

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ХАРЬКОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

На правах рукописи

БАГМУТ ИРИНА ЮРЬЕВНА

УДК 616 - 092.9 - 008.9 - 07 + 615.27] 620.266.1

**СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ
МЕХАНИЗМЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ОЛИГОЭФИРОВ
И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ ИХ РАННЕЙ
ДИАГНОСТИКИ И КОРРЕКЦИИ**

14.03.04 - патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Клименко Николай Алексеевич
доктор медицинских наук, профессор

Харьков – 2015

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----|
| ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ | 6 |
| ВВЕДЕНИЕ | 9 |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ..... | 18 |
| 1.1. Типовые патофизиологические реакции механизмов развития повреждающего действия на организм ксенобиотиков..... | 18 |
| 1.2. Современные представления о механизмах формирования адаптации и развитии порочных кругов – дезадаптации под влиянием ксенобиотиков..... | 47 |
| 1.3. Особенности биологической активности олигоэфиров и прогностическая оценка их потенциальной опасности..... | 59 |
| ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 79 |
| 2.1. Обоснование выбора объектов и направления исследования..... | 79 |
| 2.2. Постановка экспериментов и методы исследования..... | 83 |
| 2.3. Исследование воздействия разных доз олигоэфиров на белковые и липидные компоненты клеточных мембран | 89 |
| 2.4. Исследование длительного влияния олигоэфиров на процессы ПОЛ, СРО, АОС в мембранах клеток организма животных | 91 |
| 2.5. Комплексная оценка обменных показателей организма животных при длительном воздействии разных доз олигоэфиров | 94 |
| 2.6. Исследование состояния детоксикации организма животных под влиянием олигоэфиров..... | 98 |
| 2.7. Роль регуляторных систем организма животных в структурно-метаболических процессах повреждающего действия олигоэфиров | 103 |
| 2.8. Интеграция биохимических коррелят, отражающих структурно-метаболические повреждения организма животных под влиянием олигоэфиров | 107 |

| | |
|---|-----|
| 2.9. Коррекция структурно-метаболических нарушений организма животных под длительным влиянием олигоэфиров | 110 |
| ГЛАВА 3. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СУБТОКСИЧЕСКОМ ВЛИЯНИИ ОЛИГОЭФИРОВ..... | 113 |
| 3.1. Состояние физико-химических и структурно-метаболических свойств биологических мембран в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров..... | 113 |
| 3.2. Влияние олигоэфиров на состояние системно-антисистемного взаимодействия свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, белков и антиоксидантной системы..... | 122 |
| 3.3. Изучение состояния мониторинговых показателей белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеотидного видов обмена в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров..... | 132 |
| 3.4. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на гидроксиглизирующую монооксигеназную систему микросом гепатоцитов, процессы дезаминирования. | 152 |
| 3.5. Состояние обезвреживающей функции печени экспериментальных животных в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров..... | 157 |
| 3.6. Оценка NO – синтазной окислительной системы и декарбоксилазной активности организма..... | 167 |
| 3.7. Содержание макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функции митохондрий гепатоцитов под влиянием субтоксических доз олигоэфиров..... | 170 |
| 3.8. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на обмен витаминов и кофакторную функцию..... | 187 |
| 3.9. Состояние обмена соединительной ткани в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров..... | 196 |

| | |
|--|-----|
| ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ОЛИГОЭФИРОВ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ.... | 200 |
| 4.1. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на обмен аминокислот как ферментативных и нейромедиаторных составляющих метаболизма и деятельности ЦНС..... | 201 |
| 4.2. Содержания биогенных моноаминов и их предшественников и процессы окислительного дезаминирования под влиянием субтоксических доз олигоэфиров..... | 210 |
| 4.3. Состояние циклазного медиаторного каскада под влиянием субтоксических доз олигоэфиров..... | 213 |
| 4.4. Влияние олигоэфиров на параметры рецепторного связывания и систему нейромедиаторной активности..... | 224 |
| ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО ОБМЕНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ОЛИГОЭФИРОВ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ..... | 233 |
| 5.1. Содержание гормонов центральных органов эндокринной системы – под влиянием олигоэфиров в субтоксических дозах..... | 233 |
| 5.2. Содержание гормонов периферических эндокринных желез, под влиянием субтоксических доз олигоэфиров..... | 239 |
| 5.3. Влияние олигоэфиров на динамику тканевых гормонов в субтоксических дозах..... | 246 |
| ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ ОЛИГОЭФИРОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ КООПЕРАТИВНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА..... | 254 |
| 6.1. Влияние олигоэфиров на функциональную активность и сопряженность взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета.... | 254 |
| ГЛАВА 7. ОБОСНОВАНИЕ КРИТЕРИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОЦЕНКИ ИНТЕГРАТИВНЫХ СИСТЕМ ОЦЕНКИ И КОНТРОЛЯ ГОМЕОСТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО СУБТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОЛИГОЭФИРОВ | 263 |

| | |
|--|-----|
| ГЛАВА 8. РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СУБТОКСИЧЕСКОМ ВЛИЯНИИ ОЛИГОЭФИРОВ..... | 302 |
| ГЛАВА 9. АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 315 |
| ВЫВОДЫ | 353 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... | 358 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ..... | 360 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ..... | 387 |

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

| | | | | |
|-----------|---|--------------------------------|---|--------------------------------|
| АДФ | - | аденозиндифосфорная кислота | | |
| АКТГ | - | адренкортикотропный гормон | | |
| АлАТ | - | аланиновая аминотрансфераза | | |
| АОС | - | антиоксидантная система | | |
| АсАТ | - | аспарагиновая аминотрансфераза | | |
| АТФ | - | аденозинтрифосфорная кислота | | |
| АФК | - | активные формы кислорода | | |
| АЦ | - | аденилатциклаза | | |
| БХЛ | - | биохемилюминисценция | | |
| ГАМК | - | гамма-аминомасляная кислота | | |
| ГП | - | глутатионпероксидаза | | |
| ГТ | - | глутатионтрансферазы | | |
| ГР | - | глутатионредуктаза | | |
| ГК | - | гексокиназа | | |
| Г-6-ФДГ | - | глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа | | |
| ГЦ | - | гуанилатциклаза | | |
| 2,4-ДНФАГ | - | карбонилированный белок | – | 2,4-динитрофенил-альдогидразон |
| 2,4-ДНФКГ | - | 2,4-динитрофенил-кетогидразон | | |
| ДОФА | - | дигидроксифинилаланин | | |
| ДК | - | диеновые конъюгаты | | |
| ДНК | - | дезоксирибонуклеиновая кислота | | |
| КФК | - | креатинфосфокиназа | | |
| КоА | - | коэнзим А | | |
| ЛДГ | - | лактадегидрогеназа | | |
| ЛФХ | - | лизолфосфатидилхолин | | |

| | | |
|---------------------|---|--|
| МАО | - | моноаминооксидаза |
| МАО-В | - | тромбоцитарная моноаминооксидаза |
| МОС | - | монооксигеназная система |
| МДА | - | малоновый диальдегид |
| МДГ | - | малатдегидрогеназа |
| НАД·Н | - | никотинамидадениндинуклеотид |
| НАДФ·Н | | никотинамидадениндинуклеотидфосфат |
| НАДФ·Н ₂ | - | восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат |
| | | |
| 5-ОИУК | - | 5 – оксиндолуксусная кислота |
| ПАВ | - | поверхностно-активные вещества |
| ПГ | - | простагландин |
| ПОЛ | - | перекисное окисление липидов |
| ПНЖК | - | полиненасыщенные жирные кислоты |
| РНК | - | рибонуклеиновая кислота |
| СДГ | - | сукцинатдегидрогеназа |
| СОД | - | супероксиддисмутаза |
| СРО | - | свободнорадикальное окисление |
| СРП | - | свободнорадикальные процессы |
| СТГ | - | соматотропный гормон |
| ТДО | - | триптофан-2,3-диоксигеназа |
| ТТГ | - | тиреотропный гормон |
| ФДЭ | - | фосфодиэстераза |
| ФНО | - | фактор некроза опухоли |
| ФС | - | фосфатидилсерин |
| ФФК | - | фосфофруктокиназа |
| ФХ | - | фосфатидилхолин |
| цАМФ | - | циклический 3',5'-аденозинмонофосфат |
| цГМФ | - | циклический 3',5'-гуанозинмонофосфат |

| | |
|------|----------------------------------|
| ЦНС | - центральная нервная система |
| IL | - интерлейкин |
| CD3 | - Т-лимфоциты общие |
| CD4 | - Т-лимфоциты хелперы |
| CD8 | - Т-лимфоциты супрессоры/киллеры |
| CD16 | - NK-киллеры |
| CD20 | - В-лимфоциты |
| Ig A | - иммуноглобулин класса А |
| Ig D | - иммуноглобулин класса D |
| Ig E | - иммуноглобулин класса E |
| Ig G | - иммуноглобулин класса G |
| Ig M | - иммуноглобулин класса M |
| SH | - сульфгидрильные группы |
| γ-ГТ | - гамма-глутаматтрансфераза |

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем патологической физиологии является патогенное действие на организм факторов окружающей среды, в том числе химических, и, соответственно, изменения в организме при интоксикации, её патогенез и обоснование на этом основании принципов и методов ранней диагностики и коррекции [139, 219].

Ежегодно химическая промышленность всего мира создает почти 1000 новых синтетических соединений. К примеру, в США в настоящее время используется около 80 000 наименований химикатов. Однако только 600 из них прошли экспериментальную проверку на предмет воздействия на здоровье человека. В то же время многие из используемых химических веществ поступают в окружающую среду как промышленные продукты или отходы хозяйствования. В Украине в народном хозяйстве и на предприятиях промышленного сектора используется около 70 000 наименований химикатов.

Сказанное делает чрезвычайно актуальной задачу изучения влияния уже используемых, но ранее не исследованных, и новых химических соединений на организм [11, 29, 49, 69, 72, 83, 85, 89, 338].

К настоящему времени практически не изучена группа олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена, и отсутствуют сведения об эффектах и механизмах их биологического действия [43, 54, 55, 66, 140, 152, 163]. В то же время олигоэфиры являются детергентами, которые могут отрицательно влиять на организм человека, что, в условиях неконтролируемого использования химических соединений, может вызвать нарушение здоровья, тяжелые патологические явления, вплоть до летального исхода [114, 152, 158, 197, 283, 314, 338]. Олигоэфиры имеют широкое применение в различных отраслях промышленности. Их используют, в частности, для получения различных автотехнических жидкостей (гидравлических и тормозных), изготовления

искусственных кож, пенопластов, термопластов, пластмасс, эпоксидных смол, полиуретанов, эмалей, лаков [10, 25, 35, 80, 155, 169, 258, 265]. Большие объемы производства этой продукции, а также массовое применение товаров на основе олигоэфиров в быту могут отражаться на здоровье больших контингентов работников, занятых в производстве, и населения. Кроме того, значительная часть соединений вместе с промышленными отходами поступает в окружающую среду и может изменять, таким образом, экологические условия существования людей [25, 33, 35, 37, 48, 55, 58, 65, 81, 93, 104, 146, 161, 279].

Влияние химических веществ на организм зависит от их способности проникать через клеточные и внутриклеточные мембраны. Учитывая, что олигоэфиры, являясь детергентами, обладают выраженными свойствами биологически активных веществ, необходимым является, прежде всего, изучение их влияния на состояние биологических мембран.

Далее важно исследование эффектов химических агентов на свободнорадикальные, оксидантные и антиоксидантные процессы, которые в свою очередь, могут сказываться на состоянии мембран, а также на различные виды обмена веществ. Для выяснения эффектов химических агентов, патогенеза интоксикации необходимо изучение защитно-приспособительных реакций организма, состояния и механизмов функции детоксикации. Выраженность защитно-приспособительных и патологических реакций зависит, прежде всего, от реактивности организма, которая, в первую очередь, определяется функциональным состоянием регуляторных систем – нервной, эндокринной и иммунной. На основании полученных данных возможна разработка принципов ранней диагностики и коррекции возникших нарушений.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационное исследование выполнено в рамках научной проблемы «Патохимия и биохимия обмена веществ, механизмы регуляции и медицинская энзимология» (номер государственной регистрации 0103U004546), научно-исследовательской работы приоритетного финансирования МЗ Украины

«Научное обоснование патохимической модели структурно-метаболических сдвигов в организме под воздействием вредных факторов, как прогностической основы диагностики донозологических состояний» (№ 0199U001763), НИР ХНМУ МЗ Украины «Изучение механизмов биологического действия простых полиэфиров в связи с проблемой охраны окружающей среды», государственный регистрационный номер 0110U001812. Автор выполняла исследования, относящиеся к теме диссертации.

Цель исследования. Выяснение структурно-метаболических нарушений и их механизмов под воздействием олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена на организм, и патогенетическое обоснование принципов их ранней диагностики и коррекции.

Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

1. Определить состояние физико-химических и структурно-метаболических свойств биологических мембран в условиях длительного воздействия олигоэфиров в разных дозах.
2. Исследовать влияние олигоэфиров на состояние свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, белков и антиоксидантной системы.
3. Выяснить состояние белкового, углеводного, липидного, минерального, нуклеинового и витаминного видов обмена в условиях воздействия олигоэфиров на организм.
4. Исследовать состояние гидроксимирующей монооксигеназной системы детоксикации, показатели тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования и биоэнергетического состояния при действии олигоэфиров на организм.
5. Выяснить состояние обезвреживающей функции печени экспериментальных животных в условиях воздействия олигоэфиров на организм.

6. Определить содержание макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функции митохондрий гепатоцитов под влиянием олигоэфиров.

7. Выяснить влияние олигоэфиров на показатели функционального состояния нервной, эндокринной и иммунной систем.

8. Выявить критерияльно значимые показатели изучаемых структурно-метаболических нарушений и их механизмов, которые могут быть использованы для ранней диагностики патогенного действия олигоэфиров на организм.

9. Исследовать влияние нутритивного антирадикального и антиоксидантного комплекса на изучаемые эффекты и механизмы действия олигоэфиров, который может быть использован для коррекции возникших нарушений.

Объект исследования: патогенное действие олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена на организм, ранняя диагностика и коррекция нарушений.

Предмет исследования: структурно-метаболические нарушения и их механизмы, патогенетическое обоснование принципов их ранней диагностики и коррекции.

Методы исследования: патофизиологические, токсикологические, биохимические, спектрофотометрические, хроматографические, хемилюминесцентные, фосфоресцентные, радиоиммунные, радиоизотопные, биофизические, флуоресцентные, иммунологические, иммуноферментные, статистические.

Научная новизна полученных результатов. Впервые получены данные о структурно-метаболических нарушениях и их механизмах при действии на организм новой группы химических соединений – олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена.

Установлено, что олигоэфиры, которые, по результатам токсикологических исследований, являются малотоксичными химическими веществами, относящимися к IV классу токсикологической опасности, при

продолжительном применении (ежедневно в течение 45 суток) вызывают структурно-функциональные изменения биологических мембран, их рецепторного аппарата, активности внутриклеточного медиаторного циклазного каскада. Возникают также нарушения белкового, липидного, углеводного, минерального, нуклеинового, витаминного и энергетического обмена.

При этом в дозе $1/100 LD_{50}$ олигоэфирсы повышают свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов и активность системы антиоксидантной защиты, что свидетельствует об активации защитно-приспособительных реакций организма. В дозе $1/10 LD_{50}$ олигоэфирсы угнетают систему антирадикальной и антиперекисной защиты, способствуют развитию дистрофических и деструктивных процессов на фоне преобладания катаболических процессов над анаболическими синтезами, что указывает на развитие интоксикации.

Показано дозозависимое истощение активности механизмов детоксикации организма под влиянием разных доз олигоэфирсов: тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, гидроксидирующей монооксигеназной системы; дезинтоксикационной функции печени, ее антиоксидантной системы, микросомального окисления, содержания макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функции митохондрий гепатоцитов.

Выявлено угнетение нервной и иммунной систем, дезинтеграция эндокринной системы.

Установлено, что наиболее значимыми показателями обнаруженных структурно-метаболических нарушений, которые могут быть использованы для ранней диагностики патогенного действия олигоэфирсов на организм, являются: активация свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, белков, нуклеиновых кислот; активация антиоксидантной системы при дозе $1/10$ и истощение ее при дозе $1/100$; угнетение биоэнергетики, тканевого

дыхания и окислительного фосфорилирования, которые усугубляют молекулярно-мембранную патологию.

Показано, что под влиянием нутритивного антирадикального и антиоксидантного комплекса снижается выраженность установленных структурно-метаболических нарушений, вызванных олигоэфирами, что свидетельствует о патогенетическом значении свободнорадикальных и оксидативных процессов и возможности использования антиоксидантов в коррекции возникших нарушений.

Практическое значение полученных результатов. Полученные результаты значительно расширяют и углубляют существующие представления о патогенном действии химических факторов на организм и механизмах интоксикации.

Установлены информативные высокочувствительные показатели раннего выявления патогенного действия олигоэфиров.

Показана возможность использования антиоксидантов в коррекции нарушений, возникающих при действии олигоэфиров на организм.

Полученные результаты положены в основу разработки мероприятий по охране здоровья работников производства олигоэфиров и населения: методики изучения уровня эндогенной интоксикации и биоэнергетического гомеостаза; рекомендаций по использованию биофизических методов – биохемилюминисценции и флуоресценции – в мониторинге состояния здоровья населения; программы профилактических и лечебно-оздоровительных мероприятий для рабочих производств ПАВ и СМС (акты внедрения № 1/2, 1/3, 1/4 от 21 февраля 2012); методики определения низкомолекулярных примесей в сточных водах производств полиоксипропиленполиолов (акт внедрения № 1/5 от 21 февраля 2012); гигиенических нормативов в качестве ПДК (акт внедрения № 1/6 от 08.09.2014).

Результаты обоснования механизмов биологического действия олигоэфиров положены в основу разработки 2-х патентов на полезную модель по способам оценки эндогенной интоксикации в эксперименте.

Личный вклад соискателя. Автором определены направление, цель и задачи исследования, проведен патентный поиск, обзор и обобщение современных литературных данных по теме диссертации. Разработана программа исследований, определены и сформированы группы лабораторных животных, проведен эксперимент. Осуществлена статистическая обработка данных, анализ и обобщение результатов исследований, сформулированы выводы и практические рекомендации, написаны все разделы диссертации.

В диссертационной работе использованы собственные научные публикации, в том числе написанные в соавторстве. В диссертационной работе не использовались идеи или разработки, принадлежащие соавторам публикаций.

Апробация результатов диссертации. Основные положения диссертации были представлены на V международной научно-практической конференции «Научные вести - 2009/2010» (Чехия, Прага, 2010); международной научно-практической конференции «Клініко-епідеміологічні аспекти боротьби та профілактики інфекційних і неінфекційних хвороб серед дітей і дорослих» (Харьков, 2010); IX международной научно-практической конференции «Образование и наука 21 века - 2013» (Болгария, София, 2013); международной научно-практической конференции «Достижения высшей школы» (Болгария, София, 2013); IX международной научно-практической конференции «Новости научной мысли» (Чехия, Прага, 2013); IX международной научно-практической конференции «Научная индустрия Европейского континента - 2013» (Чехия, Прага, 2013); IX международной научно-практической конференции «Образование и наука без границ - 2013» (Польша, Пржемысль, 2013); IX международной научно-практической конференции «Перспективы образования в науке и технике - 2013» (Польша,

Пржемысль, 2013); научно-практической конференции «Актуальні проблеми функціональної морфології», посвященной 110-летию со дня рождения Е.Д. Бромберг, в рамках научно-практической конференции с международным участием «Медична наука – в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2014); научно-практической конференции «Напрямки реалізації Європейської стратегії здоров'я 2020 в Україні» (Полтава, 2014); научно-практической конференции «Актуальні питання дерматології, венерології і ВІЛ/СНІД інфекції», посвященной 130-летию кафедры дерматологии, венерологии и СПИДа (Харьков, 2014); научно-практической конференции «Соціальна фармація: стан, проблеми та перспективи» (Харьков, 2014); Всеукраїнській навчально-науковій конференції з міжнародною участю «Досягнення і перспективи впровадження кредитно-модульної системи організації навчального процесу у вищих медичних (фармацевтичному) навчальних закладах України», присвяченій 160-річчю з дня народження І.Я. Горбачевського (Тернопіль, 2014); X международной научно-практической конференции «Дни знаний» (Чехия, Прага, 2014); X международной научно-практической конференции «Научный вестник» (Чехия, Прага, 2014); IX международной научно-практической конференции «Стратегические вопросы мировой науки - 2014» (Польша, Пржемысль, 2014); X международной научно-практической конференции «Ключевые вопросы в современной науке - 2014» (Болгария, София, 2014); на заседании Харьковского научного общества патофизиологов (Харьков, 30 октября 2014 г.); научно-практической конференции «Актуальні питання дерматології, венерології і ВІЛ/СНІД інфекції», (Харьков, 2015).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 56 работ, из них 1 монография, 32 статьи, 2 патента на полезную модель, 21 тезис. Статей в журналах, рекомендованных МОН Украины, – 21, в журналах, входящих в наукометрические базы, – 31, за рубежом – 9.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 9 разделов результатов собственных исследований, анализа и обобщения результатов исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников, 7 приложений. Материалы диссертации изложены на 386 страницах компьютерного текста. Работа иллюстрирована 76 таблицами и 9 рисунками, которые занимают 32 полные страницы. Список использованной литературы составляет 377 источников, из которых 36 – латиницей, занимают 27 страниц.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Типовые патофизиологические реакции механизмов развития повреждающего действия на организм ксенобиотиков

Для понимания структурно-метаболических нарушений и защитно-приспособительных реакций при поступлении в организм ксенобиотиков необходимо опираться на фундаментальные положения о патофизиологических механизмах развития повреждающих эффектов, в том числе при действии химических соединений, постоянно присутствующих в среде обитания человека [5, 33, 34, 35, 37, 59, 92, 103, 118, 128, 130, 219, 220]. К таким механизмам относятся: гипоксия, оксидативный стресс, воспаление, нарушения внутриклеточного метаболизма, мембранная патология: нарушение кооперативного взаимодействия ядерно-цитоплазматических мембран, набухание и деформация мембран, изменение заряда и накопление воды в цитоплазматических мембранах, изменение проницаемости клеточных мембран, нарушение способности избирательно аккумулировать вещества, сохранять осмотическую стабильность и генерировать электрические потенциалы.

При поступлении в биосистему химические вещества способны вызывать сложные патогенетические механизмы в соответствии с особенностями метаболизма каждого из классов соединений и изменять ответные реакции организма на их воздействие. В патогенезе многих хронических заболеваний человека химической этиологии важную роль играют пути проникновения, механизмы частичной или полной детоксикации ксенобиотиков в результате метаболических процессов и выделения их из организма [131, 132, 133, 139, 207, 277, 285]. Структурно-метаболические изменения и их механизмы,

происходящие в организме, во многом зависят от химической активности соединений, их способности проникать через физиолого-биохимические барьеры: рецепторный аппарат, ферментативные системы, структуру и функцию клеточных мембран, изменяя при этом клеточный метаболизм и влияя на интегративные системы оценки и контроля гомеостаза (нервную, эндокринную, иммунную).

Важным параметром химических соединений, который обуславливает проникновение и степень воздействия на биосистему, является растворимость в воде – это способствует патогенетическому воздействию на слизистую оболочку верхних дыхательных путей, трахею и бронхи. В патогенезе обструктивного синдрома верхних дыхательных путей в данном случае выделяют хроническое воспаление, нарушение баланса системы протеолиз-антипротеолиз и оксидативный стресс [3, 37, 49, 201, 307, 308].

Очевидным является факт взаимодействия во влиянии на организм человека комплекса производственных факторов: химических веществ, температуры производственной среды, физической нагрузки, увеличивающих физиологические потребности в кислороде и способствующих усугублению интоксикации ксенобиотиками [12, 32, 33, 37, 41, 45, 48, 54, 82, 197, 226, 253, 348]. Кроме того, в интенсивности и патогенезе хронических заболеваний, вызванных производственным фактором, немалое значение принадлежит способности химических соединений кумулироваться в подкожной клетчатке, парехиматозных органах, костях и вызывать хронические отравления [69, 70, 79, 81, 82, 147, 179, 221, 257, 283, 320].

Некоторые авторы, изучая общие гематологические реакции организма на любые раздражители, выделяют изменения показателей белой крови как результат защитной реакции организма. Ведущая роль принадлежит макрофагально-лимфоцитарной реакции системы крови, которая соответствует тяжести острой интоксикации [64, 76, 101, 102, 145, 186, 256].

Химические вещества, в результате хронического поступления в организм в концентрациях, превышающих предельно допустимые (ПДК), способны, воздействуя на органы кроветворения, вызвать депрессию гемопоэза, нарушение синтеза порфиринов и гема, метгемоглобинемию, гемолитическую анемию [71, 76]

Исследование проблемы регламентации вредных факторов в объектах окружающей среды свидетельствует, что конечным критерием оценки безопасности и безвредности химических, физических и биологических факторов во всех случаях должна быть в первую очередь безопасность их для человека и других биосистем.

В случае действия фенолов цитотоксичность их коррелирует со способностью образования кислородных радикалов, в частности, супероксидного анион-радикала, который ускоряет ПОЛ в микросомах печени, лимфоцитах периферической крови, красном костном мозге. Окислительная биотрансформация ксенобиотиков в МОС микросом, которая является специальной системой биохимической детоксикации, сопровождается образованием АФК и индукцией ПОЛ. Усиление функциональной активности микросомальных монооксигеназ при токсическом стрессе сопровождается увеличением генерации супероксидного анион-радикала, перекиси водорода, гидроксильного радикала и существенной активацией ПОЛ.

