. Во-первых, суперпродукция активированных кислородных метаболитов в таких условиях является причиной избыточного расхода витаминов Е, А, и С с выраженным антиоксидантным действием в отношении алкокси-, перокси- и NO-радикалов, синглетного кислорода, и т.д. Во-вторых, интенсификация процессов ПОЛ может опосредованно приводить к снижению содержания витаминов за счет нарушения их биорегенерации в результате истощения запасов коантиоксидантов, способствующих восстановлению радикальных форм витаминов в молекулярные. В итоге недостаток основного антиоксиданта – витамина Е, возможно, реализуется через дефицит аскорбиновой кислоты.

Для подтверждения способности металлов с переменными степенями окисления к прооксидантному воздействию при низко дозированном хроническом поступлении проведена серия модельных экспериментов на животных. Изучение выраженности процессов

липопероксидации у крыс под хроническим воздействием нетоксичной концентрации железа (II) в питьевой воде (табл. 3) показало повышение на 45% уровня светосуммы медленной вспышки, характеризующей максимальную интенсивность ПОЛ, индуцированного ионами Fe²⁺, отмечен рост МДА и ДК в сыворотке крови на 14% и 18%, МДА и ДК в печени на 17% и 15% соответственно, сопровождающееся снижением активности ферментов антиоксидантной защиты СОД и каталазы на 37% и 47% соответственно.

Таблица 3

Показатели интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке и тканях крыс, $M \pm m$

Показатель	1 группа – контроль n = 24	2 группа – железо (II) n = 26	Достоверность различий
Группы сравнения	1	2	
Светосумма, у.е.	0,99±0,147	1,46±0,185	0,01<P ₁₋₂ <0,05
МДА сыв. мкмоль/л	181,54±35,731	206,75±50,512	P ₁₋₂ >0,05
МДА печень мкмоль/л	0,355±0,057	0,416±0,048	P ₁₋₂ >0,05
ДК сыв. мкмоль/л	456,111±3,011	537,500±57,590	P ₁₋₂ >0,05
ДК печень ед.опт.пл	0,475±0,105	0,545±0,090	P ₁₋₂ >0,05
СОД, у.е./гНв	257,0±26,192	157,81±9,031	P ₁₋₂ < 0,01
Каталаза, у.е./гНв	200,77±28,489	131,11±9,202	0,01<P ₁₋₂ <0,05

Воздействие хрома приводило к активации процессов ПОЛ на фоне подавления активности антиокислительных ферментов, что выражалось в падении активности каталазы и СОД эритроцитов крови и двухкратном нарастании концентрации МДА в гомогенатах печени и селезенки экспериментальных животных (табл. 4). Уровень светосуммы при употреблении Cr⁶⁺ был почти в 2,5 раза выше по сравнению с интактными животными.

Таблица 4

Влияние хрома на интенсивность образования ДК (ед.опт.пл./мг белка) и МДА (нмоль/мг белка) и активность ферментов СОД и каталазы (Усл.ед./гНв) у крыс

Группы	Ферменты		Селезенка		Печень	
	СОД	Каталаза	ДК	МДА	ДК	МДА
1 группа-контроль	226,68±25,58	257,40±8,49	0,39±0,01	1,33±0,09	0,40±0,02	3,73±0,53
2 группа-	189,01±9,86	218,68±3,75	0,34±0,01	2,26±0,40	0,36±0,01	8,28±1,71

хром						
------	--	--	--	--	--	--

Примечание: жирным – от уровня контроля ($p < 0,05$).

Результаты проведенной работы показали определенную зависимость микроэлементного состава биосред организма (волосы) от их количественного содержания в окружающей среде, обусловленного как естественными, так и техногенными причинами, что особенно выражено на территории Восточной и Центральной зон со сложившейся биогеохимической провинцией. Установленный здесь максимальный уровень прооксидантной нагрузки в воде и снеговом покрове создает риск возникновения окислительного стресса, что может способствовать снижению уровня витаминов-антиоксидантов у жителей.

Рассмотренные в экспериментальных исследованиях эффекты изолированного действия ионов металлов переменной валентности железа и хрома в питьевой воде показали их способность умеренно активировать свободно радикальное окисление в дозах, не превышающих уровень ПДК.

Таким образом, в условиях полиэлементного воздействия необходимо учитывать не только их концентрации в объектах окружающей среды, но также способность реализовать свое присутствие в организме с помощью различных механизмов, учитывать вероятное потенцирующее действие в условиях совместного поступления, а также возможные эффекты при наличии экотоксикантов другого происхождения.

Список литературы

1. Боев, В.М. Микроэлементы и доказательная медицина.- М.: Медицина, 2005. - 208с.
2. Некоторые показатели витаминного и антиоксидантного статуса жителей региона Л.А. Чеснокова, Н.А. Кузьмичева, С.И. Красиков, И.В. Михайлова // Здоровье населения и среда обитания. №б. 2013. с.9 - 11.
3. Сирота, Т.В. Новый подход к исследованию аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. // Вопросы медицинской химии. – 1999. - №3. – С.56-58.
4. Скальный, А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО «Центр биотической медицины») // Микроэлементы в медицине. - 2003.- Т.4, вып. 1.- С. 55-56.
5. Чеснокова, Л.А. Экологическая характеристика качественного и количественного микроэлементного состава факторов среды обитания агропромышленного региона: Автореф. дис. канд. биол. наук. - Оренбург, 2004.-24с.

6. Placer Z. Lip. Peroxidation sisteme in biologischen material // Nahrung. – 1968. - P.679.
7. Valko, M. Metal, toxicity and oxidative stress / M.Valko, H.Morris, M.T.D.Cronin // Current medical chemistry. – 2005. Vol.12. – P.1161-1208.
8. Zuck, H. In Methods of enzymatic analysis. Ed by Bergmeger H., Pergamon Press. – 1963. - P. 885 - 894.

Рецензенты:

Соловых Г.Н., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологии ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Оренбург;

Рябинина З.Н., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой ботаники и физиологии растений ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет», г. Оренбург.