Известно, что в электронно-транспортных цепях микросом образование супероксидного радикала осуществляется в основном в НАДФН-цитохром P₄₅₀-зависимой системе гидроксилирования, где этот процесс протекает существенно быстрее, чем в митохондриях. Основное значение в метаболизме чужеродных для организма веществ придается микросомальным ферментам, которые подвергают окислению разнообразные по строению органические неполярные соединения. Ведущим типом реакции обычно является гидроксилирование, которое в упрощенной форме представляется в следующем виде. Восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ•H₂)

превращает кислород в активную молекулярную форму; активированный кислород в присутствии различных гидроксилаз гидроксилирует чужеродное соединение, что является обычно первой фазой реакции, направленной на ускорение элиминации ксенобиотиков из организма. Основной структурно-функциональной единицей, осуществляющей эти процессы, является эндоплазматическая сеть гепатоцитов, а именно ферментная система микросомальной мембраны. При изучении вредного воздействия на организм факторов окружающей и производственной среды, для оценки резервных возможностей и степени устойчивости организма к неблагоприятному воздействию наиболее адекватными являются методы исследования модифицирующего действия химических загрязнителей на уровне микросомальной оксидазной системы с параллельным исследованием возможного неблагоприятного эффекта на уровне мембраноструктурированных ферментов [17, 92, 132, 165, 157, 217, 247].

Известно, что активация СРП сопряжена метаболически с образованием оксида азота (NO), который играет универсальную роль модулятора многих физиологических функций сердечно-сосудистой, центральной нервной, иммунной, мышечной, дыхательной, пищеварительной и других систем организма. NO отвечает за тонус сосудов, межклеточную коммуникацию, модуляцию нейротрансмиссии, уровень иммунной цитотоксичности, секрецию гормонов, медиаторов [203, 212, 271]. Вместе с тем, NO является потенциально токсической молекулой, которая широко представлена при гипертензии, сахарном диабете, новообразованиях, нейродегенеративных процессах, атеросклерозе, циррозе печени, заболеваниях почек и других патологических явлениях. Эта молекула может быть губительной как для клеток, включая раковые, так и для внутриклеточных патогенных микроорганизмов. Установлено, что цитотоксичность NO является результатом образования большого количества этих молекул, которые инициируют апоптоз [228]. Двойственность действия NO проявляется в способности защищать клетки от

апоптозных сигналов и вызывать апоптоз. Будет ли молекула NO обладать цитотоксическими свойствами, зависит от типа клетки, фазы ее развития, биоэлектрического потенциала, локальной концентрации NO и других АФК. Свободный радикал NO в клетках быстро взаимодействует с молекулярным кислородом, супероксидным анион-радикалом кислорода и металлами гемовых и негемовых белков. Вследствие этого в клетке образуются нитрозильные комплексы гемового и негемового железа. Непосредственно с SH-группами белков взаимодействует NO^+ , который образуется из NO после восстановления или взаимодействия с металлами. В результате этого в клетках, при достаточном количестве тиолов, под влиянием NO осуществляется нитрозилирование и изменение активности металлосодержащих белков и белков, которые имеют активные цистеиновые центры [100, 212, 261]. Регуляция активности белков нитрозилированием – один из способов контроля функции белков в клетке. При образовании большого количества NO, он под влиянием NO-синтазы может взаимодействовать с супероксидным анионом, образуя другую активную форму кислорода – пероксинитрит (ONOO^-), который способен вступать в реакцию восстановления с глутатионом и углекислым газом. В этом случае образуется нитрозопероксикарбонат ($\text{ONO}_2\text{CO}_2^-$), который легко вызывает химическую модификацию реактивных остатков тирозина в белках, что сопровождается изменением их активности. Кроме того, токсический пероксинитрит способен неэнзиматически продуцировать гидроксильные токсические радикалы (OH^\cdot), включая таким образом молекулы NO в процесс образования новых АФК. Последние (OH^\cdot , NO^\cdot , $\text{ONOO}^\cdot\text{COO}^-$) обладают свойствами окислять белки и липиды, нарушать структуру биологических мембран. Повышение количества АФК в клетке под влиянием химических соединений может трансформировать эффекты NO из защитных в цитотоксически [100, 166, 217, 261, 263, 273]. Активация свободнорадикальных процессов и ПОЛ отмечается во всех случаях в условиях гипоксического состояния органов и тканей. В соответствии с литературными данными, одним

из существенных источников супероксид-анион радикала и перекиси водорода в ишемизированной ткани является реакция превращения гипоксантина в ксантин и мочевую кислоту с помощью ксантиноксидазы [9, 19, 78, 287]. Важным метаболическим звеном возникновения АФК является и дыхательная электронно-транспортная цепь митохондрий при развитии гипоксических состояний. Усиление СРП отмечается при множестве химических интоксикаций, физическом и биологическом вредном воздействии, и относится к общим неспецифическим реакциям организма на повреждающее действие [18].

Активация свободнорадикальных процессов и ПОЛ выступают как универсальный механизм повреждения мембран и наблюдаются при различных патологических состояниях, действии стресс-факторов различной природы, старении. Продукты СРО и ПОЛ, действуя на мембраны, изменяют вязкость липидного бислоя, приводят к появлению продуктов, которые тушат флуоресценцию, снижают электрическую стабильность, гидрофобный объем и нарушают ионную проницаемость мембран [38, 138, 182, 202, 229, 248, 266]. В современной патофизиологии одна из наиболее важных в то же время одна из наиболее трудных проблем состоит в выяснении механизмов возникновения и развития повреждающего действия вредных факторов на организм. В основе развития многих состояний – старения организма, атеросклероза, рака – лежат нарушения процессов фолдинга (англ. folding - сворачивание) – важнейшего этапа в жизни белковой молекулы, внутреннего метаболизма клеток, их деления, дифференцировки, морфологии и функционирования биологических мембран и энергетического состояния клеток целостного организма.

Сохранение структурной целостности и оптимального функционирования органов, систем и функций обеспечивается совокупностью протекающих энергетических и пластических процессов, а также сложной системой регуляции. В системе регуляторных механизмов, функционирующих на различных уровнях интеграции тканей, органов и организма в целом, основное значение имеют два сопряженных механизма регуляции – надклеточный и

внутриклеточный. Надклеточная регуляция осуществляется нервной системой в тесном взаимодействии с гуморальными факторами. Их единство заключается в том, что трофическое влияние нервной системы на организм, органы и ткани в конечном итоге реализуется с помощью химических веществ, являющихся прямыми посредниками в передаче этих явлений, либо их освобождение контролируется нервной системой. К таким посредникам можно отнести циклические нуклеотиды и простагландины. Вполне возможно, что развитие дистрофических процессов обуславливается именно факторами, обеспечивающими функционирование внутриклеточных механизмов регуляции. Изучение роли регуляторных механизмов различного уровня в развитии структурно-метаболических нарушений может облегчить понимание патофизиологических нарушений и будет способствовать выработке лечебно-оздоровительных и терапевтических мероприятий. При изучении механизмов формирования повреждений серьезного внимания заслуживает вопрос о нарушении баланса катехоламинов в организме. Это обусловлено важной ролью этих гормонов в функционировании различных органов, систем и функций организма и патогенетической связью между дисфункцией симпатoadреналовой системы и возникновением дистрофических и деструктивных явлений. Считается, что повреждающие вредные эффекты химических, физических, биологических факторов во многом связаны с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой нейроэндокринной системы [30, 58, 86, 130, 133, 154, 161, 217, 248].

Изучение биосинтеза белков и нуклеиновых кислот при патологических процессах и заболеваниях, а также при воздействии на организм вредных антропогенных факторов, в том числе химических, представляет значительный интерес, поскольку именно эти процессы в первую очередь характеризуют степень и глубину функциональных нарушений, определяют уровень репаративных процессов в органах и тканях [110, 244, 261, 268, 274, 383, 390, 333]. Появление структурно-метаболических нарушений, по мнению многих

авторов, сопряжено с дисфункцией белкового и нуклеинового обменов в печени, поскольку она является основным органом детоксикации.

Энергообеспечение живой клетки состоит в получении энергии за счет внешних энергетических ресурсов и последующем ее использовании при реализации жизненных функций. Процессы, участвующие в накоплении и использовании энергии, весьма различны по своему назначению и механизму. Их объединение в систему энергообеспечения достигается посредством особых химических веществ, которые можно сравнить с аккумулятором, способным заряжаться от различных генераторов и снабжать энергией множество машин и аппаратов. В клетке роль унифицированного аккумулятора выполняет система аденозиндифосфорных и аденозинтрифосфорных кислот, которая сопряжена с реакциями освобождения энергии и процессами, требующими энергозатрат. Зарядка аденилового «аккумулятора» состоит в соединении АДФ с неорганическим фосфатом, т.е. фосфорилировании аденозиндифосфата, превращающегося в АТФ. Разрядка аккумулятора сопровождается распадом или дефосфорилированием АТФ с образованием АДФ и неорганического фосфата. Нарушение равновесия между синтезом и использованием АТФ приводит к значительным изменениям энергетического обмена и нарушению реакций энергообеспечения. Анализ данных литературы свидетельствует, что в условиях тканевого поражения, независимо от вызывающих причин, дефицит богатых энергией фосфорных соединений (АТФ, креатинфосфата), обусловлен, в основном, снижением интенсивности окислительного ресинтеза АТФ в митохондриях [159, 166, 228, 287]. При этом наблюдается снижение коэффициента фосфорилирования $АТФ/O_2$, дыхательного коэффициента Ларди и активности фермента – митохондриальной H^+ -АТФ-азы. Авторы отмечают, что степень нарушения функционального состояния митохондрий зависит от интенсивности структурно-метаболических повреждений. Наряду со снижением окислительного ресинтеза АТФ в пораженной ткани, уменьшается и образование АТФ гликолитическим путем. Нарушаются не только

энергогенерирующие процессы, но и процессы транспорта энергии, что выражается в значительном снижении активности креатинфосфокиназы – основного фермента в цепи транспорта энергии от мест ее образования к местам использования. Это приводит к значительному дефициту энергии в мышечной ткани [261, 268, 274]. Недостаток энергетического обеспечения снижает функциональную активность организма. Нарушение образования энергии, ее транспорта и утилизации не может не сказаться на функции различных органов и тканей и их морфологических структурах. Как правило, существует прямая зависимость между истощением резерва АТФ и необратимыми повреждениями тканей.

Снижение энергопродукции наблюдается при многих патологических процессах и заболеваниях. Одной из причин может быть разобщение процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях различных тканей, которое сопровождается накоплением в них ионов кальция. Показано, что в условиях гипоксии скорость накопления кальция митохондриями увеличивается, а высвобождение данных ионов значительно снижается [8, 207, 208, 281, 298]. При ишемии в зоне повреждения отмечается снижение скорости Ca^{2+} -зависимого выделения H^+ и скорости окислительного фосфорилирования. Исследование накопления кальция митохондриями и скорости синтеза АТФ показало, что синтез АТФ тормозится эндогенными ионами кальция. Это явление может быть снято добавлением комплексонов, хелатирующих ионы кальция. Увеличение скорости аккумуляции кальция митохондриями объясняют повреждающим действием на мембраны органелл продуктов ПОЛ, образование которых значительно повышается при дистрофических и воспалительных процессах. Известно, что накопление кальция митохондриями является энергозависимым активным процессом, протекающим против градиента концентрации ионов. Поскольку накопление Ca^{2+} митохондриями идет за счет энергии транспорта электронов в дыхательной цепи, то в этом случае, возможно, вся энергия транспорта будет тратиться

главным образом на транспорт кальция, а не на фосфорилирование АДФ, то есть, разобщается дыхание и фосфорилирование. Нарушение основного пути образования энергии, при различного рода поражениях, должно, очевидно, компенсироваться за счет интенсификации других путей, в частности, гликолитического, что наблюдается, например, при ишемии. В обычных физиологических условиях выраженность процесса окислительного фосфорилирования в клетке во многом определяет скорость протекания процессов гликолиза и гликогенолиза, являющихся, хотя и в меньшей степени, поставщиками необходимого количества АТФ. Главным механизмом, приспособляющим скорость гликолиза к интенсивности окислительного фосфорилирования и энергетическим потребностям клетки, является контроль активности ферментов гликолиза и гликогенолиза. Особенно важное значение имеет аллостерическая регуляция активности ферментов гликолиза – ГК, ФФК, пируваткиназы – и гликогенолиза – фосфорилазы, определяющих течение всего процесса в целом. Известно, например, что АТФ и цитрат являются мощными аллостерическими ингибиторами ФФК, активность которой значительно увеличивается под влиянием АДФ, АМФ и неорганического фосфата. Следовательно, уменьшение количества АТФ, как результат разобщения окисления и фосфорилирования и накопления АДФ, АМФ и неорганического фосфата, должно привести к активации фосфофруктокиназной реакции и в целом к усилению превращения углеводов по гликолитическому пути. Клеточные мембраны являются мишенью действия ядов, токсинов, радиоактивного и ультрафиолетового облучения. Кроме того, известно большое количество природных модификаторов мембран, способных в зависимости от условий и их концентрации оказывать различное (иногда противоположное) действие на клеточные мембраны. [15, 31, 36, 49, 60, 62, 77, 85, 96, 281].

Защитно-компенсаторные механизмы при действии ксенобиотиков можно разделить на два типа: один включает механизмы, которые связаны с МОС гепатоцитов и реакциями конъюгации, другой объединяет молекулярные

механизмы, локализованные в ядре, цитозоле, митохондриях, эндоплазматической сети, пероксисомах, лизосомах и направленные на элиминацию метаболитов, их обезвреживание и восстановление нарушенных функций. Особое значение в химической патологии отводится роли свободнорадикальных процессов, генераторами которых в основном являются МОС микросом эндоплазматического ретикулума и дыхательная электронно-транспортная цепь переноса протонов и электронов [32, 33, 34, 44, 48, 84, 90].

Установлено, что источниками супероксид-анион радикала в электронно-транспортных цепях являются КоQ, цитохром В₅. Показано также, что при гипоксии внутренних органов и тканей отмечается нарушение обмена ионов кальция, которое сопровождается активацией фосфолипаз, повышением метаболизма арахидоновой кислоты по циклооксигеназному и липооксигеназному путям на фоне накопления продуктов СРО и ПОЛ. Следует отметить, что при развитии гипоксии ткани способны образовывать хемотаксические вещества пептидной природы, которые вызывают усиление притока нейтрофилов при реоксигенации [166, 274, 278]. Образование АФК в клетках, которые обладают способностью к фагоцитозу – нейтрофилах, моноцитах, макрофагах, – обусловлено хемотаксическими веществами и сопровождается ростом потребления ими кислорода, активацией НАДФН-зависимой ферментативной системы. Повреждение ишемизированной ткани нейтрофилами связано с их способностью генерировать АФК, которые запускают процесс ПОЛ, что, в свою очередь, стимулирует образование хемотаксических веществ, миграцию и активацию клеток. Многими авторами показано накопление в ишемизированной ткани ионов Fe²⁺, выступающих сильными катализаторами ПОЛ. Источником Fe²⁺ являются ферритин и внутриклеточные компартменты, которые содержат железо, – в большей мере это митохондрии. Восстановление Fe³⁺ ферритина при гипоксии осуществляется при помощи восстановленных субстратов – НАДН, НАДФН, глутатиона, аскорбата и кислорода [94, 95, 331]. Исследования свидетельствуют, что

гипоксия, которая возникает при действии токсических веществ, сопровождается усилением секреции гормонов – глюкокортикоидов, минералокортикоидов и катехоламинов. Такая реакция обеспечивает адаптацию организма к действию токсических стресс-факторов и гомеостаз в новых экстремальных условиях обитания. Повышение продукции АФК при возбуждающих воздействиях, в том числе и токсической стресс-реакции, может быть следствием избыточного образования и аутоокисления катехоламинов, которые накапливаются в различных органах и тканях. Генерация супероксид-аниона имеет место, как при биосинтезе адреналина, так и при его окислении в адренохром. В условиях формирования окислительного стресса, независимо от природы потенцирующего фактора, избыточные количества АФК способны окислять гемоглобин в метгемоглобин, нарушать барьерные и матричные функции биомембран, усиливать окислительную модификацию белков, ДНК, РНК, что представляет собой ведущий патогенетический механизм в развитии вторичных структурно-метаболических нарушений [36, 38, 44, 71, 76, 78, 108, 138, 205, 269].

Исследования свидетельствуют, что активация оксидантной системы, на первых этапах воздействия на организм возбуждающих химических, физических, биологических и психоэмоциональных факторов, всегда сопряжена с индукцией АОС и отражает фазу адаптации. Длительное и интенсивное влияние на организм активирующих вредных агентов, приводит к изменению системно-антисистемных кооперативных взаимодействий и дефициту антиоксидантной системы, что проявляется нарушением защитно-приспособительных механизмов и формированием дезадаптации, ведущих к развитию болезни и гибели биосистемы. Этот феномен присущ всем биологическим системам независимо от их уровня структурно-функциональной организации. В связи с вышесказанным, ведущим методологическим приёмом при установлении индекса экологической вредности окружающей среды нами выбран именно принцип системно-антисистемного взаимодействия окси-

дантно-антиоксидантной систем. Для этих целей использовался метод индуцированной биохемилюминисценции сыворотки крови. Учитывая исключительно важную роль окислительно-восстановительных процессов в обеспечении динамического постоянства внутренней среды организма и высокую чувствительность сверхслабого свечения для оценки состояния сопряженности процессов оксидантно-антиоксидантного взаимодействия, нами разработана методика определения экологического индекса вредности. Скоординированное функционирование этих двух систем (оксидантной и антиоксидантной) в условиях многофакторного вредного воздействия на организм и синхронизация метаболических процессов обеспечивают гомеостатическую функцию организма. Системно-антисистемное взаимодействие в условиях вредных антропогенных воздействий предусматривает активацию сопряженных систем, в первую очередь, наиболее чувствительных – оксидативной и антиоксидантной, что характеризуется их активацией и представляет собой фазу адаптации к изменившимся условиям среды обитания. Деадаптация и десинхронизация метаболических процессов, в соответствии с литературными и нашими наблюдениями, всегда отражают ослабление защитных систем, направленных на восстановление утраченных функций организма, и коррелируют со срывом защитно-приспособительных механизмов. Согласованность системно-антисистемных метаболических процессов обеспечивает функциональную надежность биосистем, их адаптацию к меняющимся вредным социально-средовым условиям и характеризует не антагонистические, а кооперативные взаимодействия, направленные на обеспечение гомеостаза. Длительное воздействие физических, химических, биологических факторов, при срыве защитно-приспособительных механизмов, предусматривает антагонистический характер отношений в структурно-метаболических процессах, что многократно подтверждалось на молекулярном, субклеточном, органном, организменном и популяционном уровнях. На молекулярном уровне сопряженность функционирования принципа системно-

антисистемных взаимодействий можно проследить, изучая динамику интенсивности биохемилюминисценции сыворотки крови, цельной крови, мочи, слюны и других биологических объектов. Повреждающее мембранотропное действие свободных радикалов и продуктов ПОЛ реализуется по двум главным направлениям. Первое – нарушение барьерных свойств мембран. Оно рассматривается как острое повреждение, которое приводит к гибели клеток. Наиболее важным последствием ПОЛ в мембранах при этом является повышение проницаемости их для протонов и ионов кальция, потеря мембранной электрической стабильности, которая проявляется снижением потенциала электрического пробоя мембран. Эти изменения могут привести к гибели клеток. Второе – это нарушение физико-химического состояния липидного бислоя мембран, которое рассматривается как «мягкая» их модификация и ведет к развитию хронических патологических состояний. Изменение матричных свойств мембран может быть обусловлено снижением микровязкости липидной фазы, ростом отрицательного заряда, полярности и уменьшением гидрофобного объема [15, 38, 42].

Усиление процессов ПОЛ может быть сопряжено с образованием большого количества свободных радикалов, АФК и других реакционно-свободных молекул – альдегидов, кетонов, эпоксидов, которые могут ковалентно взаимодействовать с отдельными функциональными группами белков и нуклеиновых кислот. Это способно приводить к их полимеризации, разрушению, модификации, изменению активности, конформационных свойств, что неизбежно формирует метаболические нарушения. Возможно развитие отдаленных последствий их влияния – мутагенные, тератогенные и канцерогенные эффекты [261, 273, 274, 287]. Ряд авторов показали важное значение в антирадикальной и антипероксидной защите организма гаптоглобина, глутатиона, серусодержащих аминокислот, свободных сульфгидрильных групп, которые тормозят накопление диеновых конъюгатов, МДА, перекисей, гидроперекисей и свободных радикалов, предотвращая развитие молекулярной

свободнорадикальной патологии. По мнению многих авторов, ведущим этиологическим и патогенетическим звеном в развитии метаболических нарушений выступает активация свободнорадикальных процессов и ПОЛ. Это, прежде всего, относится к сахарному диабету, атеросклерозу, воспалительным заболеваниям [274]. Нарушения в указанном звене метаболизма могут снижать устойчивость организма к воздействию неблагоприятных антропогенных факторов и создавать предпосылки к ускоренному течению заболеваний и старению организма [65, 92, 104, 133, 139, 200].

Характерной и специфической особенностью активации свободнорадикальных процессов и ПОЛ является повреждение биологических мембран, ингибирование АОС, которые сопряжены с развитием дистрофических и деструктивных процессов. Вместе с тем, следует отметить, что активация СРП и ПОЛ является важным звеном анаболических и катаболических процессов в организме в целом. Такие важнейшие процессы, как перенос электронов в дыхательной цепи, окислительное фосфорилирование, ацетилирование, метилирование, гидроксигирование ряда субстратов эндо- и экзогенного происхождения ферментными системами эндоплазматической сети и даже деление клеток, сопровождаются определенными изменениями в интенсивности СРП и ПОЛ. Липидные перекиси являются нормальными и необходимыми продуктами при биосинтезе простагландинов, лейкотриенов, некоторых стероидных гормонов, участвуют в гидроксигировании стерольного кольца холестерина. Вместе с тем, в литературе имеется много данных, свидетельствующих об участии липоперекисей в развитии различных патологических процессов (радиационные поражения, злокачественный рост клеток, отравления токсическими веществами, воспалительные процессы и др.). Результаты многих исследований убедительно показывают, что ксенобиотики активируют ПОЛ, ингибируют АОС, вызывают структурно-метаболические нарушения в различных органах и тканях, формируют развитие мембранной патологии [38, 83, 190, 113, 115, 116, 151].

Биологические мембраны являются неотъемлемой частью любой живой клетки. Помимо таких функций биологических мембран, как отграничение клетки от окружающей среды, разделение внутреннего объема клетки на отдельные компартменты, обеспечение специфики межклеточных контактов и контроль за проникновением в клетку и выходом из нее разнообразных соединений, биологические мембраны способны воспринимать, усиливать и передавать внутрь клетки сигналы из внешней среды, создавать специальные условия для протекания ферментативных реакций, осуществляемых гидрофобными мембранными белками, обеспечивать превращение биологической энергии, осуществлять контроль взаимодействия между отдельными мембранными структурами и т.д.

Эффективное выполнение биологическими мембранами разнообразных функций возможно благодаря их уникальной структуре. В настоящее время имеется большое количество литературы, посвященной описанию принципов организации и функционирования биологических мембран [42, 97, 122, 165]. Ее анализ позволяет заключить, что в основе многих видов патологии лежат изменения свойств клеточных мембран. Структурно-функциональные нарушения биомембран могут быть не только причиной, но и следствием развития патологических процессов. Как правило, при патологии происходит комплексная модификация функций мембран, которая непременно сопровождается структурными изменениями как мембранных липидов (изменением липидного состава мембран, соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, развитием ПОЛ и др.), так и мембранных белков (гликирование, карбонилирование) [151, 318, 319, 328].

Среди причин изменения структуры и функции биомембран при действии токсических факторов важное место занимает нарушение свободно-радикальных реакций ПОЛ [60], приводящее к разрушению мембранных систем, модификации клеточных белков и развитию ряда патологических

состояний. В связи с тесным единством структуры, функции и метаболизма поиск критериально значимых показателей предпатологического состояния организма при действии химических веществ следует проводить, прежде всего, исследуя структурно-функциональное состояние клеточных мембран и механизмов регуляции жизнедеятельности органов-мишеней.

Каждая болезнь имеет свою причину, без которой она не может возникнуть и которая обуславливает признаки, характерные для данной болезни. В качестве причин болезней выступают многочисленные факторы окружающей и внутренней среды организма — патогенные факторы. Один и тот же патогенный фактор может приводить к различным результатам в зависимости от условий, в которых происходит его взаимодействие с организмом.

Как считают авторы, значительное количество химических соединений способно модулировать радиобиологические эффекты, обладает мембранотропным действием, вызывает в организме свободнорадикальную патологию, подавляет гуморальный и клеточный иммунитет, оказывает мутагенное, гонадотропное и эмбриотропное действие [60, 61, 62].

Все большее распространение получают представления о ведущей роли рецепторного аппарата биомембран в регуляции процессов жизнедеятельности и их изменений при экологических воздействиях [261]. При этом особо подчеркивается значение цитоплазматических мембран и их рецепторов, как активных регуляторов внутриклеточного метаболизма через систему вторичных медиаторов, воспринимающих и передающих в клетку сигналы от рецепторного аппарата мембран. Изменения, под действием токсических факторов, структурных компонентов мембран, особенно фосфолипидов, белков, могут служить сигналом для вторичных посредников о необходимости функциональной перестройки клетки. Что касается фосфолипидов, то это связано с представлением о них, как о регуляторах активности мембраносвязанных липидзависимых ферментов [96].

Одним из актуальнейших вопросов исследования патохимических механизмов развития структурно-метаболических нарушений, ведущая роль в которых принадлежит мембранной патологии, является изучение параметров рецепторного связывания и внутриклеточного метаболизма в условиях длительного воздействия на организм субтоксических доз ксенобиотиков. Изучение состояния рецепторного аппарата клеточных структур играет важную роль в понимании механизмов обеспечения гомеостаза, патогенеза различных заболеваний и интоксикаций, оценке гормональной регуляции функций организма. Одним из приоритетных направлений в современной патологической физиологии является исследование длительного воздействия субтоксических доз химических агентов на системы рецептор-медиатор и медиаторной регуляции внутриклеточного метаболизма. Известно, что структурно-функциональное состояние рецепторного аппарата клетки во многом определяется активностью мембраноструктурированного фермента АЦ. Важная роль в процессах внутриклеточного обмена принадлежит и ФДЭ, которая является фактором регуляции уровня ведущих клеточных медиаторов – цАМФ и цГМФ. Повышение уровня цАМФ – наиболее ранний признак стрессовой ситуации в клетке. Поэтому чрезмерная активация системы циклических нуклеотидов нередко ведет к развитию патологических реакций [15, 21, 130, 132, 166, 196, 205, 216, 217, 219, 234, 240].

Следует подчеркнуть, что молекулярные механизмы токсического действия химических веществ включают два взаимосвязанных процесса – повреждающее действие токсинов и компенсация нарушений. Системно-антисистемное взаимодействие в этих метаболических превращениях заключается в активации эрготропной и трофотропной функций организма. Первая направлена на мобилизацию энергетических ресурсов клетки, тогда как вторая – на ускорение восстановительных синтезов и утраченной функции, что свидетельствует об адаптации и мобилизации всех биохимических процессов, направленных на обеспечение гомеостаза. Большая роль в поддержании

гомеостаза и адаптации организма к изменившимся средовым условиям принадлежит циклазному медиаторному каскаду: цАМФ, цГМФ, АЦ, ГЦ, ФДЭ и протеинкиназам, которые отражают состояние внутриклеточного метаболизма. Любой гормон, нейромедиатор, а возможно и химическое вещество, воздействуя на клетку через систему циклических нуклеотидов, способно изменять метаболизм, дифференцировку и пролиферацию тканей, участвовать в обновлении клеток и восстановительных синтезах, что является особенно необходимым при условии хронической токсификации организма. Внутриклеточные цАМФ и цГМФ претерпевают противоположно направленные изменения в ответ на один и тот же стимул, что убедительно свидетельствует о сопряженности процессов системно-антисистемного взаимодействия. Вторичные медиаторы оперативно реагируют на повышение требований, заключающихся в необходимости более интенсивного функционирования органов, систем или всего организма. Когда функция организма стремится к своему пределу, циклические нуклеотиды выступают в качестве звена мобилизации внутренних ресурсов, обеспечивающих перестройку метаболизма и его течение на более интенсивном уровне.

Исследования распределения циклических нуклеотидов и простагландинов в различных областях головного мозга, и их участия в ответных реакциях нервных структур на вредные раздражители, подтвердили особую роль цАМФ, цГМФ и простагландинов в функционировании ЦНС и механизмах нейротрансмиссии [242, 246, 261, 264, 368, 287]. Литературные данные свидетельствуют, что высокое содержание цАМФ и активность АЦ, ФДЭ служат доказательством напряженности обмена циклических нуклеотидов в ЦНС. Наиболее высокая активность системы «цАМФ-аденилатциклаза» обнаруживается в сером веществе коры головного мозга. Отношения между цАМФ и цГМФ в нервной ткани, так же как и в других тканях, в ряде случаев носят характер реципрокности. Примером может служить противоположное влияние цАМФ и цГМФ на биоэлектрическую активность нейронов и участие

циклических нуклеотидов при действии адреналина и ацетилхолина [287, 293, 303, 305]. Важнейшим этапом изучения роли циклических нуклеотидов в регуляции функциональной активности ЦНС было установление факта изменения содержания цАМФ и цГМФ в различных функциональных структурах головного мозга и периферической нервной системы под влиянием адреномиметиков и их антагонистов и, соответственно, холиномиметиков и блокаторов холинореактивных систем. Показано увеличение уровня цАМФ в различных структурах головного мозга под влиянием катехоламинов, причем эффект повышается в присутствии экзогенного адреналина и тирамина. Холинергические медиаторы и их агонисты вызывают значительное увеличение уровня цГМФ в коре головного мозга, мозжечке, в то время как атропин оказывает противоположный эффект [5, 86, 107]. Было убедительно показано ингибирующее влияние цАМФ на нейроны центральной нервной системы. В отличие от цАМФ, цГМФ в значительной степени увеличивает скорость возбуждения клеток головного мозга, пирамидальных клеток гиппокампа. Данные литературы позволяют судить о тесной органической связи функций цАМФ с адренергическими, а цГМФ – с холинергическими структурами головного мозга. Они контролируют независимые нейрофизиологические процессы, в частности, медленный возбуждающий (цГМФ) и тормозной (цАМФ) потенциалы. Увеличение уровня цАМФ в нейронах ЦНС приводит к развитию тормозных процессов, а увеличение уровня цГМФ, как правило, обуславливает возбуждение. В нервной системе, так же как и в других системах, существует тесная взаимосвязь между циклическими нуклеотидами и простагландинами. В целом ряде работ показано, что простагландины оказывают существенное влияние на уровень циклических нуклеотидов в тканях. В частности, отмечено увеличение содержания цАМФ в нервной ткани под влиянием простагландина E. По мнению P. Hedgист, простагландины выступают в роли посредников, с участием которых осуществляется действие на нервную систему нейрогуморальных

стимулов. Они образуются эффекторной клеткой в ответ на нейромедиатор и регулируют синаптический процесс на пре- и постсинаптическом уровне. Особенности участия циклических нуклеотидов и простагландинов в регуляции процессов возбуждения и торможения, по всей вероятности, отражают характер и направленность изменений уровня этих веществ в ЦНС в условиях действия на организм различного рода вредных и экстремальных факторов [2, 130, 199, 218, 248, 264, 334].

Одним из перспективных направлений при обосновании патофизиологических механизмов развития болезней и патологических процессов является изучение эндогенных биологически активных веществ, к которым принадлежат гуморальные регуляторы липидной природы – простагландины, являющиеся метаболитами арахидоновой кислоты. На основании результатов многочисленных экспериментальных и клинических исследований установлено, что эти гистогормоны обладают значительной биологической активностью в отношении различных функциональных систем организма [218]. Их биологическое действие реализуется в трех основных направлениях: действие на клетки, в которых они вырабатываются, влияние на окружающие клетки и ткани, и воздействие на ткани, находящиеся на значительном удалении от места биосинтеза. Последний вид активности проявляется после поступления простагландинов в кровь и обусловлен стабильностью их молекул в организме. По такому типу действуют простагландины группы А, в отличие от которых простагландины групп Е и F из-за их быстрого разрушения в крови оказывают преимущественно местное действие. Простагландины оказывают влияние на метаболические процессы в ЦНС, что сопровождается угнетением, ступором, кататонией, раздражением и снижением активности нейронов, контрактурой мышц конечностей. Действие на сердечно-сосудистую систему проявляется увеличением частоты сердечных сокращений, ударного объема, снижением венозного тонуса, артериального давления, увеличением уровня кальция в сердечной мышце – дигиталисоподобный эффект [95, 147, 218].

Действуя на дыхательную систему, простагландины приводят к уменьшению артерио-венозной кислородной разницы, а в зависимости от группы способны уменьшать или увеличивать бронхиальное сопротивление, вызывая бронходилатацию или бронхоконстрикцию. Влияние на желудок и кишечник проявляется понижением желудочной секреции и стимуляцией моторной функции этих органов. Влияние на мочеполовую систему проявляется усилением осмотического диуреза, повышением клиренса мочевины, стимуляцией секреции ренина, повышением и усилением моторной функции матки. Простагландины проявляют антагонизм по отношению к действию инсулина, глюкагона, кортикостероидов и катехоламинов [218]. Они усиливают в тканях синтез гликогена, а в зависимости от группы простагландинов повышают или снижают содержание свободных жирных кислот, влияют на тромбоцитарно-сосудистый гемостаз, процессы микроциркуляции. Доказано их участие в патогенезе атеросклероза, артериальной гипертензии, инфаркте миокарда, ишемических поражениях головного мозга, нарушениях репродуктивной функции.

Лейкотриены, также как и простагландины, являются метаболитами арахидоновой кислоты, производными 20-тиуглеродных полиненасыщенных (эйкозановых) кислот. Они синтезируются в лейкоцитах, клетках мастоцитомы, тромбоцитах и макрофагах по липоксигеназному пути в ответ на иммунологические и не иммунологические стимулы [2, 249]. Лейкотриены являются медиаторами воспалительных реакций, вызывают сокращение мышечной ткани бронхов, способствуют сокращению коронарных сосудов. Из этих данных видна исключительная роль простагландинов и лейкотриенов в механизмах развития многих патологических явлений.

Как известно, несмотря на наличие общих закономерностей интоксикации, которые наблюдаются при действии различных химических факторов, проявления и последствия интоксикации чрезвычайно разнообразны, поскольку они зависят от характера токсического вещества, его физико-

химических свойств, сродства к определенным органам, физиологическим системам, тканям, субклеточным структурам, рецепторам, ферментам и др. [63, 92]. Соответственно, выделяют, например, психотропные, гепатотропные, кардиотропные, липотропные, кровяные, ототоксические, мутагенные, канцерогенные и другие токсические вещества [63]. Большое значение при экзогенной интоксикации имеют доза (концентрация) токсического вещества, режим (кратность и длительность) действия и др.

Значительное количество химических веществ, которые способны поступать в организм, подвергается структурно-метаболическим превращениям с изменением физико-химических свойств и биологической активности. Превращение ксенобиотиков происходит, в большинстве случаев, при участии ферментов. Условно их метаболизм можно разделить на фазу модификации и фазу конъюгации. В первой фазе вещество может подвергаться окислению, восстановлению, гидролизу, дециклизации, включению дополнительных групп (ОН, NH₂, SH и др.), блокированию функциональных групп в молекуле ксенобиотика, освобождению от своих функциональных групп, что обеспечивает веществу большую растворимость, гидрофильность и возможность вступления в фазу конъюгации. Образующийся метаболит, как правило, является менее активным и легко элиминируется из организма. Вместе с тем, нередко в процессе метаболизма чужеродных химических веществ образуются реакционноспособные интермедиаты, АФК, которые ковалентно связываются с клеточными макромолекулами – белками, нуклеиновыми кислотами, компонентами мембран, а также инициируют оксидативный стресс. Исследования свидетельствуют, что индукция или блокирование активности метаболизирующих ферментов могут существенно влиять на метаболические процессы и внутриклеточный обмен, а порой появляются вещества, обладающие мутагенными или канцерогенными свойствами. Многочисленные работы по изучению метаболизма чужеродных для организма веществ показали, что он осуществляется в основном путем окисления в

микросомальной гидроксимирующей МОС гепатоцитов [36, 37, 84, 86, 131, 326, 230]. Большое распространение имеют и синтетические реакции, а именно: связывание с белками, аминокислотами, глюкуроновой и серной кислотами. В большинстве случаев ксенобиотики подвергаются в организме последовательным превращениям – модификации, а в завершение – синтетическим реакциями конъюгации. Исследования показывают, что начальная фаза метаболизма может существенно отразиться на биологических свойствах химических соединений. Они могут быть усилены, ослаблены или модифицированы. Изучение метаболизма химических веществ не только представляет общебиологический интерес, но и дает важный прогностический материал для разработки мер специфической и неспецифической профилактики, направленной на сохранение и укрепление здоровья населения и рабочих, занятых в сфере химического производства, а также для диагностики интоксикаций и патогенетической терапии [12, 37, 49, 55, 56, 79, 81, 82].

Ведущим звеном в биотрансформации неполярных ксенобиотиков и эндогенных токсинов является МОС, которая представлена цитохромами P₄₅₀ и V₅, НАДФ•Н и НАД•Н-редуктазами. Особенностью МОС является ее способность к индукции под влиянием многих химических агентов экзо- и эндогенного происхождения. Индукция данной системы носит приспособительный характер. Она ускоряет выведение химических соединений из организма. Основной структурно-функциональной единицей, осуществляющей эти процессы, является эндоплазматическая сеть гепатоцитов, а именно ферментативная система микросомальной мембраны, участвующая в детоксикации неполярных химических веществ, к которым человек эволюционно не адаптирован. При этом особый интерес представляют исследования метаболических процессов в митохондриях экспериментальных животных, которые подвергались воздействию вредных химических соединений. Известно, что в качестве важнейшего звена, обеспечивающего функционирование восстановительных синтезов, выступают биоэнергетические

процессы и связанные с ними реакции поглощения неорганического фосфата, потребления кислорода, которые сопровождаются синтезом АТФ в дыхательной электронно-транспортной цепи митохондрий. Чрезмерная активация митохондриальной дыхательной электронно-транспортной цепи, а также микросомальной МОС, как и их ингибирование, могут быть тесно связаны с влиянием на организм ксенобиотиков и их метаболитов. Имеющиеся в литературе данные о функциональном состоянии митохондрий и микросом указывают на существенные нарушения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования, а также обезвреживания под длительным влиянием субтоксических доз ксенобиотиков [84, 90, 105].

По мнению многих исследователей, достаточно информативными показателями изменений, происходящих в организме животных и человека под воздействием чужеродных химических веществ, являются уровни микро- и макроэлементов [4, 277, 278, 279]. Как дефицит ионов металлов, так и избыточное поступление в организм приводят к нарушению обменных процессов и могут явиться причиной развития патологических состояний. Вхождение ионов металлов в основные биохимические метаболические системы (ферменты, гормоны, витамины, рецепторы, нуклеиновые кислоты, рибосомы) определяет их исключительную роль в обеспечении различных физиологических и биохимических процессов – оплодотворения, митоза, созревания, перехода от пролиферации к состоянию покоя, транспорта аминокислот через мембраны, проведение нервного импульса и др. Ионы металлов играют важную роль в обмене веществ и энергии, обеспечивая процессы жизнедеятельности организма. Они обеспечивают широкий спектр различных функций организма – структурную, транспортную, гормональную, энерготрансформирующую, кофакторную, регуляторную, детоксикационную, хемиосмотическую и многие другие. Особая роль в этих процессах отводится ионам калия, натрия, магния, кальция, меди, цинка, железа, фосфора, марганца [45, 67, 171, 178, 228, 268, 274, 324]. Известно, что многие патологические

процессы и заболевания сопровождаются структурно-метаболическими нарушениями со стороны соединительной ткани. К ним могут быть отнесены: атеросклероз, ревматоидный артрит, ревматизм, остеопороз, миодистрофии, системная склеродермия, дерматомиозит, хронические воспалительные заболевания внутренних органов и тканей и др. Вместе с тем, следует отметить, что в основе структурных нарушений соединительной ткани могут лежать различные вредные физические, химические и биологические факторы, которые формируют такие патологические состояния и заболевания, как пневмофиброз, цирроз печени, дерматомиозит, гепатиты, энцефалопатия, нейропатия, вибрационная болезнь и др. [56, 58, 81, 105, 171, 201, 226, 238].

Известно, что гипоталамус обеспечивает координацию процессов репродукции организма за счет получения информации как от вышележащих областей ЦНС, так и от периферических, половых эндокринных желез [133, 336]. Для нормального протекания данного кооперативного процесса необходима целостность структурно-метаболического взаимодействия гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и наличие определенных взаимосвязей между ее отдельными звеньями. Если информация, поступающая в гипоталамус из других областей нервной системы, передается нейромедиаторами как адренергического, так и холинергического ряда, то периферические половые гормоны могут осуществлять свои эффекты путем связывания со специфическими белками-рецепторами, которые способны обеспечивать избирательный захват половых гормонов, инициацию и реализацию специфического гормонального эффекта в клетке. Это позволяет в физиологических условиях координировать механизмы управления репродуктивными процессами в общей системе центральной регуляции гонадотропной функции гипофиза [216, 242, 248].

Как известно, интоксикация экзогенными химическими соединениями сопровождается комплексом патофизиологических и биохимических изменений, при которых в патологический процесс вовлекаются не

только нервная, эндокринная, но и иммунная система [56 112 148, 182]. Важнейшим негативным следствием влияния на организм человека современной среды обитания является снижение его защитных свойств, причем основная система защиты – иммунная – реагирует в первую очередь. Система иммунитета одной из первых реагирует на неблагоприятное воздействие токсических химических веществ, что доказано такими исследователями как: Геллер И.А., Николаев А.И., Пономарева Л.А. и др. Еще 30-40 лет назад ими было показано, что малые дозы химических веществ, являющихся сегодня одними из основных компонентов загрязнений окружающей среды, приводят к фазным реакциям иммунной системы: превентивная стимуляция → выравнивание до физиологического уровня → угнетение иммунных реакций. Последняя фаза наблюдается как при действии относительно больших, так и при длительном воздействии малых доз химических веществ, не обладающих общетоксическим действием. Иммунная система – чрезвычайно тонкий и чувствительный механизм, не терпящий грубого вмешательства.

В настоящее время накоплены убедительные данные, свидетельствующие о том, что иммунная система, участвуя в поддержании гомеостаза, во многом определяет устойчивость организма к воздействию различных факторов.

Токсические химические вещества, оказывая разнонаправленное воздействие различной интенсивности на все звенья иммунной системы, приводят к её дисфункции. Иммунодефицитные состояния являются основой роста инфекционной патологии, повышения частоты аллергических и аутоиммунных заболеваний, а также увеличения опасности возникновения злокачественных новообразований [150, 249, 306]. Как известно, воздействие неблагоприятных факторов биологической, химической и физической природы приводит к изменению функционирования иммунной системы в связи с её чрезвычайно высокой чувствительностью.

С биохимических позиций токсическое влияние ксенобиотиков на организм можно рассматривать как результат вмешательства в течение

биохимических реакций, которые влияют на процессы жизнедеятельности. Одним из важных методологических приемов выбора адекватных показателей в донозологической диагностике является учет динамики тестов, отражающих системно-антисистемное взаимодействие и границы раздела между физиологической адаптацией и компенсаторными механизмами, которые включаются при развитии патологических процессов. Такими условиями являются активация оксидантной и ингибирование антиоксидантной системы, обнаруженные в токсикологических экспериментах при обосновании безвредных уровней ксенобиотиков в воде водных объектов. Известно, что начальные процессы биотрансформации большинства ксенобиотиков протекают в эндоплазматическом ретикулуме печени при участии электронно-транспортной цепи МОС микросом. Эти явления сопровождаются образованием АФК, которые могут инициировать продукцию большого количества свободных радикалов и продуктов ПОЛ, способных оказывать повреждающее действие на биологические мембраны.

Длительное ингибирование антиоксидантной системы на фоне оксидативного стресса приводит в конечном итоге к срыву защитно-приспособительных механизмов и формированию патологии, которая имеет необратимый характер и заканчивается развитием гипоксии и гибелью клеточных структур. В связи с этим, в терминальной фазе наблюдается повышение содержания в сыворотке крови антиоксидантов, как следствие выхода их из разрушенных клеточных структур, и активация оксидантной системы, характеризующаяся накоплением в крови альдегидов, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов.

Важная особенность действия ксенобиотиков на организм заключается в потере интегративными системами контроля над обеспечением структурно-функциональной стабильности биологических мембран, которые относятся к числу главных структурных элементов клеток, отвечающих за ее целостность и гетерогенность. Эти структурные элементы клеток регулируют метаболизм,

благодаря компартиментализации и путем объединения ферментов в надмолекулярные ансамбли через системы сопряженного переноса ионов. Нарушение стабильности и проницаемости мембран является основным путем в реализации эффектов ксенобиотиков и сопряжено всегда с развитием тканевой гипоксии, а впоследствии – дистрофических и деструктивных процессов [77, 96, 304].

Возможность дать характеристику этапности развития структурно-метаболических нарушений в мембранах позволяет составить прогноз и дать оценку здоровью больших контингентов населения независимо от природы вредного фактора или совокупности различных факторов, определить глубину повреждений мембран и наметить комплекс лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий.

Разработка методов донозологической оценки и диагностики преморбидных состояний является актуальной медико-профилактической проблемой, направленной на укрепление здоровья населения и снижение риска развития экопатологических состояний, ведущая роль в которых принадлежит системе регламентации вредных факторов в объектах окружающей среды.

Для подтверждения патогенетического значения структурно-метаболических нарушений и их механизмов при действии на организм химических соединений была применена коррекция истощения АОС с помощью нутритивного антирадикального и антиперекисного комплекса. Она предложена как принцип и метод терапии изучаемой патологии М.В. Кривоносовым – при контакте с анионными детергентами профессиональных групп населения. Ввиду возможности применения этого комплекса у животных и предположительно оптимального детоксикационного состава мы включили его в эксперимент [176, 283, 286, 290, 309].

Таким образом, анализ вышеприведенных данных позволяет заключить, что химическая промышленность органического синтеза является мощным источником загрязнения среды обитания человека. Она способна оказывать

неблагоприятное воздействие на состояние здоровья населения и формировать экологически обусловленные заболевания и патологические состояния. Типовыми патологическими реакциями организма на вредное воздействие ксенобиотиков являются нарушение процессов воспроизводства, синтеза биологических субстратов, энергообеспечения, генерации, передачи и реализации информации. Эти реакции могут сопровождаться такими типовыми патологическими процессами, как расстройство кровообращения, воспаление, аллергия, опухолевый рост, гипоксия, нарушения обмена веществ и энергии, ведущая роль в которых принадлежит интегративным системам контроля гомеостатической функции организма – нервной, эндокринной, иммунной. Исследования показывают, что любой патологический процесс или заболевание развивается по общей схеме: активация защитно-приспособительных механизмов, направленных на адаптацию → срыв защитно-компенсаторных механизмов → формирование патологии и терминальная фаза болезни, которая заканчивается выздоровлением или гибелью биосистемы. Анализ литературы показывает, что ведущая роль во всех этих процессах принадлежит кооперативному взаимодействию интегративных систем, обеспечивающих динамический контроль за материальными, энергетическими и информационными потоками, нарушение которых и формирует срыв адаптационных и защитно-приспособительных механизмов.

1.2. Современные представления о механизмах формирования адаптации и развитии «порочных» кругов – дезадаптации под влиянием ксенобиотиков

Ксенобиотики, попадая в организм, оказывают прямое воздействие на его макро- и микроструктуры и, биотрансформируясь, опосредованно через фазу конъюгации, подобно «порочному» кругу (*circulus vitiosus*), вызывают вторичную мембранную патологию [32, 33, 48, 84, 103, 128, 181, 251, 257, 270].

Важной биологической проблемой в условиях кризисного состояния биосферы является разработка и обоснование высокочувствительных и информативных методов диагностики мембранной патологии, которая развивается на фоне нарушения метаболизма и взаимодействия интегративных систем контроля гомеостатической функции организма. Анализ литературы убедительно свидетельствует, что ранними диагностическими тестами, характеризующими усиление СРП и ПОЛ, являются определение интенсивности и светосуммы индуцированной (H_2O_2 , FeCl_3 , люминол-зависимой) биохемилюминесценции и фосфоресценции сыворотки крови, первичных продуктов ПОЛ – диенов – и активности ферментов антиоксидантной защиты – СОД, каталазы, церулоплазмينا, обладающих антирадикальными и антиперекисными свойствами. В более поздние сроки при стимуляции свободнорадикальных процессов и ПОЛ отмечается накопление вторичных продуктов ПОЛ – МДА, субстратов окислительной модификации белков – 2,4-ДНФАГ и 2,4-ДНФКГ, которые усиливают механизмы окислительно-токсического стресса и структурно-метаболических нарушений в биомембранах, их проницаемость, вязкость, заряд, гидрофобный объем, что отражается на активности мембраносвязывающих ферментов – Na^+ , K^+ -АТФ-азы и Mg^{2+} -, Ca^{2+} -АТФ-азы, обеспечивающих функционирование энергетических, субстратных и информационных потоков через клеточные мембраны. Эти изменения отмечаются на фоне нарушения системно-антисистемных взаимодействий, ингибирования антиоксидантной защиты клетки [270, 273, 174, 287, 298, 304].

Нарушение структурной организации и стабильности мембран эритроцитов приводит к изменению активности ферментов – Na^+ , K^+ -АТФ-азы и Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФ-азы, которые являются электрогенными насосами и обеспечивают создание электрохимического градиента концентрации ионов, что формирует мембранный потенциал действия эритроцитов, лимфоцитов участвует в регуляции внутриклеточного метаболизма, как отдельных клеток,

так и всего организма. Литературные источники свидетельствуют, что ингибирование активности этих мембраносвязанных ферментов в эритроцитах при действии на организм исследуемых ксенобиотиков в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ дает основание рассматривать Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺-зависимые АТФ-азы как специфические тесты установления метаболических нарушений в биологических мембранах, которые коррелируют с изменением их физико-химических свойств и ингибированием антиоксидантной системы [15, 36, 42, 129, 228]. Исследования ряда авторов показывают, что определение интенсивности и светосуммы индуцированной H₂O₂, FeCl₃, люминол-зависимой БХЛ дает возможность диагностировать образование наиболее токсичных и реакционноспособных свободных радикалов – супероксидного анион-радикала и гидроксильного радикала. В качестве наиболее эффективного активатора ПОЛ выступает гидроксильный радикал, который путем депротонирования ближайшего к двойной связи α-углеродного атома полиненасыщенной жирной кислоты ускоряет цепь этих процессов [18, 59, 279].

Дисмутация супероксид-анион-радикала кислорода, ферментативная или спонтанная, служит еще одним источником АФК и приводит к образованию перекиси водорода, которая при помощи реакции Фентона является главным путем накопления гидроксильных радикалов в организме. Усиление генерации АФК под влиянием токсикантов обусловлено активацией МОС гепатоцитов и относится к основным пусковым патогенетическим механизмам, которые инициируют СРП и ПОЛ. В связи с этим, по мнению многих авторов, метод БХЛ имеет высокую информативность и значение при определении наличия свободнорадикальной патологии и диагностике состояния гомеостатической функции организма. Данные литературы выявили, что высокочувствительным методом обнаружения структурно-метаболических нарушений в организме является и фосфоресценция, позволяющая судить об изменении конформации белковых молекул при их окислительной модификации. По результатам ряда авторов, обнаружено, что методы БХЛ, фосфоресценции и определения

электроотрицательности ядер буккального эпителия позволяют дать глубокую характеристику состояния биомембран и служить прогностическими критериями развития мембранной патологии [15, 42, 77, 270, 287, 304]. Ценными и диагностически значимыми из этой группы тестов являются показатели, отражающие состояние АОС, которая метаболически связана с прооксидантной. К ним относятся такие биохимические корреляты, как активность СОД, каталазы, церулоплазмина и содержание SH-групп, глутатиона. Было показано, что длительное воздействие на клетку активных форм кислорода, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов способно приводить к образованию ковалентных связей с белками, окислять восстановленные тиолы, инактивировать и вызывать конверсию ферментов, изменять конфигурацию биологически активных веществ – ферментов, гормонов, надмолекулярных комплексов, нейропептидов, РНК, ДНК. Все эти процессы наблюдаются при нарушении кооперативного взаимодействия прооксидантной и антиоксидантной систем, которые формируют дисбаланс входящих в клетку и выходящих из клетки энергетических, информационных и материальных потоков, что и приводит к нарушению гомеостаза и развитию «порочных» кругов – патологических состояний [36, 83, 169, 216, 324].

СОД, являясь уникальным ферментом антирадикальной защиты, обеспечивает дисмутацию супероксидного анион-радикала кислорода. Каталаза, как синергист СОД, расщепляет продукт дисмутации – перекись водорода – на воду и молекулярный кислород [324]. Согласованность и сбалансированность оптимальной активности ферментов первичного звена антиоксидантной защиты является обязательным условием поддержания ПОЛ на стационарном уровне. Так, было показано, что при действии на организм экспериментальных животных многокомпонентных смесей производства полиоксипропиленполиолов происходит, в зависимости от дозы воздействия, активация СРО и ПОЛ на фоне повышения активности АОС; активация СРО и ПОЛ на фоне ингибирования АОС и активация СРО и ПОЛ на фоне увеличения

антиокислительной активности сыворотки крови, что отмечалось в терминальную фазу интоксикации в условиях острого воздействия исследуемых препаратов [274, 287, 289].

Данные литературы показывают, что донозологическая диагностика преморбидных состояний основывается на динамических показателях оценки структурно-функционального состояния биомембран, системно-антисистемном взаимодействии и динамическом изменении биохимических коррелятов, которые отражают первичные (обратимые) и вторичные показатели, характеризующие структурно-морфологические и метаболические трудно обратимые и необратимые нарушения. Именно методология нормирования ксенобиотиков в объектах окружающей среды позволяет дать оценку дозозависимым изменениям в организме, которые протекают на молекулярном, клеточном, субклеточном, органном и организменном уровнях, выявить наиболее повреждаемые системы и функции организма с позиций синдромального патогенетического подхода и определения пороговых, подпороговых, максимально недействующих и предельно-допустимых концентраций, которые обеспечивают надежность и безопасность их для человека и окружающей среды. Следует подчеркнуть, что система регламентации и обоснования безвредных уровней ксенобиотиков в объектах окружающей среды предусматривает глубокое изучение механизмов их биологического действия, выявление специфических структурно-метаболических нарушений в организме, раскрытие патогенеза повреждающего действия, выявление наиболее чувствительных органов-мишеней, где ведущее звено в цепи развития дистрофических нарушений принадлежит мембранам [33, 42, 77].

В связи с этим интегральная оценка состояния мембран по критериально значимым показателям и биохимическим мониторинговым коррелятам представляет собой профилактическую концепцию донозологической диагностики преморбидных состояний в условиях воздействия вредных антропогенных факторов на организм.

Итак, мембранная патология может явиться первичной и окончательной причиной структурно-метаболических нарушений и их механизмов при воздействии ксенобиотиков на организм с учетом класса опасности, дозы вещества, времени и характера воздействия [33]. Однако подавляющее большинство ксенобиотиков подвергается целому ряду биохимических превращений, в процессе которых происходит образование побочных высокореактивных продуктов радикальной природы, способных инициировать процессы перекисного окисления биомолекул [33]. Свободные радикалы генерируются и при биотрансформации многих лекарственных препаратов. Исследования показывают, что экзогенная интоксикация, в большинстве случаев, реализуются через усиление процессов ПОЛ, белков, нуклеиновых кислот, которые сопряжены с нарушением внутриклеточного метаболизма и развитием экологически обусловленных заболеваний и патологических состояний. При этом в организме формируется общий адаптационный синдром, или стресс. При взаимодействии организма с окружающей средой, он реагирует как целостная система и включает все возможные защитно-приспособительные механизмы.

Так, при изменении внешних условий, для сохранения постоянства внутренней среды организма, включаются сложные физиологические механизмы кооперативного взаимодействия интегративных систем контроля гомеостаза, которые обеспечивают защитно-приспособительные реакции и адаптацию человека [150, 200].

Способность живых организмов приспосабливаться к изменчивым условиям внешней среды, или адаптация, является одним из важнейших свойств жизни. При изменении внешних условий для сохранения постоянства внутренней среды организма – гомеостаза – включаются в действие сложные физиологические механизмы, что обеспечивает защитно-приспособительные реакции организма, в которых значительная роль, наряду с нервной системой, принадлежит и эндокринной. Исследования свидетельствуют, что адаптация к

различным воздействиям немислима без соответствующих изменений метаболизма. Между тем, все стороны обмена веществ регулируются эндокринной системой в кооперативном взаимодействии с центральной нервной системой. Следовательно, гормональную регуляцию можно охарактеризовать как вызванную перестройку в обмене веществ, адекватную изменениям внешней среды [36, 92,105,196, 216, 228, 229, 233, 266, 297, 303, 312, 325]. Адаптационные реакции, в которых принимает участие эндокринная система, могут быть специфическими в ответ на качественно определенные стимулы и неспецифическими, возникающими в ответ на любое воздействие, независимо от его природы. Совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием самых разных воздействий, представляет собой стереотипный комплекс защитно-приспособительных реакций и обозначается как общий адаптационный синдром, или стресс. Гормональные защитные реакции синдрома адаптации представляют собой необходимые стандартные физиологические реакции на повреждение, выработавшиеся в процессе эволюции и направленные на сохранение гомеостаза и повышение резистентности организма. Регуляция защитно-приспособительных реакций организма является одной из важнейших функций эндокринной системы. Установлено, что наиболее полная и устойчивая адаптация организма, в стрессовых ситуациях, осуществляется благодаря взаимодействию целого ряда функциональных комплексов нейро-эндокринной системы [16]. Необходимость комплексного изучения реакций гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и тиреоидной систем на повреждающее воздействие объясняется не только особой ролью эффекторных гормонов (глюкокортикоидов и трийодтиронина) в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности и управления срочными и долговременными адаптационными реакциями организма, но и сложным взаимодействием упомянутых систем на различных уровнях их организации, в условиях, как нормы, так и патологии [297, 325]. Адаптационные процессы могут ограничить воздействие фактора на организм или привести к

дезадаптации и пуску цепи патологических реакций, что и обуславливает «порочный» круг развития структурно-метаболических нарушений. Многочисленные факторы внешней среды (физические, химические, биологические), с которыми постоянно сталкивается человек, могут стать болезнетворными, если сила их воздействия превосходит адаптационные возможности организма, а также в случае изменения его реактивности. В свою очередь реакция организма определяется индивидуальными особенностями, возрастом, полом, состоянием здоровья человека. При комбинированном действии химических веществ, обладающих различным характером действия, суммирование токсических эффектов встречается относительно реже, чем в группах сходно действующих соединений [41, 49, 65, 92, 105, 135, 150].

Цепь патологических реакций, подобно причинно-следственным связям, оказывает на организм многообразное, длительное и, часто, непоправимое воздействие, нарушая тем самым процессы адаптации и дезадаптации и, таким образом, следствие одного патологического состояния является причиной нового, не связанного с воздействием первопричинного фактора. В этих механизмах ведущая роль принадлежит, наряду с нервной, эндокринной, иммунной системами, и состоянию всех видов обмена веществ и энергии, в том числе витаминного обмена. Известно, что ко многим факторам риска возникновения заболеваний и нарушений структурно-метаболических процессов в организме относится и витаминная недостаточность. Так, например, в условиях гипо- или авитаминоза ретинола (витамина А) наблюдается остановка роста, кератинизирующая метаплазия эпителиальных клеток, поражения глаз, приводящие к развитию ксерофтальмии, кератомалации, нарушению темновой адаптации зрительного анализатора. Как следствие, при этом часто отмечаются повышение восприимчивости к различным инфекциям, ингибирование генеративной функции и иммунобиологической реактивности организма [73, 74, 87, 148, 227, 250, 254, 305, 309, 314]. Подобно «порочному» кругу, витаминная недостаточность

может быть сопряжена с развитием молекулярной-мембранной патологии, нарушением белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового обмена, возникновением гемолиза эритроцитов, активацией СРП, преобладанием катаболических процессов над анаболическими синтезами, развитием дисбиоза желудочно-кишечного тракта, острыми и хроническими токсикоинфекциями и др. В настоящее время большое внимание обращается на алиментарные факторы, которые способны как повышать, так и снижать риск развития экологически обусловленных заболеваний. Отмечается особое значение витаминной обеспеченности населения в формировании общей резистентности организма. Витамины способны влиять на окислительно-восстановительные процессы, биоэнергетический гомеостаз, систему детоксикации химических соединений, разные звенья дифференцировки и пролиферации, иммунологическую специфическую и неспецифическую реактивность и резистентность организма [335, 341]. Это те «амины» жизни, которые должен употреблять человек в ежедневных пищевых рационах и относиться это к первичной профилактике – предупреждению развития болезни. Очевидным является опыт медицины, который свидетельствует, что каких бы успехов не достигла клиническая медицина, альтернативы методам многоуровневой профилактики не существует. Ведь, данные литературы указывают, что здоровье индивидуума на 45-50% зависит от образа жизни человека, на 20% от факторов окружающей среды, на 15-20% от генетических особенностей и только на 10-15% от степени и полноты оказания лечебной помощи [243, 244]. Указанные выше 50% и являются невосстребованным резервом в борьбе с заболеваниями и повышении уровня специфической и неспецифической резистентности организма, здоровья человека вообще.

Синтез новых химических веществ, зачастую высокотоксичных, химически стойких, обладающих выраженной биотропностью, к которой живой и растительный мир эволюционно не адаптирован, отражается на реактивности

и резистентности организма человека к воздействию химических факторов [29, 63, 69, 70]. Количественно и качественно адекватный ответ организма на воздействие вредных источников – это основа физиологически полной и своевременной адаптации к изменениям, происходящим в среде обитания человека, что является залогом здоровья населения. Вместе с тем, длительное и отрицательное влияние на организм вредных химических факторов может привести к нарушению иммунного гомеостаза и срыву защитно-приспособительных механизмов, адаптации и развитию болезни.

Изучение патогенеза структурно-метаболических нарушений и выявление ведущих метаболических показателей на основе системно-антисистемной оценки состояний гомеостаза является важной диагностической коррелятой «порочных» кругов развития преморбидных состояний. В первичном влиянии на организм собственно химические вещества вызывают первичную мембранную патологию. Необходимость изучения системно-антисистемных взаимодействий диктуется, прежде всего, их важностью в обеспечении постоянства внутренней среды организма и прогностической оценкой возможного риска развития дисфункции оксидантно-антиоксидантной системы под влиянием химических соединений. Развитие же дисфункции вызывает вторичную мембранную патологию, а затем дисбаланс оксидантно-антиоксидантной системы усугубляет эту патологию [77, 304].

Современные достижения медицины свидетельствуют, что жизнедеятельность организма, органов и тканей в наибольшей мере зависит от степени нарушения метаболизма и гемодинамических расстройств. Это дает основание полагать, что в основе формирования патохимических механизмов развития экологически обусловленных патологических состояний ведущая роль принадлежит структурно-метаболическим нарушениям, и, в первую очередь, белкового обмена, который интегрирует и координирует все виды обмена веществ и энергии. В существующей литературе не получили должного освещения вопросы о состоянии белкового и энергетического обмена в

патогенезе экологически обусловленных заболеваний. Живые организмы, как открытые системы, находятся в постоянном обмене энергией с окружающей средой. Многочисленные пути метаболизма тесно связаны между собой, лежат в основе всех важнейших функций, характерных для биологического состояния материи. Постоянно идущие процессы синтеза и распада сложных биоорганических веществ обуславливают стабильность весьма лабильных структур организма, их воспроизводство, обновление и умножение, необходимые для поддержания гомеостаза, ведущим фактором, в поддержании которого, выступает метаболизм. Как известно, изменение метаболизма лежит в основе нарушения основных функций и систем, развития патологических состояний. Анализ литературы свидетельствует, что структурно-метаболические нарушения и механизмы их развития тесно взаимосвязаны с участием в этих процессах интегративных систем контроля гомеостатической функции организма. В основе полноценного функционирования организма лежит сложно организованная во времени и в микропространстве клеток, в тканях, органах и организме в целом сопряженная деятельность физиолого-биохимических систем, обеспечивающих адаптацию к действию вредных факторов и компенсацию возникших нарушений. Исследования показывают, что всякое предпатологическое и патологическое состояние проявляется функциональной или структурной дезорганизацией метаболических систем, которые «условно» имеют три стадии своего развития: инициации, элонгации и исхода. Начальная стадия патологического процесса связана с воздействием на организм неадекватного раздражителя, который характеризуется силой воздействия (количество), временем и частотой воздействия, и с индивидуальными особенностями восприятия раздражителя организмом [58]. Начальная стадия развития патологического процесса может быть вызвана влиянием какого-либо одного, четко установленного неадекватного раздражителя, например ксенобиотика. Однако часто начало патологическому процессу дает сочетание нескольких факторов – так называемых факторов

риска. При этом именно комбинация этих факторов и обуславливает неадекватность воздействия раздражителя и формирование патологического процесса. В основе развития патологических процессов лежат основные общебиологические принципы: формирование «порочных» кругов, патологической функциональной системы, патологической доминанты, перехода саногенетического механизма в патогенетический, включение патологических условных рефлексов и развитие осложнений. Анализ литературы показывает ведущую роль в этих процессах систем, обеспечивающих адаптационные и защитно-приспособительные механизмы, – нервной, эндокринной и иммунной. По мнению многих авторов, в основе развития заболевания или патологического состояния лежит принцип «порочного» круга, когда результат длительного неадекватного воздействия на организм становится причиной усиления или повторной активации одного из предшествующих звеньев формирования патологического процесса, в результате чего этот патологический процесс начинает циркулировать по замкнутому – «порочному» – кругу. Это обеспечивает образование патологической функциональной системы, которая может включать совокупность реакций отдельных клеток, тканей, органов, систем или организма в целом. Возникающая в результате воздействия на организм патогенного фактора реакция характеризуется длительной самоподдерживающейся активностью и депрессией саногенетических механизмов, что обеспечивает углубление нарушения равновесия человека с окружающей средой и формирование патологической доминанты, которая сопровождается стойким очагом возбуждения. При этом патологическая доминанта становится центром самоподдержания и прогрессирования патологического состояния. Исследования показывают, что патологическая доминанта играет огромную роль в патогенезе структурно-метаболических нарушений и превращении саногенетических механизмов в патогенетические, которые заканчиваются выздоровлением или гибелью биосистемы.

1.3. Особенности биологической активности олигоэфиров и прогностическая оценка их потенциальной опасности

Химические токсические вещества могут активно вмешиваться в течение нормальных процессов жизнедеятельности организма. Контакт того или иного ксенобиотика с биологическими субстратами отражается на его химической структуре, что, в свою очередь, предполагает изменение биологической активности к условиям окружающей среды и, таким образом, влияет на судьбу вещества в организме. Метаболизируясь, соединения приобретают большую полярность и, как следствие, большую гидрофильность. Таким образом, изменение структуры влечет за собой изменение фармакодинамических свойств, а увеличение растворимости ускоряет экскрецию [28, 29, 59, 63, 69, 70]. Детальное исследование физико-химических свойств ксенобиотиков и их производных показало, что последние обычно содержат больше гидрофильных функциональных групп и, поэтому, имеют лучшую водорастворимость, чем исходное вещество [90]. Кроме того биотрансформация редко идет до образования продуктов превращения с максимальной гидрофильностью, она обычно прерывается в связи с выходом вещества из сферы влияния метаболизирующей системы. Хотя вещество в процессе превращения утрачивает специфические свойства, это не означает, что образующиеся метаболиты лишены токсикодинамики или каких-либо других биологических свойств. К тому же в процессе биотрансформации могут появляться активные в токсическом отношении соединения, хотя преобладающее число метаболитов является биологически менее активным. Поэтому метаболизм ксенобиотиков представляет собой важное звено в раскрытии механизма биологического действия изучаемых олигоэфиров. Ведущая роль в биотрансформации химических веществ принадлежит ферментативной системе, которая способна увеличивать гидрофильность значительного числа субстратов. Биотрансформация в ходе таких реакций обычно предшествует реакциям

конъюгации, хотя иногда сразу имеют место последние. Большинство из токсических химических соединений метаболизируются в печени, продукты биотрансформации поступают в желчь, кишечник и выводятся из организма, или поступают в почки и выводятся с мочой. Частично процесс дезорганизации веществ происходит в почках, легких, коже и других органах [6, 29, 49, 157]. С биохимической точки зрения организм животного представляет собой систему, общий принцип функционирования которой заключается в регулируемом окислении тех или иных субстратов [117, 287]. Окислительные процессы преобладают в метаболизме ксенобиотиков, а окисление органических молекул, содержащих атомы углерода и водорода, – наиболее важный источник энергии организма животного. Органические вещества можно рассматривать как замещенные углеводороды. Олигоэфирные занимают промежуточное положение между спиртами и углеводородами. При оценке деструкции и трансформации этих групп соединений в воде под воздействием высокой температуры установлено, что превращение олигоэфиров идет по свободнорадикальному пути окисления [287]. Ключевыми метаболитами этих процессов явились углеводороды, карбоновые кислоты, альдегиды, спирты.

Результаты экологического мониторинга подтверждают, что химическая промышленность органического синтеза, занимающая лидирующее место в мире по объему и ассортименту выпускаемой продукции, является фактором риска для здоровья населения. Это в полной мере относится к производству полиоксипропиленполиолов, синтезирующему различные марки олигоэфиров. Последние характеризуются большими объемами синтеза и широким использованием в различных областях народного хозяйства, быту. В странах СНГ годовой выпуск олигоэфиров, они же простые полиэфиры, составляет 250 тысяч тонн в год [279, 294, 327, 328]. Многими авторами в условиях натурального эксперимента доказано необратимое влияние олигоэфиров на водные объекты, теплокровных животных и организм человека. Широкий ассортимент простых полиэфиров достаточно хорошо изучен в токсиколого-гигиеническом

отношении [27, 37, 140, 141]. Вместе с тем, ежегодно синтезируются новые группы этих соединений, которые могут быть потенциально опасными для человека и окружающей среды. В научной литературе имеется большое количество работ, которые связаны с регламентацией полиэфиров в объектах окружающей среды. Так, например, анализ литературных источников свидетельствует, что простые полиэфиры или полиолы являются высокостабильными веществами в водных объектах [34, 91, 103, 118, 139, 140, 175, 244, 251]. Они трудно подвергаются биологическому окислению и гидролитической деструкции. Их стабильность зависит не только от физико-химических свойств ксенобиотика, но и от условий среды водоема: температуры, содержания кислорода, наличия сапрофитной микрофлоры. Период полураспада соединений данного класса составляет от нескольких дней до месяцев и года, что способствует их накоплению в объектах окружающей среды и неблагоприятному влиянию на условия водопользования и здоровье населения. Вместе с тем, было убедительно доказано, что полиолы, несмотря на их высокую стабильность, могут быть источником образования целого ряда химических веществ, обладающих более высокой биологической активностью и токсичностью для теплокровных животных. Многие из метаболитов простых полиэфиров – альдегиды, кетоны, спирты и др. – являются радиотоксинами. Они способны модулировать радиомиметические эффекты. Многие простые олигоэфиры в концентрациях до 20 мг/л способны влиять на процессы самоочищения водоемов, а в более низких – на эстетические показатели воды и водные организмы [31, 37, 50, 57, 91, 120, 123, 332]. Изучая на белых крысах, мышах, морских свинках параметры острой токсичности большой группы полиолов, имеющих товарное название «Лапролы», авторы установили, что большинство веществ из этой группы относится к умеренно- и малотоксичным соединениям (3 и 4 класс опасности), не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью. Влияние олигоэфиров на кожные покровы не выявило кожно-раздражающего и сенсибилизирующего

действия у данной группы ксенобиотиков [57, 84, 167]. В клинической картине острого отравления полиолами белых крыс, мышей, морских свинок на первый план выступали симптомы нарушения деятельности центральной нервной системы, сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Авторы отмечают, что после перорального введения олигоэфиров, спустя 2-3 часа, животные становились заторможенными, нарушалась координация движений, появлялся цианоз, возникало прерывистое дыхание и, в зависимости от дозы воздействия, животные погибали в коматозном состоянии [72, 85, 90, 162, 163, 164]. Под влиянием простых полиэфиров в условиях подострого опыта отмечалось снижение активности ферментов сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6- фосфатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, содержания катехоламинов и витамина С в органах и тканях (головной мозг, печень, почки, надпочечники, сердце). Патоморфологическими исследованиями были выявлены структурно-метаболические и дистрофические нарушения, в первую очередь, в органах, которые играют ведущую роль в детоксикации ксенобиотиков – печень, почки, надпочечники, сердце [123, 126, 157]. Изучая в подостром опыте влияние «Лапролов» на нейроны супраоптических ядер гипоталамуса, наблюдали застой нейросекрета, увеличение количества дегенеративных клеток, характеризующихся вакуолизацией, складчатостью, пикнозом и шероховатостью ядерной мембраны. Исследуемые вещества оказывали воздействие на функциональное состояние семенников, что выражалось в снижении концентрации, времени подвижности, осмотической и кислотной устойчивости сперматозоидов, а в дозе 1/10 LD₅₀ повышали количество слущенного эпителия в семенниках и мертвых форм сперматозоидов. Изучая в острых и подострых опытах биологическую активность «Лапролов» марок: Л-1156, 1601, 3203 и 3003, исследователи установили, что данные вещества относятся к малотоксичным веществам, не обладающим кумулятивными и кожно-раздражающими свойствами [59]. Их среднесмертельные дозы были во всех случаях более 5 г/кг массы животного. В

условиях подострого опыта в дозах 1/10, 1/100 LD₅₀ ксенобиотики данной группы снижали содержание в крови гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов, формируя развитие в субтоксических дозах эритропении и лейкопении [76, 256, 337]. В США на теплокровных животных были изучены аналоги отечественных простых полиэфиров - «Полиолов» марок Л-44, Л-62, Л-64, Л-68. Авторы пришли к выводу, что «Полиолы» практически не токсичны и не обладают кумулятивными свойствами, а их среднесмертельные дозы находятся в диапазоне от 5 до 30 г/кг массы животного. Е.М. Трохимович и соавт. установили, что полиэтиленоксид с молекулярной массой от 2 до 5 млн., имеющий структурную формулу, однотипную с Лапролом-402, при попадании в желудок в дозе до 5 г/кг массы животного не вызывает острой интоксикации, не обладает кумулятивными свойствами и не оказывает специфического действия. Вместе с тем, длительное, хроническое, субтоксическое воздействие на протяжении 3-х и более месяцев в дозе 100 мг/кг массы животного вызывает преимущественное поражение паренхимы печени и канальцевой части нефрона. Некоторые исследователи, изучая влияние мономера Лапрол-402, т. е. этиленоксида, на функцию почек, установили, что инъекция 0,1% и 1,0% раствора мономера в брюшную аорту вызывала угнетение фильтрации в почечном клубочке на 29-33%. Введение 10% раствора этиленоксида приводило к гибели экспериментальных животных. Кондратюк В.А. и соавт. обосновывая предельно-допустимое содержание простого полиэфира – «Лапрола-702» – в воде водоемов, установили его умеренную токсичность, отсутствие кумулятивных свойств и кожно-раздражающего действия [59, 114, 136, 141, 152]. В условиях субтоксического подострого воздействия «Лапрол-702» вызывал нарушения со стороны функционального состояния центральной нервной системы, ферментообразующей функции печени, снижал содержание сульфгидрильных групп в печени и головном мозге. Изучая состояние фонда ионов металлов, СРП и ПОЛ, было установлено, что простые полиэфиры марок Лапрол-402, 1502, 2502, 503 и 703 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижали

содержание меди, железа, цинка, натрия в сыворотке крови; кальция, магния, натрия, калия в печени; меди, калия, натрия, магния в семенниках, натрия, калия, меди, цинка в почках [19, 152, 178, 227]. Вместе с тем авторы отмечали увеличение содержания калия в сыворотке крови; кальция в сердце; магния, цинка, железа, кальция в селезенке; цинка в семенниках и надпочечниках. Не изменялось содержание магния, кальция в сыворотке крови; калия и меди в селезенке; магния, цинка, меди в сердце; магния в почках. Исследователи сделали вывод, что простые полиэфиры, имеющие товарное название «Лапролы», в испытанных дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводят к значительным структурно-метаболическим, а порой и деструктивным изменениям во внутренних органах и тканях. Результаты анализа подострого опыта показали, что простые полиэфиры марок Л-402, 2502-2-70, 1502-2-70 и 503 в условиях длительной токсификации животных приводили к снижению в крови белых крыс содержания эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, SH-групп, восстановленного глутатиона, а в органах и тканях – аскорбиновой кислоты. Следует отметить, что в начальные сроки подострого эксперимента эти показатели были повышены, тогда как в терминальную фазу они существенно снижались. Динамические изменения этих показателей были сопряжены с продукцией углекислого газа, которая также существенно снижалась по окончании опыта. Пороговая доза для данной группы веществ была установлена на уровне 1/100 LD₅₀, а максимально недействующая – на уровне 1/1000 LD₅₀. Оценка ПОЛ показала, что испытуемые ксенобиотики приводили к накоплению в организме перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, ДК, МДА. Жуков В.И. и соавт., исследуя мутагенное и эмбриотоксическое действие, выявили, что «Лапролы» марок Л-402, 1502, 2502, 503 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводили к повышению уровня хромосомных aberrаций (делеций, дицентриков, разрывов, пробелов) и снижению митотической активности клеток красного костного мозга. Их эмбриотоксическое действие выразилось в снижении массы плодов и увеличении до-, после- и общей эмбриональной

гибели плодов. Степень эмбриотоксического эффекта зависела от дозы повреждающего действия. Авторы, обосновывая безвредные уровни простых полиэфиров в воде водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения, пришли к выводу, что Лапролы марок Л-564, 3003-2-60, 501-2-100, 4003-2-20 и 6003-2-18 относятся к умеренно и малотоксичным веществам, не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью [118, 119, 338]. В подостром токсикологическом эксперименте под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ ксенобиотики снижали содержание в крови лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, SH-групп и динамически изменяли активность ферментов – церулоплазмينا, ЛДГ, МДГ, ФФК, креатин-фосфокиназы, Ca²⁺- и Mg²⁺-зависимых АТФ-аз в различных органах и тканях. Исследователи пришли к выводу, что простые полиэфиры способны оказывать влияние на энергетический обмен, окислительно-восстановительные процессы. При патоморфологическом и гистологическом исследованиях были выявлены дистрофические и деструктивные изменения во внутренних органах и тканях, в большей мере тех, которые играют ведущую роль в обезвреживании ксенобиотиков – печени, почках, надпочечниках, селезенке.

Исследуя медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами, было установлено, что простые полиэфиры марок «Лапролы» – Л-10002-2-80, Л-600367, Л-600368, Л-5003, Л-705, Л-655, Л-1500, Л-2500, Л-СН 502, Л-2402 «Ц», Л-3503, Л-ПГ100 – относятся к умеренно- и малотоксичным соединениям (3 и 4 класс опасности), не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью. Среднесмертельные дозы (LD₅₀) для данной группы веществ находились в интервале от 1,56 до 56,7 г/кг массы животного, среднее время гибели животных в основном вкладывалось в диапазон первых – третьих суток наблюдения [32, 91, 118, 206, 221]. В клинической картине острого отравления на первый план выступали симптомы нарушения кровообращения и дыхания. Изменения во внутренних органах после острого

воздействия полиэфиров были сходными: наблюдалось полнокровие и зернистая дистрофия в печени, почках; редукция лимфоидных фолликулов, в отдельных случаях гиперплазия последних в селезенке; в головном мозге – перипеллюлярный и периваскулярный отек, стазы в капиллярах. Жуков В.И. и соавт., изучая биологическую активность полиэфиров на перевиваемых клеточных культурах (J₉₂₉ – линия фибробластов мыши, X-63 – мышьяная миелома, Нер-2 – клетки печени и Vero – клетки почек зеленых мартышек), установили, что вещества в концентрациях до 5 мг/л не влияют на функциональную активность клеток [123]. В более высоких концентрациях ксенобиотики оказывали цитотоксическое действие, которое проявлялось появлением округлых клеток, их сморщиванием и нарушением формирования монослоя. При этом клеточные культуры теряли функциональную способность захватывать краситель нейтральный красный уже при концентрации веществ 5 мг/л, что указывает на высокую биологическую активность данной группы соединений. Исследуя биосинтетические процессы в клеточных культурах, авторы пришли к выводу, что простые полиэфиры способны ингибировать инкорпорацию ¹⁴С-лейцина, ³Н-уридина и ³Н-тимидина в культуры тканей. Такие результаты позволяют судить о том, что простые полиэфиры способны подавлять синтез белка, ДНК и РНК. Некоторые исследователи оценивали биологическую активность олигоэфиров по влиянию их на изменение биоэлектрического потенциала клеточного ядра [258]. Результаты исследования показали, что олигоэфиры Л-402, 1502 и эпоксидсодержащие марки простых полиэфиров Лд 303, 503, 703 и 512 снижают электрокинетические свойства клеточных ядер. Это позволило авторам судить о нарушении физико-химических и структурно-метаболических свойств клеточных мембран. Обосновывая прогноз безвредных уровней простых полиэфиров в воде водных объектов, исследователи обнаружили, что ксенобиотики Л-3003-2-60, Л-6003-2618, Л-564, Л-4003-2-20 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ при подостром пероральном воздействии снижают к окончанию эксперимента (на 30-е сутки) массу тела

животных (белые крысы), показатели белой и красной крови, активность ферментов в сыворотке крови – церулоплазмина, лактат- и малатдегидрогеназы [15]. В органах и тканях отмечалось ингибирование активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы, Ca^{2+} - и Mg^{2+} -зависимой АТФ-азы на фоне снижения содержания SH-групп по окончанию подострого опыта. Вместе с тем, авторы отмечают, что на 15-е сутки подострого опыта большинство показателей было увеличено по сравнению с контролем. Гистохимические исследования выявили снижение ($p < 0,05$) в печени, почках, надпочечниках, головном мозге активности ферментов ЛДГ, МДГ, СДГ, Г-6-ФДГ, α -глицеролфосфатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы. Во всех случаях ксенобиотики в дозе $1/1000 \text{ LD}_{50}$ не оказывали влияния на метаболические процессы в организме [119]. Микроскопическое исследование препаратов животных, которые подвергались токсификации в дозе $1/100 \text{ LD}_{50}$, показало, что в почках отмечается увеличение и разрыхление клубочков; со стороны нефроцитов – набухание и десквамированные апикальные полюса; почечные тельца корковой части органа характеризовались расширением полости капсулы Шумлянско-Боуэна с одновременным уплощением клеток извитых канальцев, в проксимальном отделе – до клубочкового, в дистальном – до плоского эпителия. Выявлены сосуды с узкой зоной периваскулярного отека. Отмечается белковая и жировая дистрофия, участки некроза, окрашивающиеся гомогенно бледно, где ядра не просматривались. Ядра эндотелия почечных клубочков пикнотичны. В печени прослеживалось расширение межбалочных синусоидных капилляров, гипертрофия и увеличение печеночных макрофагов. Заметны были вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, жировая и белковая дистрофия. Содержание РНК и белка снижалось, гликоген практически отсутствовал, ядра гепатоцитов были гиперхромные. Особенность микроструктуры селезенки проявлялась в уменьшении количества и размеров лимфатических фолликулов, красная пульпа органа на фоне ретикулярной стромы была бедна лейкоцитами. Головной мозг характеризовался

расширением кровеносных сосудов, пикнозом ядер нейроцитов. В цитоплазме отмечалось снижение содержания РНК и белка. В сердце обнаруживалось полнокровие интрамуральных сосудов субэпикардальных отделов, периваскулярный отек. В миокарде наблюдалось торможение белок-синтетических процессов на фоне коагуляции гликопротеидов. Ядра миокардиоцитов большей частью пикнотичны, цитоплазма с пониженным содержанием белка и РНК. Сходные изменения, однако, более выраженные, отмечались и под влиянием $1/10 LD_{50}$. С целью получения токсиколого-гигиенической характеристики и обоснования прогноза потенциальной опасности эпоксидсодержащих гликолей (марки Лапроксида Л – 303, 503, 703 и 512) изучались отдаленные последствия их влияния при субтоксическом воздействии в дозах $1/10$, $1/100$ и $1/1000 LD_{50}$. Результаты исследования обнаружили снижение количества и функциональной активности сперматозоидов, которое выражалось в уменьшении их концентрации в суспензии придатка, времени подвижности, увеличении числа мертвых форм и снижении кислотной устойчивости и осмотической резистентности. Наиболее выраженными были изменения под влиянием $1/10 LD_{50}$ Лапроксида-303. Морфологическая оценка состояния сперматогенного эпителия обнаружила снижение индекса сперматогенеза, количества нормальных сперматогоний, числа канальцев с 12-й стадией мейоза и увеличение количества канальцев со слущенным эпителием в группах белых крыс, подвергавшихся воздействию $1/10$ и $1/100 LD_{50}$. Изучение эмбриотоксического действия данной группы веществ обнаружило, что эпоксидсодержащие простые полиэфиры в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ снижали вес плодов и повышали доимплантационную и общую эмбриональную гибель. Анализ показал отсутствие видимых уродств и отклонений в дифференциации органов и тканей при гистологическом исследовании препаратов [123]. Мутагенный эффект Лапроксидов был изучен на клетках красного костного мозга. Исследования обнаружили увеличение числа клеток с хромосомными aberrациями под влиянием $1/10$ и $1/100 LD_{50}$. На

этом фоне ксенобиотики значительно снижали митотическую активность клеток красного костного мозга. Исследование сенсibiliзирующих и аллергических свойств, а также оценка показателей состояния клеточного и гуморального иммунитета выявили наличие аллергенных свойств у лапроксидов и дисфункцию кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета, формирующую иммунологическую недостаточность, при дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ [20-24]. Обосновывая токсиколого-гигиеническую характеристику блоксополимеров на основе окиси этилена и пропилена, авторы научной работы пришли к выводу о том, что олигоэфир марки Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б», Л-1601-2-50 «Р», Л-2501-2-50 являются высокостабильными веществами, в определенных концентрациях способны изменять эстетические показатели воды, нарушать процессы естественного самоочищения водоемов, стимулировать и подавлять рост и размножение сапрофитной микрофлоры, водных организмов, тем самым отрицательно влияя на условия водопользования [118, 123, 140, 141]. На основании параметров острой токсичности исследуемая группа соединений относится к умеренно- и малотоксичным соединениям, не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью. В клинической картине острого отравления на первый план выступают симптомы поражения ЦНС, дыхания и кровообращения. При длительном поступлении в организм они способны подавлять клеточный и гуморальный иммунитет, изменять иммунологическую реактивность. В основе ингибирования клеточного и гуморального иммунитета, как отмечают авторы, лежат механизмы нарушения окислительно-восстановительных процессов и синтеза ДНК, РНК и белка. Специфическими отдаленными эффектами данная группа соединений не обладает. В подостром токсикологическом опыте вещества в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижали содержание в крови эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и ингибировали систему антирадикальной и антиперекисной защиты. Изучая биологическую активность многокомпонентных смесей на основе гликолей, авторы отмечали,

что олигоэфир СН 502-2-100 (олигоэтиленоксидсульфонат натрия) является малотоксичным веществом, не обладающим кумулятивными свойствами и видовой чувствительностью [91, 114]. В клинической картине преобладали симптомы нарушения дыхания, ЦНС и кровообращения. Патоморфологическая оценка результатов острого опыта обнаружила преимущественно структурно-метаболические нарушения во внутренних органах и тканях, которые играют ведущую роль в детоксикации ксенобиотиков. Длительное субтоксическое воздействие Лапрола СН 502-2-100 в условиях подострого опыта обнаружило снижение содержания клеток белой и красной крови, гемоглобина под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. В дозе 1/1000 LD₅₀ олигоэфир не влиял на показатели белой и красной крови.

Оценка состояния окислительно-восстановительных процессов обнаружила динамические изменения активности мониторинговых органоспецифических ферментов АсАТ, АлАТ, γ -глутаматтранспептидазы, щелочной фосфатазы в органах и тканях под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Данные результаты позволили сделать вывод, что олигоэфир СН 502-2-100 в этих дозах способен нарушать процессы окисления, восстановительные синтезы в органах, которые играют ведущую роль в детоксикации ксенобиотиков.

Многие химические вещества, загрязняющие внешнюю среду, способны оказывать на организм специфическое действие без существенных общих токсических эффектов, проявляющееся в отдаленные периоды жизни индивидуума и сказывающееся на потомстве. Литературные данные свидетельствуют, что олигоэфир СН 502-2-100 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ способен негативно влиять на репродуктивную функцию теплокровных животных [258]. Так, в условиях подострого опыта на белых крысах авторами отмечалось снижение уровня сперматозоидов в суспензии придатка, времени их подвижности, осмотической и кислотной резистентности на фоне увеличения количества мертвых форм половых клеток. Морфологическая оценка

гонадотоксического действия олигоэфира обнаружила снижение индекса сперматогенеза, числа канальцев с 12-й стадией мейоза, нормальных сперматогоний и повышение количества канальцев со слущенным эпителием. В дозе $1/100 LD_{50}$ простой полиэфир не оказывал влияния на функциональные и морфологические показатели семенников белых крыс. На основании полученного эмбрионального материала установлено, что СН 502-2-100 в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ снижал массу плодов и увеличивал доимплантационную и общую эмбриональную гибель. У эмбрионов не было обнаружено видимых уродств и отклонений в дифференциации органов и тканевых структур при гистологическом исследовании препаратов. Исследование мутагенного эффекта показало, что СН-502-2-100 в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ повышал процент клеток с хромосомными нарушениями в виде транслокаций, дицентриков, делеций, кольцевых хромосом на фоне значительного снижения митотической активности клеток красного костного мозга. Обосновывая гигиенические стандарты безвредных уровней содержания олигоэфира в воде водоемов, авторы делают вывод, что ксенбиотик обладает политропным действием и способен повреждать различные системы, органы и функции организма. В основе повреждающего действия лежат механизмы стимуляции СРП, ПОЛ и ингибирования системы антиоксидантной защиты, которые формируют развитие иммунологической недостаточности [119, 215, 321, 332].

Циганенко А.Я. и соавт., изучая гигиенические условия труда и заболеваемости рабочих в производстве полиоксипропиленполиолов на ПО «Капролактам», выявили корреляционную зависимость между состоянием производственной среды и здоровьем рабочих различных профессиональных групп. Наиболее высокие показатели заболеваемости были зарегистрированы среди аппаратчиков катализа и синтеза олигоэфиров, то есть тех рабочих, которые имеют непосредственный контакт с химическим фактором [12, 25, 26, 27, 54, 81, 93, 142, 155, 161]. Среди классов болезней наиболее высокие уровни заболеваемости регистрировались среди болезней органов дыхания,

пищеварения, системы кровообращения, нервной системы, органов чувств, мочеполовой системы. Авторы отмечают, что длительное субтоксическое воздействие малых концентраций ксенобиотиков и их метаболитов на организм рабочих проявляется ослаблением адаптационных резервов интегративных систем контроля гомеостаза, что в дальнейшем выражается в формировании различных заболеваний и патологических состояний. При проведении сравнительного изучения функционального состояния центральной нервной системы было установлено, что у рабочих основных профессиональных групп наблюдаются существенные нарушения протекания основных нервных процессов в коре головного мозга, которые выражались достоверным удлинением латентного периода двигательной реакции с дифференцировкой, реакцией на движущийся объект и реакцией с растормаживанием дифференцировок. Исследователи выявили существенную дисфункцию вегетативной нервной системы у рабочих производства полиолов и сделали вывод о повышении активности симпатoadреномедуллярной, гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной систем. Анализ психофизиологического статуса рабочих производства олигоэфиров выявил нарушения не только со стороны центральной и вегетативной нервной системы, но и показателей сердечно-сосудистой системы, внешнего дыхания, функции зрительного анализатора, мышечной силы и выносливости, что свидетельствовало о вредном воздействии негативных факторов на состояние здоровья [93, 112, 113, 179, 189, 206, 229].

Ряд авторов, изучая состояние здоровья рабочих и их иммунологическую реактивность на производстве полиоксипропиленполиолов, выявили у аппаратчиков синтеза, перегонки, окисления, гидратации, загрузки активацию СРП и ПОЛ на фоне снижения электрокинетических свойств клеточных ядер [244, 251, 271]. Обнаруженные изменения в динамике оценочных показателей находились в тесной корреляционной связи со стажем работы на данном производстве. Исследование состояния иммунологической реактивности

рабочих на производстве олигоэфиров выявило значительное повышение в крови уровня циркулирующих иммунных комплексов, снижение содержания Т- и В-лимфоцитов. Субпопуляционный состав тимус-зависимых лимфоцитов характеризовался значительным снижением числа Т-хелперов и Т-супрессоров. Расчет коэффициентов соотношения Т-хелперов и Т-супрессоров показал, что у обследуемого контингента рабочих происходят глубокие нарушения со стороны иммунной системы, которые проявляются в супрессорном варианте развития вторичного иммунодефицитного состояния. Изучение жирнокислотного спектра лимфоцитов и содержания холестерина у рабочих обнаружило снижение в иммунокомпетентных клетках содержания пальмитиновой, олеиновой кислот и повышение уровня стеариновой кислоты, а также свободного холестерина, что позволило авторам судить о нарушении структурно-функциональной организации биологических мембран, в том числе лимфоцитов [186, 267]. Рассматривая биохимические аспекты экологической патологии, связанной с химическим загрязнением поверхностных источников водоснабжения, исследователи указывают, что простые полиэфиры марки «Лапролы» – Л-1052, Лд-703 – относятся к малотоксичным веществам, не обладающим кумулятивными свойствами, видовой и половой чувствительностью. В условиях подострого опыта и при длительном субтоксическом поступлении в организм экспериментальных животных они способны ингибировать клеточный и гуморальный иммунитет, нарушать окислительно-восстановительные процессы, стимулировать СРП и ПОЛ. При оценке отдаленных последствий их влияния установлено, что олигоэфиры оказывают в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ эмбриотоксическое, гонадотоксическое и мутагенное действие. Специфическими тропными влияниями, в том числе на генеративную функцию, исследуемые полиолы не обладали. Доза 1/1000 LD₅₀ была недействующей.

Анализ литературного обзора 1.1; 1.2 и 1.3 свидетельствует, что структурно-функциональная организация метаболических процессов

поддерживается интегративными системами контроля гомеостаза и направлена, прежде всего, на ограничение, предупреждение и нормализацию нарушений, которые возникают под влиянием субтоксических доз ксенобиотиков. Подвижный физиологический баланс материальных, энергетических и информационных потоков позволяет поддерживать относительное динамическое постоянство, которое в широком смысле охватывает цикличность и фазность течения биохимических реакций, процессы компенсации и регуляции метаболизма, саморегуляции физиологических реакций, динамики кооперативного взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем, в том числе механизмов защиты и восстановления нарушенных состояний организма, что не нашло должного отражения в научной литературе при длительном субтоксическом влиянии олигоэфиров.

Анализ литературы показывает важную роль ЦНС в структурно-метаболических нарушениях, которые кооперативно сопряжены с дисфункцией всех интегративных систем организма в условиях длительного субтоксического воздействия ксенобиотиков; они включают механизмы адаптации функциональных систем, формируют доминанту и гипоталамическое регулирование, направленные на обеспечение защитно-приспособительных механизмов. При этом важным является изучение общего обмена веществ и энергии с использованием метаболических мониторинговых показателей белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового видов обмена, которые не нашли какого-либо освещения в существующей и проработанной нами научной литературе.

Изучение механизмов повреждающего действия ксенобиотиков убедительно свидетельствует, что наиболее частой причиной метаболически обусловленных патологических состояний является нарушение окислительно-восстановительных процессов, активация радикалообразования и снижение активности антиокислительных процессов, которые представляют собой единую сопряженную динамическую оксидантно-антиоксидантную систему,

позволяющую на молекулярном уровне судить о структурно-функциональном состоянии органов, систем и функций организма. Исследования показывают, что в научной литературе отсутствует комплексная оценка системно-антисистемного взаимодействия в условиях длительного субтоксического влияния на организм олигоэфиров, тем более новых марок, которые совершенно остаются не изученными. Вместе с тем, системно-антисистемное кооперативное взаимодействие может проявляться в виде синхронизации усиления функций двух систем, десинхронизации: усиление одной и ослабление другой, и синхронизации ослабления функции двух систем, что отражает соответственно повышение, истощение и срыв защитно-приспособительных механизмов. Исследования показывают, что согласованность системно-антисистемных метаболических взаимодействий обеспечивает высокую функциональную надежность биосистем и адаптацию организма к вредным факторам окружающей среды и обосновывает целесообразность дальнейших научных исследований в этом направлении при изучении субтоксического влияния олигоэфиров на теплокровных животных.

Исследования многих авторов показывают, что чрезмерное и длительное активирующее воздействие токсических факторов на прооксидантную систему приводит к изменению системно-антисистемных взаимодействий, дефициту антиоксидантной системы и проявляется нарушением защитно-приспособительных механизмов, ведущая роль в которых принадлежит интегративным системам контроля гомеостатической функции организма, что формирует развитие порочных кругов, заболевание, а, возможно, и гибель биосистемы.

Анализ литературы указывает на необходимость совместного изучения реакции на субтоксический длительный стресс гипоталамо-гипофизарного, адреналового и тиреоидного нейроэндокринного комплексов, что объясняется не только особой ролью эффекторных гормонов в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности и управления срочными адаптивными реакциями

организма, но и сложным взаимодействием упомянутых систем на различных уровнях их организации в условиях как нормы, так и патологии, которая формируется под влиянием ксенобиотиков.

Анализ литературы о механизмах повреждающего действия ксенобиотиков указывает на необходимость применения принципа системно-антисистемного взаимодействия при оценке защитно-приспособительных механизмов, направленных на адаптацию, срыва защитно-компенсаторных механизмов и формирования болезни, терминальной фазы болезни – выздоровления или гибели. При этом остро стоят вопросы изучения кооперативного взаимодействия эрготропной и трофотропной функций организма, воспалительной и противовоспалительной систем, тормозной и возбудимой систем ЦНС, свёртывающей и антисвёртывающей систем крови, активаторов и ингибиторов иммунной системы, активаторов и ингибиторов анаболических и катаболических процессов, сопряженных с синтезом и использованием макроэргических соединений, и др., что является важными проблемными вопросами при обосновании патохимических механизмов повреждающего действия ксенобиотиков и нуждается в серьёзной научной проработке.

Изучение механизмов развития структурно-метаболических нарушений диктует необходимость обоснования мониторинговых биохимических и иммунологических коррелятов для донозологической диагностики предпатологических изменений в организме. Методической основой при этом могут служить общие положения исследования токсикодинамики, биотрансформации, механизмов биологического действия ксенобиотиков и ведущих патохимических звеньев формирования структурно-метаболических нарушений со стороны интегративных систем контроля гомеостаза – нервной, эндокринной, иммунной, которые совершенно не освещены в научной литературе.

Анализ литературы свидетельствует, что ведущим звеном приспособительных реакций организма к повреждающим воздействиям ксенобиотиков является изменение активности гормональных и нейромедиаторных систем, особенно системы биогенных моноаминов, которые выполняют гормональную, нейромедиаторную, трансмиссивную, антиоксидантную функцию, принимают участие и играют важную роль в стабилизации клеточных мембран. Эти системы оказывают влияние на разные звенья обмена веществ и энергии, играют важную роль в формировании ответных реакций на стрессовые токсические раздражители, обеспечивая адаптивные процессы в организме и защитно-приспособительные реакции. Вместе с тем, данные вопросы не нашли должного отражения в имеющихся разрозненных литературных источниках, которые в основном посвящены гигиене и токсикологии олигоэфиров.

Анализ научной литературы, представленный в данном разделе, позволяет сделать следующие выводы:

1. Современное представление о формировании патохимических механизмов развития экологически обусловленных структурно-метаболических нарушений и патологических состояний базируется на дисбалансе всех видов обмена веществ и энергии, необходимости усовершенствования донозологического обследования, контроля изучаемых показателей воздействия химических факторов на организм, тщательного изучения токсических эффектов, факторов риска промышленной среды и трудового процесса и их влияния на работников, непосредственно занятых в синтезе химических веществ.

2. Современные принципы и критерии исследования воздействия средовых (химических) факторов базируются на дальнейшем и всестороннем изучении вопросов адаптации, развития порочных кругов, реактивности и резистентности организма к кризисным условиям окружающей среды, которые способны формировать экологически обусловленные патологические

состояния; изучении нарушений и разработке на его основе профилактических и лечебно-оздоровительных мероприятий.

3. Олигоэфиры, как промышленные химические вещества, характеризуются большими объемами производства, широким использованием в разных отраслях народного хозяйства; в процессе их синтеза и использования эти ксенобиотики способны оказывать неблагоприятное воздействие на окружающую среду, поступать в водоемы хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения, нарушать процессы самоочищения водоемов, почвы и оказывать неблагоприятное воздействие на человека.

4. Среди опубликованных литературных данных большое количество источников посвящено гигиеническому регламентированию олигоэфиров в воде водных объектов. Анализ научных исследований в отношении воздействия олигоэфиров на целостный организм свидетельствует об отсутствии комплексного полисистемного изучения структурно-метаболических нарушений в организме и способов их ранней диагностики и коррекции.

5. Аналитический обзор литературы свидетельствует об отсутствии данных о биологической активности олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена, механизмах их биологического действия и методах ранней диагностики и коррекции вызванных ими нарушений.

6. На современном этапе, согласно аналитического обзора литературных источников, актуальными проблемами исследований являются изучение всех видов обмена веществ и энергии, раскрытие структурно-метаболических нарушений и механизмов их формирования при действии на организм олигоэфиров и разработка принципов ранней диагностики и коррекции нарушений при комплексном изучении кооперативного взаимодействия интегративных систем контроля гомеостатической функции организма.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Обоснование выбора объектов и направления исследования

Выбор объектов настоящего исследования был обоснован необходимостью раскрытия патофизиологических механизмов структурно-метаболических нарушений в условиях длительного поступления в организм новых марок олигоэфиров в разных дозах и разработки принципов и методов ранней диагностики и коррекции вызываемых ими нарушений, а также отсутствием прогностической характеристики их потенциальной опасности, широким использованием в различных отраслях народного хозяйства, значительным контактом с ними населения [230, 239, 248, 258, 271, 293, 301, 326, 340].

Олигоэфиры относятся к классу простых полиэфиров. Имеют товарное название «лапролы», «гликоли», «полиолы». В Германии их называют «систолы», «десмолы», а в Великобритании – «веронолы». По своим физико-химическим свойствам они относятся к неоногенным поверхностно-активным веществам (ПАВ). В своей структуре содержат гидрофильные группы и гидрофобные радикалы. Наличие особых свойств позволяет использовать олигоэфиры для получения флотореагентов, эмульгаторов, эпоксидных смол, пластмасс, полиуретанов, эмалей, лаков, искусственной кожи, охлаждающих и тормозных жидкостей. Они нашли широкое применение в промышленном строительстве, машиностроении, сельском хозяйстве, электрохимии, металлургии, нефтедобыче. В работе были использованы образцы веществ с регламентированными физико-химическими характеристиками, синтезированные и предоставленные НПО «Синтез ПАВ» (г. Шебекино, Россия) (табл. 2.1). Наличие в молекуле олигоэфиров гидрофильных групп и гидрофобных радикалов обеспечивает им особые физико-химические поверхностно-активные свойства.

Таблица 2.1

Основные физико-химические свойства исследованных веществ

| Вещество | Структурная формула | Физико-химические свойства |
|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 |
| Ацетали моно- метилового эфира полиоксиэтиленгликоля – Лапрол 501-2-100 (Л-501) | $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_x-\text{CH}_3,$ где $x = 10^{11}$ | Прозрачная вязкая жидкость соломенно-желтого цвета, молекулярная масса 500; удельный вес – 1,063 г/см ³ при 25 ⁰ С, хорошо растворим в воде и органических растворителях; кислотное число – не более 0,5 мг КОН/г; рН (метанол : вода = 70: 30) 5,0 – 7,0; вязкость по Хепплеру при 25 ⁰ С 20 – 30 мПа·С; температура вспышки 210 ⁰ С; функциональность 1. |
| Олигоэфир циклокарбонат – «Лапролат» 803 (Лг- 803) | $\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{n_1}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{m_1}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \begin{array}{cccc} & & & \\ \text{CH}_3 & \text{CH}_2\text{Cl} & \text{O} & \text{O} \\ & & & \\ & & \text{C} & \diagdown \\ & & & \\ & & \text{O} & \end{array} \\ \text{CH}-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{n_2}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{m_2}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \begin{array}{cccc} & & & \\ \text{CH}_3 & \text{CH}_2\text{Cl} & \text{O} & \text{O} \\ & & & \\ & & \text{C} & \diagdown \\ & & & \\ & & \text{O} & \end{array} \\ \text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{n_3}-(\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O})_{m_3}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \begin{array}{cccc} & & & \\ \text{CH}_3 & \text{CH}_2\text{Cl} & \text{O} & \text{O} \\ & & & \\ & & \text{C} & \diagdown \\ & & & \\ & & \text{O} & \end{array} \end{array}$ где $n_1 + n_2 + n_3 = 7$; $m_1 + m_2 + m_3 = 0,6 - 1,0$ | Прозрачная вязкая жидкость коричневого цвета; массовая доля циклокарбонатных групп – 20,9%; эпоксидных – 2,44%; вязкость динамическая при 25 ⁰ С – 3980 мПа·С; температура вспышки 238 ⁰ С; удельная плотность 1,084 г/см ³ ; молекулярная масса 800; функциональность по циклокарбонатным группам 3; в воде образует эмульсию, в органических растворителях – ацетоне, спиртах, эфире – растворим неограниченно; рН (метанол : вода = 70: 30) 5,4 – 7,2 |

Продолж. табл.2.1

| | | |
|---|--|---|
| <p>Ацетали монобутиового эфира полиоксипропиленоксиэтиленгликоля «Лапрол 1601-2-50 «Р» (Л-1601 «Р»)</p> | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \text{ COO} [(\text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O})_x - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O}]_y - \\ \text{C}_4\text{H}_9, \\ \text{где } x = 1,3; y = 12 \end{array}$ | <p>Прозрачная вязкая жидкость, хорошо растворима в воде и органических растворителях, молекулярная масса 1600; удельная плотность – 1,04 г/см³; функциональность 1; содержание гидроксильных групп не более 1,0 – 1,2 %; кислотное число не более 0,1 мг КОН/г; рН (метанол : вода 70 : 30) 6,5 – 8,0; вязкость по Хепплеру при 25⁰С 160 – 230 мПа·С; температура вспышки 210⁰С.</p> |
| <p>Бутилаллиловый эфир полиоксипропиленоксиэтиленгликоля «Лапрол 1601-2-50 «Б» (Л-1601 «Б»)</p> | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \text{ COO} [(\text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O})_x - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O}]_y - \\ \text{C}_4\text{H}_9, \\ \text{где } x = 1,3; y = 12 \end{array}$ | <p>Прозрачная вязкая жидкость, молекулярная масса 1600; удельная плотность 1,04 г/см³ при 25⁰С; хорошо растворим в воде и органических растворителях; рН (метанол : вода = 70 : 30) 5,5 – 7,5; вязкость по Хепплеру при 25⁰С 120 – 200 мПа·С; температура вспышки 205⁰С; функциональность 1.</p> |
| <p>Бутилаллиловый эфир полиоксипропиленоксиэтиленгликоля Лапрол 2501-2-50 (Л-2501)</p> | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_9 - \text{O} - [(\text{CH}_2 - \text{CH}_2 -)_x - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{O}]_y - \text{CH}_2 - \\ \text{CH} = \text{CH}_2, \\ \text{где } x = 1,3; y = 21 \end{array}$ | <p>Прозрачная вязкая жидкость, хорошо растворима в воде и органических растворителях; молекулярная масса 2500; функциональность 1; удельная плотность при 25⁰С 1,05 г/см³; кислотное число не более 0,5 мг КОН/г; рН (метанол: вода = 70 : 30) 5,0 – 7,0; вязкость по Хепплеру при 25⁰С 400 – 600 мПа·С; температура вспышки 200⁰С.</p> |

Программа исследования предусматривала проведение острого и подострого опыта на белых крысах популяции Вистар и мышах линии (СВАхС57BL) · F₁, BALB/С.

Для достижения цели и решения поставленных в работе задач отработана программа исследования, которой предусмотрено несколько этапов с разными уровнями сложности.

1 этап. На первом этапе определяли параметры токсичности, половую и видовую чувствительность, а также кумулятивные свойства олигоэфиров в условиях краткосрочного эксперимента.

2 этап. На втором этапе определяли структурно-метаболические нарушения в различных органах и тканях опытных животных (белые крысы, белые мыши), которые подвергались длительному пероральному воздействию водными растворами олигоэфиров в дозах 1/10; 1/100 и 1/1000 LD₅₀. На протяжении 45 суток животным ежедневно, утром до кормления, с помощью металлического зонда вводили указанные дозы растворов олигоэфиров. Контрольная группа животных получала соответствующие объемы питьевой воды. При этом изучали состояние интегративных систем оценки и контроля гомеостатической функции организма – нервной, эндокринной, иммунной, а также белкового, жирового, углеводного, минерального, нуклеинового и энергетического обмена на фоне оценки физико-химических и структурно-метаболических свойств мембран, микросомального окисления, тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, СРП и АОС, рецепторного аппарата и циклазного медиаторного каскада, систем детоксикации и обезвреживания чужеродных химических соединений.

3 этап. На третьем этапе исследовали активность фермента эластазы и коллагенолитическую активность (КЛА) сыворотки крови, которые способны дать ценную информацию о состоянии структурно-метаболических и обменных процессов в соединительной ткани. Определяли в сыворотке крови содержание витаминов Е (α - токоферола), А, С (аскорбиновой кислоты), В₁ – тиамин, В₂ –

рибофлавина, РР – никотиамида, никотиновой кислоты, витаминов В₉ (фолиевой кислоты) и В₆ – пиридоксина.

4 этап. На четвертом этапе обосновывали информативные диагностические маркерные показатели влияния олигоэфиров на организм. Оценка состояния системно-антисистемного взаимодействия осуществлялась по наиболее информативным биохимическим коррелятам, которые отражают процессы оксидантного и антиоксидантного взаимодействия: определялись метаболиты и интенсивность СРП и ПОЛ.

5 этап. На пятом этапе обосновывали патофизиологические механизмы структурно-метаболических нарушений в органах и тканях экспериментальных животных при длительном воздействии олигоэфиров и принципы их патогенетической коррекции (исследовали эффективность нутритивного антирадикального, антиперекисного комплекса).

2.2. Постановка экспериментов и методы исследования

Изучение влияния олигоэфиров на основе оксида этилена и пропилена на организм, согласно поставленной цели и программы исследования, проводили в течение длительного (45 суток) эксперимента на 880 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой (180-200) г и 140 мышах линии (СВАхС57ВL) · F₁, ВAЛВ/С. Животные содержались в стандартных условиях вивария при постоянной температуре и природном освещении. Эксперименты проводили при соблюдении основных правил GLP (1981), правил проведения работ с использованием лабораторных животных (1977), Конвенции Совета Европы об охране животных, «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), Директивы ЕЭС № 609 (1986) и Приказа МЗ Украины № 281 от 01.11.2000 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных норм работы с использованием экспериментальных животных», «Общеэтических принципов экспериментов на животных», одобренных

Первым национальным конгрессом по биоэтике, Киев, 2001, Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения» от 21.02.06, № 3477 – 1У, что подтверждено заключением комиссии по биоэтике.

В соответствии с первым этапом и задачами исследования, определение параметров токсичности олигоэфиров проводили на крысах и мышах с учетом методических указаний [116]. Животным перорально с помощью металлического зонда вводили водные растворы веществ однократно утром натощак. Расчет среднесмертельных доз (LD_{50}) осуществляли соответственно методу Деймаха, Кербера и Бернеса. В дальнейших экспериментах эти дозы были основанием для расчета количества того или иного вещества, необходимого для перорального введения в организм экспериментальных животных. Кумулятивные свойства олигоэфиров изучали по методу Lim. Клинические проявления острого отравления крыс олигоэфирами изучали с учетом методических рекомендаций [116]. Дозы были выбраны таким образом, чтобы определить летальный эффект в интервале летальных доз LD_0 - LD_{100} . Наблюдения за животными проводили в течение 15 дней. Регистрировали время гибели животных и суммарное количество введенного вещества. Оценивание результатов проводили на основании среднего эффективного времени гибели животных. Умершие животные и животные, которые выжили, подлежали препарированию с дальнейшим макро- и микроскопическим исследованием.

На основании оценки параметров острой токсичности установлено, что изучаемые олигоэфиры относятся к умеренно- и малотоксичным соединениям (3 - 4 класс опасности), не обладают кумулятивными свойствами. Соответственно для Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» среднесмертельные дозы LD_{50} для белых крыс установлены на уровнях 3,46; 3,85 и 5,17 г/кг массы животного, а коэффициенты кумуляции на уровнях 9,8; 9,17 и 7,13. Олигоэфирциклокарбонат Лт-803 относится к малотоксичным соединениям, не обладает кумулятивными свойствами и видовой чувствительностью.

Среднесмертельная доза (LD_{50}) его была установлена на уровне 18,75 г/кг массы животного, а коэффициент кумуляции (K_k) на уровне 7,82. Бутилаллиловый эфир полиоксиэтиленоксипропиленгликоля Л-2501-2-50, на основании параметров острой токсичности, также относится к малотоксичным соединениям, не обладающим кумулятивными свойствами. Его среднесмертельная доза (LD_{50}) установлена на уровне 8,0 г/кг массы животного, а коэффициент кумуляции на уровне 11,15.

В дальнейших экспериментах животных подвергали пероральному воздействию с помощью металлического зонда водными растворами веществ ежедневно однократно в течение 45 суток в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 LD_{50} . Контрольным животным вводили соответствующие объемы питьевой воды. В опытных и контрольных группах было по 10 животных. Исследования биохимических параметров осуществляли на 45-е сутки после начала эксперимента, в крови, которую отбирали из подъязычной вены. По окончании эксперимента животных декапитировали гильотинным ножом, предварительно анестезировав тиопенталом натрия в дозе 50 мг/кг массы, быстро извлекали необходимые для исследования печень, почки, селезенку, головной мозг. Для выделения печени, крыс после декапитации фиксировали на препаратном столике и разрезали брюшную полость. Головной мозг после декапитации животных вынимали и на охлажденные пластины извлекали необходимые для экспериментов отделы – неокортекс и гиппокамп – по атласу головного мозга крысы.

Для определения влияния веществ на метаболические процессы исследовали цельную кровь, сыворотку крови, плазму, эритроциты, лейкоциты (нейтрофилы, лимфоциты), а также мочу, гомогенаты печени и головного мозга.

Для получения сыворотки пробирки с кровью выдерживали в термостате в течение 20 минут с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 1500 g.

Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием стабилизированной гепарином крови в течение 15 минут при 3000 g (конечное разведение гепарин – цельная кровь составляло 1:100). Суспензию эритроцитов несколько раз промывали охлажденным 0,89% раствором NaCl.

Лейкоциты отделяли от эритроцитов отстаиванием гепаринизированной цельной крови с желатином. Полученную лейкоцитарную взвесь наносили на фиколл-верографинный градиент с плотностью 1,078 кг/см³ и центрифугировали в течение 55 минут при 400 g. Незначительное количество эритроцитов в осадке лизировали дистиллированной водой в течение 30 с при 4°C. Осмолярность раствора восстанавливали 0,6 М NaCl, лейкоциты дважды отмывали раствором Хенкса (pH 7,4) при 400 g в течение 10 минут.

Лимфоциты выделяли в градиенте плотности фиколл-верографин, после чего несколько раз промывали охлажденным трис-HCl буфером (pH 7,4).

Выделение нейтрофилов проводили в градиенте плотности перколла. На 63% раствор перколла сначала наслаивали 72% раствор перколла, а потом гепаринизированную кровь. После центрифугирования получали кольцо мононуклеаров, гранулоцитов и осадок эритроцитов. Кольцо, которое содержит гранулоциты, переносили в другую пробирку со следующей промывкой клеток. Жизнеспособность выделенных клеток крови в тесте с трипановым синим составляла около 95-97% до и после инкубации в среде в течение двух часов при 37°C.

Суточную мочу животных собирали с помощью специальной метаболической камеры.

Для получения гомогената печени навеску ткани измельчали на холоде и гомогенизировали в течение 1-2 минут с помощью стеклянного гомогенизатора Поттера с тефлоновой толкушкой в охлажденной среде выделения (0,25 М раствор сахарозы, который готовили на 0,01 М трис-HCl буфере, pH 7,4 с добавлением 1 мМ ЭДТА). Соотношение ткань/среда (вес/объем) составляло 1 г/9 мл.

Выделение субклеточных фракций печени крыс проводили с помощью дифференциального центрифугирования. На первом этапе профильтрованный 10% гомогенат центрифугировали на центрифуге ЦЛР-1 при 600 g в течение 10 минут для выделения неразрушенных клеточных элементов и ядер. На втором этапе выделяли митохондриальную фракцию. Для этого безъядерную фракцию гомогената печени центрифугировали при 8500 g в течение 10 минут, осадок дважды промывали 0,25 М сахарозой в 0,01 М трис-НСl буфере (рН 7,4) и центрифугировали при 8500 g в течение 10 минут. Суспензию митохондрий готовили путем ресуспензирования осадка отмытых органелл в 0,2-0,25 мл среды выделения. Концентрация белка в полученной среде митохондрий составляла 27-32 мг/мл. Суспензию митохондрий сохраняли в пробирках на ледяной бане и использовали в течение одного часа после получения для предупреждения процессов их «старения». Для выделения микросомальной фракции супернатант центрифугировали при 18000 g в течение 60 минут. Полученный осадок еще раз промывали. После второго промывания осадок суспензировали в среде выделения. Концентрация белка в суспензии микросом составляла 15-20 мг/мл. Полученную суспензию микросом замораживали в жидком азоте в полиэтиленовых ампулах. Перед экспериментом ампулы размораживали на водяной бане при 37°C.

Для получения гомогената головного мозга навеску ткани измельчали на холоде и гомогенизировали в течение 1-2 минут с помощью стеклянного гомогенизатора Поттера с тефлоновой толкушкой в охлажденной среде выделения, которая состояла из 0,32 М сахарозы на 0,05 М трис-НСl буфере, рН 7,4. Соотношение ткань-среда (вес/объем) составляло 1г/9мл. Ядра и неразрушенные клетки выделяли путем центрифугирования при 600 g в течение 10 минут. Надосадочную жидкость использовали для получения митохондриальной и синаптосомальной фракции. На первом этапе супернатант центрифугировали на центрифуге ЦЛР-1 при 9000 g в течение 20 минут, надосадочную жидкость сливали, а осадок суспензировали в 2,5 мл 0,32 М

сахарозы. Суспензию наслаивали на 10 мл 0,8 М сахарозы, после чего центрифугировали при 9000 g в течение 25 минут. Получали распределение на три фракции: 1 – толстая белая полоса межфракционной границы 0,3-0,8 М сахарозы; 2 – фракция легких синапсом – частички, диспергированные в 0,8 М сахарозы; 3 – осадок, который содержит тяжелые синапсомы и митохондрии. Для разделения тяжелых синапсом и митохондрий осадок суспензировали в 2,5 мл 0,32 М сахарозы. Суспензию наслаивали на 10 мл 1,1 М сахарозы и центрифугировали в течение 20 минут при 20000 g. Фракции легких и тяжелых синапсом собирали с помощью шприца и осторожно разводили бидистиллированной водой до концентрации сахарозы 0,32 М. Синапсомы осаждали центрифугированием при 20000 g в течение 30 минут. Для контроля чистоты полученных фракций проводили микроскопический анализ синапсом и межфракционной границы.

Для получения суспензии спленоцитов селезенку крыс очищали от соединительной ткани, помещали в охлажденный до 0°C раствор Хенкса, измельчали. Суспензию клеток осторожно отбирали шприцом. Через 10-15 минут крупные скопления клеток осаждались. Спленоциты, которые содержались в надосадочной фракции, центрифугировали при 1500 g в течение 5 минут. Дважды отмывали охлажденным раствором Хенкса. Жизнеспособность спленоцитов определяли с помощью трипанового синего.

Мембранную фракцию лейкоцитов выделяли при 4°C. Для этого суспензию лейкоцитов центрифугировали при 1500 g, в течение 5 минут, лейкоциты лизировали и выделяли мембранную фракцию. Образцы ресуспензировали в гипотоническом буфере, который состоял из 10 нМ трис-НСl (рН 7,5), 1,5 мМ MgCl₂, 5 нМ ЭДТА, 5 нМ бензамидина, 1 мМ фенилметилсульфонилхлорида, 10 мкг/мл апротинина, 10 мкг/мл лейпептина, 2 мкг/мл пепстатина и 0,25 мМ Na₃VO₄. Лизис лейкоцитов проводили 30 минут на ледяной бане при соотношении 100-200 мкл буфера на 10·10⁶ клеток. После центрифугирования при 20000 g в течение 10 минут, отбрасывали цитозольную

фракцию лейкоцитов, а осадок ресуспензировали в гипотоническом буфере – 10 mM трис-HCl (pH 7,5) – и добавляли необходимый объем 2 M сахарозы для достижения конечной концентрации 0,25 M. После центрифугирования при 2000 g в течение 20 минут, отбирали супернатант и добавляли 1/3 объема гипотонического буфера. Осадок фракции плазматических мембран получали центрифугированием при 20000 g в течение 90 минут и ресуспензировали в минимальном количестве 10 mM трис-HCl буфера (pH 7,5). Выход полученной мембранной фракции оценивали по концентрации белка по Петерсону.

В соответствии с поставленными задачами исследования последовательно определяли оценочные показатели структурно-метаболических нарушений в организме животных под воздействием разных доз олигоэфиров.

2.3 Исследование воздействия разных доз олигоэфиров на белковые и липидные компоненты клеточных мембран

Первой задачей было определение состояния физико-химических и структурно-метаболических свойств биологических мембран в условиях длительного воздействия олигоэфиров в разных дозах. Учитывая особые физико-химические свойства и способность олигоэфиров обладать поверхностно-активным действием (исследуемые соединения содержат гидрофильные группы и гидрофобные радикалы), предположили их влияние на белковые и липидные компоненты клеточных мембран, что и определило основные этапы этого исследования: 1) изучение состояния мембранных фракций фосфолипидов, ионной проницаемости, вязкости, заряда, полярности мембран; 2) состояние свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков, в соответствии с методическими рекомендациями – описано в разделе 2.4.

В этой связи было проведено исследование определения процентного содержания фракций фосфолипидов в эритроцитах и гепатоцитах методом двумерной тонкослойной хроматографии. Определялось содержание

фосфатидилэтаноламина (ФЭА), сфингомиелина (СМ), фосфатидилинозитола (ФИ), фосфатидилсерина (ФС) и повышением процентного содержания ФХ, ЛФХ, лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭА) и кардиолипина (КЛ).

Для изучения фосфолипидного состава гепатоцитов, синапсом гиппокампа головного мозга, мембранной фракции лейкоцитов и суспензии спленоцитов экстракцию липидов проводили по методу М. Кейтса [160]. В случае гомогената печени и суспензии спленоцитов экстракцию проводили смесью хлороформ-метанол с соотношении 1:2, мембранной фракции лейкоцитов – гептан-диэтиловый эфир-этилацетат в соотношении 80:20:1,5, а в случае синапсом головного мозга – хлороформ-метанол-NH₄OH (7 н) в соотношении 120:70:9. Испарение экстрактов проводили в токе сухого азота. Для разделения индивидуальных фосфолипидов на фракции использовали метод двумерной микротонкослойной хроматографии. Идентификацию фосфолипидов проводили по стандартным растворам и с помощью специфических реакций. Содержание общих и индивидуальных фосфолипидов в липидных экстрактах оценивали по количеству неорганического фосфора, который определяли с помощью молибденового реагента [67, 186, 337].

Измерение микровязкости мембран (текучесть мембран и коэффициент эксимеризации пирена в цитоплазматических мембранах клеток – коэффициент эксимеризации λ – испуск. – 470 нм/ λ – испуск. 393 нм) эритроцитов и лимфоцитов проводили с помощью латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда – пирена [61, 213, 337]. Метод базируется на образовании эксимеров, то есть активных димеров пирена в липидном окружении. Инкубацию суспензии клеток с пиреном проводили при 25°C в течение одной минуты при постоянном встряхивании. Флуоресценцию пирена измеряли на спектрофотометре «Hitachi MPF-4A»: микровязкость липидного бислоя – при длине волны возбуждения 334 нм, мономеров – при длине волны 395 нм, эксимеров – при длине волны 470 нм; микровязкость белок-липидных контактов соответственно при 286/395/470 нм. Оценку микровязкости

проводили путем расчета коэффициента эксимеризации пирена, который отображает соотношение интенсивности флюоресценции эксимеров и интенсивности флюоресценции мономеров (F_e/F_m) и находится в обратной зависимости с относительной вязкостью.

Мембраны эритроцитов выделяли методом гипоосмотического гемолиза с последующим осаждением центрифугированием при 6000 g в течение 10 минут. Выделение мембран лимфоцитов проводили по методу, который базируется на разделении в двухфазной системе декстран-полиэтиленгликоль. Для этого смешивали и встряхивали 100 мл 30% декстрана, 70 мл 24% полиэтиленгликоля (6000), 100 мл дистиллированной воды и 50 мл 50мМ фосфатного буфера (рН 7,8). Смесь оставляли на 24 часа при 4°C, потом отбирали верхнюю фазу (№1) и нижнюю (№2). Лимфоциты разрушали трёхкратным замораживанием и обработкой 0,2% тритоном X-100. В пробирку вносили 1 мл отобранной фазы №2 и на нее последовательно наслаивали фазу №1 и 1 мл поврежденных лимфоцитов. Центрифугировали при 3000 g в течение 30 минут. Кольцо мембран лимфоцитов снимали после центрифугирования в разделе фаз.

Для выявления изменений в проницаемости мембран эритроцитов использовали метод потенциометрического определения концентрации ионов K^+ с помощью стеклянного ионоселективного электрода 2407K⁺. К среде инкубации, которая состояла из 0,15 М сахарозы, 2,5 мМ $MgCl_2$, 5 мМ трис-НСl (рН 7,4), добавляли суспензию мембран эритроцитов и регистрировали (в течение 1-2 минут) концентрацию калия во внеклеточной среде. Потом к пробам добавляли валиномицин из расчета 0,1 нМ на мг белка и измеряли концентрацию калия во внеклеточной среде.

2.4. Исследование длительного влияния олигоэфиров на процессы ПОЛ, СРО, АОС в мембранах клеток организма животных

Для оценки СРП, ПОЛ, окислительной модификации белков, в соответствии с первой задачей, использовались также биофизические методы –

БХЛ и фосфоресценция [67, 76, 158, 166, 337]. Интенсивность спонтанной и индуцированной двухвалентными ионами железа БХЛ сыворотки крови и гомогенатов тканей – важная биологическая константа, которая позволяет оценивать интенсивность процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов. В основу метода БХЛ положена регистрация электромагнитных излучений оптического диапазона разных биологических объектов. Интенсивность спонтанной и индуцированной БХЛ гомогенатов печени и головного мозга крыс измеряли на медицинском хемиллюминометре ХЛМЦ1-01 соответственно общепринятым методикам. Измерительные блоки хемиллюминометра обеспечивали выведение информации в цифровом виде на табло приборов и печатное устройство; запись хемиллюминограмм на диаграммной ленте самописца; перемешивание проб и реактивов, которые подавались через гнездо дозирования; замену проб и их светозащиту; термостатирование кювет и охлаждение ФЭП. Чувствительность хемиллюминометра составляла не менее 0,005 имп/квант; относительная погрешность измерений – $\pm 3,5\%$ при нормальных условиях, спектральный диапазон излучения – 400-600 нм. Для получения усиленной хемиллюминисценции брали 0,5 мл сыворотки крови; 1,5 мл изотонического раствора NaCl; 50 мкл 0,5% раствора сульфата железа. Интенсивность БХЛ гомогенатов тканей органов в опытных группах животных сравнивали с интенсивностью свечения в контрольной группе. Согласно литературным данным, интенсивность БХЛ в системе, индуцированной перекисью водорода, отображает образование наиболее реакционно-способных радикалов ($\text{OH}\cdot$ – гидроксильного, $\text{O}_2\cdot$ – супероксидного анион-радикала кислорода), с которыми взаимодействуют биологические субстраты – белки, липиды, нуклеиновые кислоты и которые сопряжены с наличием высоких уровней возбужденных электронных состояний. Они инициируют цепной СРП, ПОЛ, протекающие в мембранах клеток, а также липопротеинах крови. По мнению многих авторов, накопление активных форм кислорода, перекисей, гидроперекисей, свободных

радикалов, потенцирует развитие мембранной патологии и усиливает скорость старения организма [153, 261, 268, 269, 337]. Система высоких энергетических уровней триплетного состояния электронов в белках подтверждалась нами изучением флуоресценции сыворотки крови опытных и контрольных животных, а многими авторами методом электронного-парамагнитного резонанса. Наличие высоких уровней триплетных возбужденных молекул, обусловленных неспаренными электронами, может свидетельствовать об изменении конформации белковых молекул, присутствующих в сыворотке крови и связанных с окислительной их модификацией под влиянием ксенобиотиков.

Второй задачей исследования было влияние олигоэфиров на состояние СРП, ПОЛ, белков и АОС при действии олигоэфиров на организм. Для оценки состояния системы антирадикальной и антиперекисной защиты печени определяли метаболиты СРП и ПОЛ, а также субстраты, характеризующие активность АОС. Так, в печени измеряли уровни цистеина, восстановленного и окисленного глутатиона, МДА, ДК, активность ферментов каталазы, СОД, глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-фазы), Г-6-ФДГ, НАДФН-редуктазы, НАДФН – редуктазы и гликогена. В сыворотке крови определяли общепринятыми методами свободные жирные кислоты [105, 185, 212].

Активация СРП сопряжена метаболически с образованием оксида азота (NO), который играет универсальную роль модулятора многих физиологических функций сердечно-сосудистой, центральной нервной, иммунной, мышечной, дыхательной, пищеварительной и других систем организма. NO отвечает за тонус сосудов, межклеточную коммуникацию, модуляцию нейротрансмиссии, уровень иммунной цитотоксичности, секрецию гормонов, медиаторов [100, 369]. Изучение NO-синтазной окислительной системы предусматривало определение в сыворотке крови содержания нитритов (NO₂), нитратов (NO₃), S-нитрозотиола, активности эндотелиальной (эNOS) и индуцибельной (иNOS) NO-синтазы. Состояние окислительной NO-

синтазной системы изучали в соответствии с методическими рекомендациями «Діагностика ендотеліальної функції – оцінка вазоактивного пулу оксиду азоту».

2.5 Комплексная оценка обменных показателей организма животных при длительном воздействии разных доз олигоэфиров

Третьей задачей нашего исследования было выяснение состояния белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового видов обмена в условиях воздействия олигоэфиров на организм. Содержание белка в пробах определяли методом Лоури и соавт. в модификации Миллера. Для этого гомогенаты разводили в 500 раз 0,1 н NaOH, микросомальную фракцию – в 200 раз, сыворотку крови – в 1000 раз. К 1 мл разведенного образца добавляли 1 мл реактива В (100 мл 10% раствора Na_2CO_3 в 0,5 н NaOH смешивали с 10 мл раствора Б: 0,5% К, Na-виннокислый, 0,25% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и оставляли при комнатной температуре на 10 минут. Потом прибавляли 3 мл 0,15 н реактива Фолина, тщательно перемешивали и нагревали 10 минут при 50°C. После охлаждения интенсивность окрашивания определяли на спектрофотометре СФ-46 при 638 нм по сравнению с контрольной пробой, которая содержала вместо опытного образца 0,1 н NaOH. Концентрацию белка определяли с помощью калибровочных кривых, для построения которых как стандарт использовали бычий сывороточный альбумин.

В сыворотке крови определяли содержание общего белка; альбуминов; продуктов азотистого обмена – креатинина, мочевины, аммиака; острофазных белков – гаптоглобина, церулоплазмينا; нейроактивных аминокислот – глицина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), таурина, аспартата, глутамата, цистеина, цистатионина, метионина, изолейцина, тирозина, лейцина, триптофана, лизина, фенилаланина, аланина, пролина, оксипролина, валина, гистидина, треонина, серина, аргинина, глутамина, орнитина, аспарагина, альфа-аминомасляной кислоты. Определение в сыворотке крови общего белка,

альбуминов, креатинина, мочевины, лактата и пирувата осуществлялось с помощью наборов реактивов фирм «Cone lab» (Финляндия), «Roche» (Швеция) на биохимическом автоматическом полианализаторе «Cobasmira» фирмы «Хофман-Лярош» (Австрия-Швейцария). Для исследования аминокислот в плазме применялся метод ионообменной хроматографии на ионитах с последующим их определением на автоматическом анализаторе аминокислот ААА Т339 (Чехия). Для проведения калибровочных тестов, а также количественной оценки хроматограмм использовали промышленные стандартные растворы аминокислот производства фирмы «Lachema», которые поставляются в наборе реактивов к автоматическому анализатору аминокислот.

ГАМК определяли хроматографическим методом на колонках с катионообменной смолой Dowex 50Wx4, 200-400 mesh, натриевая форма, параметры колонки $d=4$ мм, $h=75$ мм. После экстракции хлорной кислотой и нейтрализации до pH 3,0 образец пропускали через колонку. После промывания колонки водой элюцию ГАМК проводили с использованием 8 мл 0,025 М натрийцитратного буфера (pH 4,5). Для количественного определения ГАМК осуществляли реакцию с нингидрином. К элюату прибавляли 50 мл 2,5 М K_2CO_3 , потом 0,8 мл элюата смешивали с 0,4 мл раствора нингидрина в 2,5 М K_2CO_3 (pH 8,5). Инкубировали при 60°C в течение 30 минут с последующим охлаждением до комнатной температуры и измеряли флюоресценцию при длине волны возбуждения 380 нм и флюоресценции – 450 нм. Глутаминовую аминокислоту определяли по E. Vernt [345].

По окончании подострого опыта в печени белых крыс исследовали синтез белков и нуклеиновых кислот. В качестве предшественников синтеза белка, РНК и ДНК, соответственно, использовали ^{14}C -гидролизат белка, 3H -оротовую кислоту или 2- C^{14} -глюкозу, а также 3H -имидин, которые вводили внутрибрюшинно в количестве 60 мк Ки, 100 мк Ки и 150 мк Ки за 24 часа до забоя животных. Из печени выделяли две фракции РНК методом термического фенольного фракционирования в интервале температур 0-10°C (РНК 0-10°C) и

10-65°C (РНК 10-65°C) [357]. Ядра из клеток печени белых крыс выделяли по методу D.M. Gill. Глобулины определяли по методу Б.И. Збарского и Г.П. Георгиева, гистоны – по методу E.W. Johns, A.V. Butter. Определение количества белков, РНК и ДНК, а также удельной их радиоактивности проводили радиоизотопным методом в толуоловом сцинтиляторе на счетчике «Векман» - 7800 [164, 346, 364].

Исследование обмена триптофана предусматривало определение в сыворотке крови опытных и контрольных животных содержания L-триптофана и его метаболитов – серотонина, мелатонина, 5-ОИУК, животного индикана, в печени – активность фермента ТДО. В сыворотке крови определялся также один из конечных продуктов окислительного дезаминирования аминокислот, биогенных аминов, пуриновых азотистых оснований – аммиак (NH_3). Определение аммиака в сыворотке крови осуществляли методом ионообменной хроматографии на ионитах. После разделения субстратов на ионитах регистрация концентрации NH_3 осуществлялась на автоматическом анализаторе аминокислот ААА Т-339 (Чехословакия). Триптофан и его метаболиты обмена – серотонин, 5-ОИУК – определяли по Atack C., Magnusson T. [343]. Мелатонин исследовали иммуноферментным методом с помощью моноклональных антител. Для этих целей использовали наборы реактивов Melatonin ELISA (Hamburg), Kat-N₂RE 54021. О функциональном состоянии процессов превращения аминокислот в толстом кишечнике под влиянием микрофлоры и обезвреживающей функции печени судили по количеству конечного продукта обмена триптофана – животного индикана – в сыворотке крови, который определяли общепринятым методом [186]. Известно, что L-триптофан является стабилизатором фермента ТДО в печени. Способствуя образованию устойчивого конформационного состояния, ТДО печени обладает абсолютной субстратной специфичностью по отношению к L-триптофану и катализирует необратимую ключевую реакцию катаболизма аминокислоты по кинурениновому пути ее обмена с образованием N-формилкинуренина, а в

последствии одного из ключевых конечных метаболитов – НАД⁺. Этот фермент ускоряет встраивание молекулярного кислорода непосредственно в молекулу L-триптофана, а катализируемая им реакция является скоростьюлимитирующей стадией превращения субстрата. Активность ТДО определяли по Badawy A.A. – В., Evans M. [344].

В сыворотке крови определяли содержание гликозаминогликанов, активность фермента эластазы и коллагенолитическую активность (КЛА), которые способны дать ценную информацию о состоянии структурно-метаболических и обменных процессов в соединительной ткани. Показано, что коллагеназа играет пусковую роль в ферментативном расщеплении коллагена. Оценку КЛА сыворотки крови осуществляли по суммарному количеству (при ферментативном гидролизе) свободного и пептидно-связанного оксипролина. Для этого находили по калибровочной кривой соответствующее оптической плотности значение количества оксипролина при длине волны $\lambda=570$ мкм. Величину КЛА сыворотки крови выражали в микромолях оксипролина на 1 л плазмы крови за 1 час (мкмоль/л·ч) [186, 269]. Суммарные гликозаминогликаны – кислые мукополисахариды – определяли с использованием трихлоруксусной кислоты и известной реакции, которая обеспечивает фиолетово-розовое окрашивание. Фотометрирование исследуемых образцов проб осуществляли при длине волны $\lambda=530$ мкм. Содержание гликозаминогликанов в сыворотке крови выражали через гексуроновые кислоты в мкмоль/л. Активность эластазы сыворотки крови исследовали иммуноферментным методом с помощью моноклональных антител и набора реактивов (Elastase Elisa RD 19121100) по прилагаемой инструкции фирмы «Biovendor», Германия.

Ионы металлов выполняют широкий спектр различных функций организма – структурную, транспортную, гормональную, энерготрансформирующую, кофакторную, регуляторную, детоксикационную, хемиосмотическую и многие другие. Особая роль в этих процессах отводится ионам калия, натрия, магния, кальция, меди, цинка, железа, фосфора, марганца. Изучение

влияния олигоэфиров в подостром опыте на обмен ионов металлов в органах и тканях экспериментальных животных осуществлялось атомно-абсорбционным методом [258]. Для проведения анализа органы и ткани подвергали предварительному озолению и экстрагированию по Е.А. Лойко и Г.О. Бабенко [19]. Полученный экстракт подавался в прибор, и определялось содержание ионов, результаты сравнивались с эталонными образцами. Изучали содержание в органах и тканях калия, натрия, железа, меди, цинка, магния, кальция, марганца, фосфора.

По окончании третьей задачи эксперимента определяли содержание витаминов в сыворотке крови. Витамин Е (α -токоферол) определяли общепринятым методом по Кибардину, основанным на способности витамина восстанавливать трёхвалентное хлорное железо до двухвалентного, содержание которого устанавливали колориметрически с помощью о-фенантролина. Витамин А исследовали спектрофотометрическим методом, сущность которого заключается в том, что ретинол в растворах способен поглощать лучи света при длине волны 325-328 нм. Витамин С (аскорбиновую кислоту) изучали методом визуального титрования, при этом использовали окислительно-восстановительную реакцию с 2, 6-дихлорфенолиндофенолом натрия (реактив Тильманса). Содержание витамина В₁ – тиамин – оценивали по ТДФ-эффекту. Определение витамина В₂ – рибофлавина – в сыворотке крови осуществляли по ФАД-эффекту. Витамин РР – никотинамид, никотиновую кислоту и витамин В₉ (фолиевую кислоту) исследовали микробиологическими методами. Пиридоксин – витамин В₆ – определяли спектрофотометрическим методом [19, 36, 67, 337].

2.6 Исследование состояния детоксикации организма животных под влиянием олигоэфиров

Следующими исследованиями мы широко изучали состояние и механизмы детоксикации организма под влиянием разных доз олигоэфиров. А именно: показатели тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования и

биоэнергетического состояния суспензией микросом гепатоцитов; состояние АОС и процессов детоксикации печени (активность глюкуронидной, глутатионовой, сульфатной и ацетильной конъюгации, исследование состояния системы окислительно-антиоксидантного взаимодействия – содержание восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина, МДА, ДК, определение динамических нарушений белкового, углеводного, жирового, нуклеинового обмена в печени животных); определение содержания макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функции митохондрий гепатоцитов.

В соответствии с четвертой задачей исследовали состояние гидроксидирующей МОС детоксикации, показатели тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования и биоэнергетического состояния при действии олигоэфиров на организм. Определение скорости расхода кислорода суспензией микросом проводили с помощью закрытого платинового кислородного электрода Кларка полярографическим методом [348]. Скорость окисления НАДФН₂ определяли с помощью флюориметрического метода, который базируется на измерении скорости падения флюоресценции в процессе окисления. Инкубационная смесь объемом 3 мл содержала 100 мМ трис-НСI буфера (рН 7,4) и около 3 мг белка микросом. Реакцию начинали добавлением НАДФН₂ в концентрации 33 мкМ. Регистрацию флюоресценции проводили на спектрофлюориметре при 30°C, длине волны возбуждения 366 нм, длине волны флюоресценции – 420 нм.

Исследованию подвергли такие параметры микросомального окисления в печени, как дыхательная активность, содержание цитохромов P₄₅₀, b₅ и активность редуктаз (НАДФ·Н-, НАД·Н-редуктаз). Наиболее полно и объективно активность системы микросомального окисления может быть оценена по скорости метаболизма ксенобиотиков, что отражает активность как начальных (НАДФ·Н-, НАД·Н-редуктаз), так и терминальных (цитохромы P₄₅₀, B₅) участков. В качестве субстрата микросомальной P₄₅₀-зависимой системы

использовали *p*-нитроанизол, ксенобиотик, который подвергается окислительному деметилированию с образованием *p*-нитрофенола, обладающего характерным спектром поглощения в щелочной среде. В работе были использованы такие показатели микросомального окисления, как активность *O*-деметилазы, НАДФ·Н-цитохром *C*-редуктазы, НАД·Н-цитохром *C*-редуктазы, скорость эндогенного дыхания микросом, скорость окисления НАДФ·Н, скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА, скорость перекисного окисления липидов и содержание цитохромов P_{450} и V_5 .

Количественное определение цитохромов V_5 и P_{450} проводили в суспензии микросом спектрофотометрическим методом [337]. При определении цитохрома V_5 учитывали разницу в поглощении окисленной и восстановленной форм гемопротеинов. При определении цитохрома P_{450} измеряли величину поглощения комплекса восстановленного цитохрома P_{450} с монооксидом углерода при длине волны 450 нм. Содержание цитохромов определяли с помощью двухлучевого регистрирующего спектрофотометра «Specord UV VIS».

Для определения скорости реакции окислительного деметилирования, субстратом которого был ксенобиотик олигоэфир, суспензию микросом прибавляли в среду инкубации, инициируя ее внесением НАДФН. Останавливали реакцию добавлением раствора трихлоруксусной кислоты, реакционную смесь обрабатывали щёлочью, осаждали белок центрифугированием и спектрофотометрически определяли олигоэфир при длине волны 436 нм на спектрофотометре СФ-46.

Пятой задачей исследований явилось выяснение состояния обезвреживающей функции печени экспериментальных животных в условиях воздействия олигоэфиров на организм. Обезвреживающую функцию оценивали по состоянию АОС и процессов детоксикации печени с обоснованием информативных показателей ее дисфункции. Программа исследования предусматривала: 1) изучение влияния олигоэфиров на функцию детоксикации

печени по следующим показателям: активность глюкуронидной, глутатионовой, сульфатной и ацетильной конъюгации; 2) исследование состояния системы окислительно-антиоксидантного взаимодействия по содержанию восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина, МДА, ДК; 3) определение динамических нарушений белкового, углеводного, жирового, нуклеинового обмена в печени животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиром. Так, содержание кетоновых тел в крови крыс определяли методом связывания ацетона салициловым методом. Неэстерифицированные свободные жирные кислоты определяли по экстракции медных солей жирных кислот в плазме крови органическими растворителями. Гликоген в печени исследовали методом Зейфтера. Активность УДФ-глюкуронилтрансферазы микросомальной фракции печени оценивали по скорости конъюгации паранитрофенола; N-ацетилтрансферазы в постмитохондриальной фракции – по скорости конъюгации пара-аминобензойной кислоты, количество которой измеряли по реакции диазосоединения с N-нафтилэтилендиамином. Активность глутатион-S-трансферазы изучали по образованию конъюгатов глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом. Суммарное содержание КоА определяли методом ацетилирования пара-аминобензойной кислоты. Содержание восстановленного и окисленного глутатиона определяли в глутатионтрансферазной реакции, цистеин – по реакции с нингидрином в трихлоруксусном фильтрате. Суммарную РНК выделяли фенольно-термическим методом. Ядра гепатоцитов печени выделяли по методу D.M. Gill. Глобулины определяли по методу Б.И. Збарского и Г.П. Георгиева, гистоны – по методу E.W. Johns, A.V. Butter [19, 67, 137, 346, 357].

Шестой задачей было определение содержания макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функций митохондрий гепатоцитов под влиянием олигоэфиров. Изучение состояния тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования проводили по следующим показателям: содержание в печени АТФ, АДФ, АМФ, креатинфосфата,

неорганического фосфата, которые определяли общепринятыми методами. Для исследования функционального состояния митохондрий гепатоцитов печень промывали от эритроцитов путём её перфузии холодной средой выделения (100 мл 0,25 М сахарозы и 0,01 М ЭДТА), гомогенизировали. Оценивали состояние энергетического и углеводно-фосфорного обмена. Исследовали функциональное состояние митохондрий гепатоцитов в процессе развития структурно-метаболического повреждения ткани печени, вызванного введением олигоэфиров. Оценку метаболического состояния митохондрий производили полярографическим методом по Чансу [348], определяя скорость потребления кислорода в безакцепторной среде (V_4), скорость потребления кислорода в присутствии акцептора (V_3) – в этом метаболическом состоянии митохондрий содержится избыток субстрата окисления и АДФ и отмечается наибольшая интенсивность их дыхания, – скорость потребления кислорода митохондриями после исчерпания добавляемого АДФ (V_4), а также после исчерпания добавляемого АДФ в присутствии разобщителя – 2,4-динитрофенола (2,4-ДНФ) – метаболическое состояние « V_4^1 », которое характеризуется дефицитом одной АДФ. Это состояние называется контролируемым и отличается низкой интенсивностью дыхания. При этом рассчитывали: отношение АДФ/ O_2 , сходное по своему значению с коэффициентом P/O и характеризующее сопряженность процессов окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи; ДК Ларди – отношение скорости поглощения кислорода в состоянии V_3 к скорости поглощения кислорода в состоянии V_4 (до ввода в ячейку АДФ); АТФ-активность гидролазных реакций, как отношение V_4/V_4^P , характеризующее скорость регенерации АДФ после его фосфорилирования. В качестве субстрата окисления использовали сукцинат. Общепринятыми методами в печени определяли активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -активируемой АТФ-азы митохондрий гепатоцитов. Содержание аденозинтрифосфата в тканях печени исследовали по методу E. Beutler, аденозиндифосфата – по методу D. Jaworek, креатинфосфата – по методу Е.Д. Сони́на и неорганического фосфата – по

методу, описанному Н.П. Мешковой и С.Е. Севериным. После получения результатов вычисляли значения энергетического потенциала (ЭП) по формуле D.E. Atrinson. Активность ГК, ФФК, альдолазы, Г-6-ФДГ, ЛДГ, КФК определяли общепринятыми методами [217, 273, 346, 365].

2.7. Роль регуляторных систем организма животных в структурно-метаболических процессах повреждающего действия олигоэфиров

Для выяснения влияния олигоэфиров на показатели функционального состояния нервной, эндокринной и иммунной систем, в соответствии с 7-й задачей исследования, изучали содержание в структурах головного мозга циклических нуклеотидов и простагландинов радиоиммунным методом. Известно, что энергетический метаболизм во многом реализуется через систему вторичных медиаторов – цАМФ, цГМФ, которые определяют взаимосвязь анаболических и катаболических процессов.

В коре головного мозга, продолговатом мозге, стволе головного мозга и ткани сердца состояние циклазного медиаторного каскада и внутриклеточной медиации оценивали по содержанию уровней циклических нуклеотидов цАМФ, цГМФ и активности ферментов АЦ, ГЦ и ФДЭ радиоиммунным методом с использованием тест-систем фирмы Habersham International plus (Великобритания).

При определении простагландинов ПГF_{2α} использовали набор изотопов АНВНР (ПГF_{2α} – ³Н для радиоиммунологического анализа ПГF_{2α}). Простагландины группы E – ПГЕ₁, ПГЕ₂, ПГЕ; группы F – ПГF_{2α}, 6-кето-ПГF_{1α}, (простациклин) определяли, используя диагностические наборы реактивов АНВНР ПГ – ³Н для радиоиммунологического анализа тест-системы фирмы Advanced magnetics sinc. (США). Содержание лейкотриенов В₄ и С₄ определяли с помощью наборов реактивов фирмы Amersham International plc. (Великобритания).

Основной принцип радиоиммунологического анализа при определении простагландинов заключается в том, что радиоактивный антиген (трайсер ПГФ_{2α} – ³Н) соперничает с нерадиоактивным антигеном (ПГФ_{2α}) в стандарте или пробе за ограниченное число связующих мест антител.

Исследовался рецепторный аппарат и внутриклеточный метаболизм. Изучали параметры рецепторного связывания (серотониновых, дофаминовых, адреналиновых, глюкокортикоидных рецепторов). Параметры рецепторного связывания меченых агонистов и антагонистов изучали методом радиолигандного связывания. Исследовали сродство лигандов к рецепторам и количество мест связывания α₁-, α₂-, β-адреналиновых; С₁-, С₂-серотониновых; D₂-дофаминовых рецепторов; и количество глюкокортикоидных рецепторов. Полученные результаты анализировали в координатах Скэтчарда. Кинетические характеристики выражали в величинах констант диссоциации (Кд) и количества мест связывания В_{max}. Величину специфического радиолигандного связывания оценивали по разнице между общим и неспецифическим связыванием.

Определение активности рецепторных мембраносвязывающих комплексов проводили в синаптосомальной фракции неокортекса головного мозга. Определяли параметры связывания селективных лигандов α₁-адренорецепторов – ³Н-WB4101, β-адренорецепторов – ³Н-дигидроалпренолола; D₂-дофаминорецепторов – ³Н-спиперона; 5-НТ₁-серотонинорецепторов – ³Н-серотонина и 5-НТ₂-серотонинорецепторов – ³Н-спиперона синаптосомами неокортекса. Для характеристики функционального состояния рецепторов рассчитывали константу диссоциации (Кд) и максимальное количество мест связывания (В_{max}) – по методу U'Prichard. Определение параметров связывания осуществляли методом равновесного связывания меченых тритием агонистов или антагонистов соответствующих рецепторов из синаптосом мозга. Обработку результатов экспериментов проводили с использованием графиков Скэтчарда [210]. При изучении параметров

связывания селективных лигандов α - и β -адрено-, D_2 -дофамино-, $5-HT_2$ -серотонинорецепторов график Скэтчарда имел криволинейный характер, что могло свидетельствовать: 1. О гетерогенности, то есть наличии нескольких пулов рецепторов, которые отличаются сродством к лиганду; 2. О негативной кооперативности в пуле рецепторов. Для оценки наличия кооперативности использовали координаты Хилла – логарифм отношения связанного лиганда к разнице между максимальным связыванием и этой величиной ($\lg B/B_{\max}-B$) против логарифма количества свободного лиганда ($\lg F$). Значение коэффициента Хилла $n < 1$ свидетельствует о наличии негативных взаимодействий, $n > 1$ – о позитивной кооперативности, $n = 1$ – об отсутствии кооперативных взаимодействий между рецепторами. Для исследованных нами моделей рецепторов коэффициент Хилла равнялся 1, что свидетельствовало об отсутствии кооперативных эффектов. В связи с этим, приняв альтернативное предположение о существовании нескольких пулов рецепторов, в дальнейшем анализе материала использовали метод Rosental, который позволил обособить в графике Скэтчарда две системы – низко- и высокоафинного связывания.

В печени, сердце, надпочечниках и головном мозге определяли содержание биогенных моноаминов: адреналина, норадреналина и дофамина по методу Y. Endo, Y.A. Odura [353]. Для связывания биогенных моноаминов была использована карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) фирмы Reanal, емкостью 0,6-0,8 мэкв/г. Окисление катехоламинов и дофамина производили методом, описанным G. Slabo et al. [374]. Спектрофотометрическое определение уровней биогенных моноаминов осуществлялось на спектрофотометре фирмы «Хитачи» МПФ-4 после колоночной хроматографии, по калибровочным графикам. Содержание тирозина, ДОФА, дофамина, адреналина, норадреналина, триптофана и серотонина в головном мозге определяли после их выделения хроматографическим методом на колонках с катионнообменной смолой (Dowex 50Wx4, 200-400 mesh, натриевая форма, параметры колонки $d=4$ мм, $h=75$ мм). Скорость протекания растворов через колонки не превышала 1 мл/мин. К

навеске ткани добавляли не меньше пяти объемов 0,2 М HClO_4 с 0,5% ЭДТА, гомогенизировали. Гомогенат оставляли на 20-30 минут на холоде, а потом центрифугировали. Центрифугат заливали, осадок промывали 1 мл 0,2 М HClO_4 с 0,5% ЭДТА и снова центрифугировали. Центрифугаты объединяли, нейтрализовали насыщенным раствором Na_2CO_3 до pH 6,0-6,5 и пропускали через колонки с последующим последовательным промыванием 15 мл H_2O . ДОФА и тирозин элюировали 10 мл 0,1 М натрий-цитратно-фосфатного буфера, который содержал 0,2 моль/л NaCl (pH 2,5), далее элюцию проводили 1 мл этого буфера с pH 4,5. Триптофан элюировали 17 мл 0,1 М натрий-фосфатного буфера (pH 6,5) с 0,1% ЭДТА. Для элюирования адреналина и норадреналина использовали 1н водную соляную кислоту объемом 12 мл. Дофамин элюировали 14 мл соляной кислоты в этаноле, смешанных в равных количествах. Серотонин экстрагировали N-этанольной (50%) HCl . Измерение проводили на спектрофлуориметре «Hitachi МПР-4 А». Тирозин определяли при длине волны возбуждения 285 нм и длине волны люминисценции 315 нм, триптофан – 290/345, ДОФА – 303/375, дофамин – 330-375, норадреналин – 395/485, адреналин – 445/490, серотонин – 303/330 нм. Этот метод использовали также и для определения содержания адреналина и норадреналина в сыворотке крови. Программа исследования предусматривала определение активности тромбоцитарной MAO-B по скорости образования продукта реакции дезаминирования – бензальдегида [267].

Изучение гормонального обмена у белых крыс проводили радиоиммунологическими методами с помощью соответствующих тест-систем. Содержание в сыворотке крови прогестерона, тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3), инсулина, глюкагона, а также глюкозы определяли, используя реактивы института биоорганической химии АН Беларуси; пролактина, АКТГ, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормона, эстрадиола, тестостерона – реактивы фирмы Oris industrie SA (Франция); ТТГ, СТГ –

реактивы фирмы Mallinckard Diagnostica (Германия); кальцитонина и паратирина – реактивы фирмы Amersham (Великобритания).

При изучении иммунологической реактивности на мышах линии (СВАхС57BL) · F₁, BALB/С с массой тела 21-25 г, по 20 животных в каждой группе, включая контроль (N=140), для количественной оценки клеточного звена иммунитета использовали иммунофлюоресцентный метод [77, 214, 380]. Определяли общую популяцию Т-лимфоцитов (CD3⁺), субпопуляции Т-лимфоцитов – Т-хелперы (CD4⁺), Т-супрессоры (CD8⁺) – и В-лимфоциты (CD19⁺) в крови. Активность Т- и В- лимфоцитов крови определяли методом розеткообразования, который базируется на взаимодействии мембранных рецепторов лимфоцитов с индикаторными клетками – эритроцитами барана. По количеству эритроцитов, адсорбированных одним лимфоцитом, судили о степени активности Т- и В- клеток. Определение Т-лимфоцитов проводили в реакции розеткообразования (Е-РОК), В-лимфоцитов – комплементарного розеткообразования (ЕАС-РОК). Гуморальное звено иммунитета мышей оценивали по содержанию иммуноглобулинов А, М, G, D, Е в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа по прилагаемым инструкциям на иммуноферментном анализаторе STAT FAX 303 (США).

Медиаторы иммунной системы – адьюванты иммунологических реакций, интерлейкины (IL-1 β , -2, -4, -6) и фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), – определяли в сыворотке крови с помощью твердофазного иммуноферментного анализа и использования диагностической тест-системы фирмы «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия). Исследование регуляторного цитокина IL-8 осуществляли с применением тест-системы фирмы «Diaclone» (Франция).

2.8. Интеграция биохимических коррелят, отражающих структурно-метаболические повреждения организма животных под влиянием олигоэфиров

Для выполнения 8-й задачи исследования проводили выявление критериально-значимых показателей по наиболее информативным

биохимическим коррелятам, отражающим процессы оксидантного и антиоксидантного взаимодействия, изучаемых структурно-метаболических нарушений и их механизмов, которые могут быть использованы для ранней диагностики патогенного действия олигоэфиров на организм. Определяли интенсивность СРП и ПОЛ по содержанию конечных и промежуточных продуктов окисления белков и липидов на фоне изучения системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма. В сыворотке крови, общепринятыми методами, определяли содержание карбонилированных белков – 2,4-ДНФАГ, 2,4-ДНФКГ, флюоресцирующих продуктов типа шиффовых оснований. Состояние оксидантно-антиоксидантного взаимодействия оценивали по содержанию в печени МДА, ДК и активности ферментов СОД, церулоплазмина, каталазы в сыворотке крови [19, 324].

Активность каталазы в крови и печени оценивали по Мешкову [245]. Активность пероксидазы определяли по скорости реакции окисления п-фенилендиамина перекисью водорода. Активность ГП оценивали по убыли Г – SH в цветной реакции на SH-группы с реактивом Элмана спектрофотометрически при $\lambda = 412$ нм. Активность ГТ, АсАТ и АлАТ, γ -ГТ аспаратаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1), аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2), γ -глутамилтранспептидазы (КФ 2.6.1.15) определяли общепринятыми методами [67].

Активность СОД (КФ 1.15.1.1) в сыворотке крови определяли по ее способности конкурировать с нитросиним тетразолием (НСТ) за супероксидные анион-радикалы, образующиеся в результате аэробного взаимодействия НАДН₃ и феназинметасульфата. В реакции НСТ с СО-радикалами происходит восстановление НСТ с образованием окрашенного гидразина тетразолия (синего формазана, $\lambda_{\max}=540$ нм). В присутствии СОД восстановление НСТ блокируется. Активность СОД в печени определяли по методу, описанному Брусовым О.С., Герасимовым А.М. и Панченко Л.Ф. [99].

Содержание церулоплазмينا в сыворотке крови определяли по методу Н.А. Rawin, описанному Колбом В.Г. и Камышниковым В.С. и основанному на том, что под действием церулоплазмينا бесцветная восстановленная форма парафенилендиамина окисляется в окрашенную синефиолетовую форму ($\lambda_{\max}=530\text{нм}$), а ферментативную его активность – по Мошкову [166, 195, 371]. Уровень острофазного белка гаптоглобина в сыворотке крови определяли по Архиповой О.Г.

Исследования в органах (сердце, печень) активности некоторых ферментов энергетического обмена – ЛДГ (КФ 1.1.1.27), СДГ (КФ 1.3.99.1), Г-6-ФДГ (КФ 1.1.1.49), ГК, ФФК, альдолазы, Г-6-Фазы, НАДФН-редуктазы, НАДФН-редуктазы (КФ 1.1.1.40) – и содержания гликогена в печени и митохондриальной фракции головного мозга проводили общепринятыми методами. Интенсивность окрашивания определяли спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

В сыворотке крови определяли свободные жирные кислоты общепринятыми методами [261, 268, 337].

Для исследования Na^+ , K^+ -АТФ-азной активности (КФ 3.6.1.3) в синаптосомальной фракции головного мозга и безъядерной фракции печени крыс 0,1 мл пробы вносили в инкубационную среду объемом 0,3 мл, инкубацию проводили при 37°C в течение 30 минут. Стандартная среда для определения активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы содержала: NaCl – 100 мМ, KCl – 20 мМ, трис- HCl (рН 7,6) – 50мМ, MgCl_2 – 2 мМ, CaCl_2 – 0,5 мМ, ЭДТА – 0,5 мМ и АТФ – 3 мМ. Реакцию останавливали добавлением 0,2 мл охлажденного 15% раствора ТХУ. Осаждение денатурированных белков осуществляли при 3500 g в течение 10 минут. Активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы определяли по разнице между содержанием неорганического фосфора в отсутствие и в присутствии в инкубационной среде 1 мМ уабаина. Активность Mg^{2+} -активированной АТФ-азы (КФ 3.6.1.4) и Ca^{2+} -активированной АТФ-азы (КФ 3.6.1.5) в безъядерной фракции печени определяли общепринятыми методами.

2.9. Коррекция структурно-метаболических нарушений организма животных под длительным влиянием олигоэфиров

Согласно 9-й задаче исследовали влияние предложенного нутритивного антирадикального и антиоксидантного комплекса на изучаемые эффекты и механизмы действия олигоэфиров, который может быть использован для коррекции возникших нарушений. Программа исследования предусматривала изучение состояния системно-антисистемного взаимодействия оксидантно-антиоксидантных процессов в динамике субтоксического влияния олигоэфира Л-501-2-100 и при использовании рациона питания животных, имеющего антирадикальную и антиперекисную направленность. В первую группу было включено 60 белых крыс, которые подвергались токсификации ксенобиотиком в дозе $1/100 LD_{50}$ и находились на стандартном рационе вивария (белки обеспечивали 18%, жиры – 26%, углеводы – 56% энергетической ценности). Во вторую группу было включено 60 животных, получавших в качестве добавки к рациону комплекс: 1500 ИЕ ретинола, 4,5 мг α -токоферола, по 15 мг – метионина, глутаминовой, лимонной и аскорбиновой кислот, 15 мг - зеленого чая и 75 мг фосфатидного концентрата в сутки на 1 животное. Третья группа была представлена контролем – 15 белых крыс. Динамическое наблюдение за состоянием животных осуществлялось на 15, 30, 45 и 60 сутки. В каждой опытной и контрольной группе насчитывалось по 15 белых крыс. Всего было использовано 135 животных. Оценка состояния системно-антисистемного взаимодействия осуществлялась по наиболее информативным биохимическим коррелятам, которые отражают процессы оксидантного и антиоксидантного взаимодействия организма животных. Об относительном уровне вторичных продуктов ПОЛ судили по накоплению МДА, который определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. МДА определяется спектрофотометрически (Ю.А. Владимиров и А.И. Арчаков) – по его способности при нагревании с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты) – методом, который

базируется на реакции между МДА и тиобарбитуровой кислотой (в условиях высокой температуры и кислой среды) в результате – с образованием окрашенного триметинового комплекса, с максимумом поглощения при длине волны 533 нм) [60]. Содержание ДК исследовали спектрофотометрическим методом, который основан на характерном их поглощении в ультрафиолетовой области спектра – 233 нм. Для определения брали 1,2 мл гомогената, прибавляли 1 мл трис-НСl буфера, 1,2 мл 30% ТХУ, 1,2 мл 0,75% тиобарбитуровой кислоты и 0,12 мл 5М НСl. Закрывали пробирку крышечками из фольги, ставили на кипящую водяную баню на 15 минут, охлаждали, центрифугировали при 1000-1500 g. В течение 10 минут измеряли оптическую плотность. Количество ТБК-активных продуктов рассчитывали исходя из молярного коэффициента экстинкции $\varepsilon=1,56 \cdot 10^5$ моль⁻¹ см⁻¹. Также в печени измеряли уровни цистеина, восстановленного и окисленного глутатиона. Восстановленный глутатион (Г-SH) и SH - группы в крови определяли спектрофотометрическим методом, основанным на применении реактива Элмана, который в реакции тиодисульфидного обмена легко восстанавливается SH – веществами, образуя окрашенный в желтый цвет тионитробензоат, $\lambda = 412$ нм в крови. Состояние СРП и ПОЛ изучали также методом регистрации интенсивности H₂O₂-индуцированной люминол-зависимой БХЛ сыворотки крови (H₂O₂ – ИЛЗБХЛ) с помощью медицинского хемиллюминометра ХЛМЦ1 – 01 [300].

Цифровой материал, полученный в результате диссертационного исследования, обработан математически с помощью пакета программ для обработки и анализа статистической информации Statistica 6.0. Первичную количественную статистическую обработку экспериментальных данных начинали с проверки предположения о соответствии распределения полученной выборки закону нормального распределения. Количественные признаки, которые имели нормальное распределение, описывали параметрическими характеристиками – средним значением исследуемого показателя (M) и

среднеквадратической ошибкой (m). Для описания тенденций изменений показателей рассчитывали также процентное соотношение. Для сравнения двух нормальных распределений использовали t -критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$ [73].

ГЛАВА 3

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СУБТОКСИЧЕСКОМ ВЛИЯНИИ ОЛИГОЭФИРОВ

3.1. Состояние физико-химических и структурно-метаболических свойств биологических мембран в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров

Известно, что многие предпатологические и патологические состояния проявляются функциональной и структурной дезорганизацией мембранно-структурированных метаболических комплексов. Среди причин изменения структуры и функции мембран при действии токсических химических веществ важное место занимает усиление СРП и ПОЛ, приводящее к разрушению мембранных структур, модификации клеточных белков и развитию ряда патологических состояний [38, 59, 320]. При этом особо подчеркивается значение цитоплазматических мембран и их рецепторов как активных регуляторов внутриклеточного метаболизма через «вторичных» посредников, воспринимающих и передающих в клетку сигналы от рецепторного аппарата мембран. Изменения структурных компонентов мембран под влиянием чужеродных химических факторов, особенно фосфолипидов, белков, могут служить сигналом для «вторичных» посредников о необходимости функциональной перестройки клетки. Что касается фосфолипидов, то это связано с представлением о них, как о регуляторах активности мембрано-связанных, липидзависимых ферментов. При этом следует подчеркнуть, что постоянно идущие процессы синтеза и распада сложных биоорганических веществ обуславливают стабильность весьма лабильных структур организма, их воспроизводство, обновление и умножение, необходимые для поддержания

гомеостаза, ведущим фактором в котором выступает метаболизм. В связи с тесным единством структуры, функции и метаболизма поиск критериально-значимых показателей предпатологического состояния организма следует проводить, прежде всего, изучая структурно-функциональные особенности клеточных мембран и механизмы регуляции жизнедеятельности органов-мишеней при действии на организм олигоэфиров [216, 258]. Изменения структурно-метаболических и физико-химических свойств мембран сопряжено с развитием деструктивных процессов, что наблюдается при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы, хирургических вмешательствах, аллергических реакциях, нарушениях нейроэндокринной регуляции обмена веществ, иммунологической недостаточности и ряде других патологических состояний, в том числе, связанных с воздействием на организм физических и химических факторов. Имеющиеся экспериментальные и клинические данные свидетельствуют, что в основе развития многих болезней лежит мембранная патология и связанные с ней нарушения внутриклеточного метаболизма и ядерно-цитоплазматического взаимодействия, формирующие характерные признаки того или иного заболевания. Изучение структурно-функционального состояния клеточных мембран, в условиях воздействия вредных антропогенных факторов на организм, является прогностической основой в донозологической диагностике предпатологических состояний. При этом особую актуальность приобретают исследования механизмов повреждающего действия химических веществ в субтоксических дозах, установление наиболее повреждаемых органов, систем и функций организма с целью разработки мероприятий по повышению неспецифической резистентности и укреплению здоровья населения.

Изучение влияния субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната Лт - 803 в подостром эксперименте на структурно-метаболические и физико-химические свойства мембран и обоснование наиболее чувствительных показателей в донозологической диагностике мембранной патологии было

проведено в соответствии с задачами диссертационного исследования. Изучение активности СРП и ПОЛ обнаружило увеличение в подостром эксперименте интенсивности спонтанной хемилюминисценции (СХЛ) и индуцированной хемилюминисценции перекисью водорода (H_2O_2 -ИХЛ), хлорным железом ($FeCl_3$ -ИХЛ) сыворотки крови животных, подвергавшихся пероральному воздействию олигоэфиром в дозах 1/100 и 1/1000 LD_{50} . Наиболее высокие уровни интенсивности БХЛ сыворотки крови наблюдались в условиях индукции СРП и ПОЛ люминолом, то есть при люминолзависимой хемилюминисценции (табл.3.1).

Таблица 3.1

Влияние олигоэфирциклокарбоната на интенсивность БХЛ сыворотки крови в подостром опыте

| Показатели | Вещество, $M \pm m$, LD_{50} | | |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| СХЛ | 118,4±7,5 | 305,7±11,6* | 274,8±9,7* |
| H_2O_2 -ИХЛ | 615,3±12,8 | 1388,7±31,5* | 1263,7±21,2* |
| Лт – 803 – ИХЛ | 573,8±9,3 | 1523,8±33,6* | 1325,6±18,3* |
| Люминол-зависимая H_2O_2 -ИХЛ | 1417,5±22,4 | 2174,5±42,3* | 1228,4±23,6* |
| Люминол зависимая $FeCl_3$ -ИХЛ | 1346,2±27,5 | 2105,6±39,7* | 1815,7±32,4* |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Результаты исследований интенсивности БХЛ свидетельствуют, что олигоэфир марки Лт – 803 стимулирует в условиях подострого опыта СРП, ПОЛ как в дозе 1/100 LD_{50} , так и 1/1000 LD_{50} . Эти данные подтверждают исследования о накоплении в организме подопытных животных АФК, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, которые способны ингибировать АОС и формировать развитие молекулярной мембранной патологии. Повышение уровней интенсивности люминолзависимой хемилюминисценции, индуцированной H_2O_2 и $FeCl_3$ подтверждает цепной свободнорадикальный характер происходящих явлений в биологических

системах, которые впоследствии активируют ПОЛ и окислительную модификацию белков, нуклеиновых кислот и др. Исследования показывают, что в условиях подострой интоксикации олигоэфирами образуется супероксидный анион радикал кислорода ($O^{\cdot-}$) и гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), которые сопряжены с наличием высоких уровней возбужденных электронных состояний. Высокие энергетические уровни триплетного состояния электронов в белках подтверждались нами изучением флуоресценции сыворотки крови опытных и контрольных животных, а многими авторами методом электронного-парамагнитного резонанса. Наличие высоких уровней триплетных возбужденных молекул, обусловленных неспаренными электронами, может свидетельствовать об изменении конформации белковых молекул, присутствующих в сыворотке крови и связанных с окислительной их модификацией под влиянием ксенобиотиков. Измерение интенсивности флуоресценции сыворотки крови опытных групп животных выявило существенные различия ее уровней при длинах волн возбуждения 297, 313, 334, 365, 404 и 434 нм. Особенно значимым было повышение интенсивности флуоресценции в длинноволновой ($\lambda=434$ нм) и коротковолновой ($\lambda=313$ нм) областях возбуждения (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Интенсивность флуоресценции сыворотки крови животных, подвергавшихся воздействию олигоэфира в дозе 1/100 LD₅₀ в подостром опыте

| Спектры возбуждения (нм) | Группа животных, М±m (имп/сек) | |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------|
| | Контроль | Лт – 803 |
| 297 | 4270,6±58,2 | 4826,3±48,2* |
| 313 | 262,4±36,7 | 3857,2±54,8* |
| 334 | 638,7±24,8 | 893,4±21,5* |
| 365 | 1890,4±41,7 | 2236,8±28,2* |
| 404 | 442,5±20,3 | 695,3±16,7* |
| 434 | 605,3±17,2 | 995,4±15,8* |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Результаты оценки интенсивности флуоресценции сыворотки крови показывают, что при субхроническом воздействии на организм субтоксических доз ксенобиотиков отмечается увеличение в сыворотке крови молекул, находящихся в триплетном возбужденном состоянии, то есть молекул, имеющих два неспаренных электрона. Эти молекулы имеют большую продолжительность жизни и лишь по истечении сравнительно большого отрезка времени ($10^{-4} - 10^{-2}$) излучают свет и переходят на низкий невозбужденный синглетный уровень [256, 268, 269, 287].

Появление в длинноволновой области возбуждения повышенного количества молекул в триплетном состоянии может, по всей видимости, свидетельствовать о разобщении окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания, которое сопровождается увеличением рассеивания тепла в организме экспериментальных животных под влиянием олигоэфира в дозе $1/100 LD_{50}$.

Наличие в сыворотке крови молекул, имеющих высокий уровень триплетных возбужденных состояний, обусловленных присутствием неспаренных электронов, может указывать на изменение конформационных свойств белковых молекул, присутствующих в сыворотке, что неизбежно связано с нарушением структурно-метаболических процессов и развитием тканевой гипоксии. Исследования выявили активацию под влиянием ксенобиотиков окислительных процессов, формирующих в организме дистрофические и деструктивные нарушения со стороны клеточных и внутриклеточных структурно-функциональных единиц. Следует отметить, что на фоне увеличения уровней интенсивности БХЛ и флуоресценции, отмечалось повышение содержания в сыворотке крови и печени МДА и ДК в опытных группах животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиром в дозе $1/100 LD_{50}$. Доза $1/1000 LD_{50}$ не оказывала воздействие на динамику продуктов ПОЛ (табл. 3.3).

Таблица 3.3

Влияние олигоэфира на состояние ПОЛ в подостром опыте

| Показатели | Вещества, $M \pm m$, LD ₅₀ | | |
|------------------------------|--|------------|-----------|
| | Контроль | ЛГ – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| МДА (мкмоль /кг), печень | 51,7±2,4 | 168,7±8,3* | 49,8±2,63 |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 5,15±0,42 | 15,3±1,1* | 4,97±0,46 |
| ДК(мкмоль/л), сыворотка | 24,3±1,65 | 47,3±4,10* | 25,6±2,10 |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Учитывая, что исследуемые соединения содержат гидрофильные группы и гидрофобные радикалы, обеспечивающие поверхностно-активные свойства молекулы, можно предположить вероятность первоочередного влияния этих ксенобиотиков на белковые и липидные компоненты мембран.

В этой связи было проведено определение процентного содержания фракций фосфолипидов в эритроцитах и гепатоцитах методом двумерной тонкослойной хроматографии. Результаты исследования выявили, что олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ нарушал динамику процентного содержания фракций фосфолипидов мембран эритроцитов и гепатоцитов. Действие ксенобиотика на фосфолипиды характеризовалось снижением содержания ФЭА, СМ, ФИ, ФС и повышением процентного содержания ФХ, ЛФХ, ЛФЭА и КЛ. Характерным свойством этих изменений в структуре мембран явилось повышение лизоформ фосфолипидов, что служило важным подтверждением структурных нарушений и появление высокотоксичных метаболитов обмена липидов. Следует отметить, что олигоэфир вызывал наиболее значимые изменения соотношения фракций фосфолипидов в эритроцитах, по сравнению с гепатоцитами. Это связано, по всей вероятности с низким уровнем репаративных и синтетических процессов, происходящих в мембранах исследуемых безъядерных клеток – эритроцитов (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Влияние олигоэфира Лт - 803 в дозе 1/100 LD₅₀ на процентное содержание фосфолипидов

| Показа тели | Группа животных, М±m, (ткани) | | | |
|----------------|-------------------------------|------------|------------|------------|
| | Эритроциты | | Гепатоциты | |
| | Контроль | Лт – 803 | Контроль | Лт – 803 |
| ФЭА | 22,53±1,1 | 18,2±0,83* | 20,2±1,02 | 15,3±0,79* |
| ФХ | 40,1±1,32 | 46,5±1,41* | 37,6±1,2 | 48,2±1,3* |
| СМ | 16,3±0,9 | 14,2±0,72* | 15,5±1,1 | 12,4±0,72* |
| ФС | 11,83±0,71 | 8,1±0,53* | 15,3±1,2 | 11,2±0,67* |
| ЛФЭА | 1,12±0,06 | 3,9±0,52* | 1,2±0,07 | 3,7±0,26* |
| ЛФХ | 1,41±0,05 | 3,5±0,33* | 1,13±0,05 | 4,13±0,33* |
| ФИ | 6,24±0,65 | 3,72±0,28* | 7,26±0,63 | 3,65±0,26* |
| КЛ | 0,52±0,03 | 1,32±0,03* | 0,46±0,05 | 1,580,128 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

В ходе проведенного исследования было установлено, что олигоэфир Лт - 803 по окончанию подострого опыта приводил к снижению текучести мембран и коэффициента эксимеризации пирена в цитоплазматических мембранах клеток (эритроциты, лимфоциты) по сравнению с уровнем контрольной группы животных. Этому процессу в большей степени были подвержены эритроцитарные мембраны, в которых существенные изменения установлены в липидном биослое и в зоне белок-липидных контактов. В зависимости от дозы воздействия вещества, текучесть мембран могла снижаться до 70% (табл. 3.5).

Таблица 3.5

Влияние олигоэфиров на текучесть мембран (коэффициент эксимеризации λ – испуск. – 470 нм/ λ – испуск. 393 нм) под воздействием 1/100 LD₅₀

| Группа наблюдения | Показатели, М±m | | | |
|----------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|
| | Лимфоциты | | Эритроциты | |
| | Белок- липидные контакты | Липидный бислой | Белок- липидные контакты | Липидный бислой |
| Контроль | 3,82±0,27 | 3,76±0,22 | 2,98±0,06 | 2,94±0,04 |
| Лт – 803 | 1,82±0,06* | 1,76±0,13* | 1,36±0,05* | 1,43±0,03* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Результаты исследований обнаружили, что в лимфоцитах снижение текучести мембран затрагивало преимущественно липидный бислой. Кроме того, следует отметить и повышение погруженности белков в липидный бислой мембран эритроцитов и лимфоцитов.

В большей степени эти изменения затрагивали мембраны эритроцитов. Установленные нарушения структурно-функционального состояния мембран можно экстраполировать на активность мембрано-структурированных ферментов, выполняющих важную транспортную функцию субстратов обмена, а также ионов металлов, что является прогностически значимым показателем изменения внутриклеточного метаболизма под влиянием исследуемых ксенобиотиков.

Исследования обнаружили более значимые изменения текучести и погруженности белков в липидный матрикс мембран эритроцитов, чем это проявляется в лимфоцитарных мембранах. Анализ интенсивности флуоресценции 1-анилина-8 нафталинсульфата (1, 8 АНС-флуоресцентный зонд) в лимфоцитах и эритроцитах, отражающей изменение поверхностного заряда плазматических мембран, существенно снижалась в группах опытных животных.

Падение уровня флуоресценции может свидетельствовать о том, что исследуемые вещества способны вызывать развитие гиперполяризации клеточных мембран и изменять их физико-химические свойства. Снижение уровней интенсивности флуоресценции находилось в интервале от 30 до 90%. Анализ научной литературы показывает, что снижение флуоресценции может быть связано с увеличением полярности мембран за счет дегидратации белковых молекул и накопления воды в мембранных структурах [62].

Подострое поступление олигофиоров в организм опытных животных стимулировало окислительную модификацию белков, что подтверждалось увеличением в сыворотке крови альдо- и кетогидразонов и являлось свидетельством активации СРП, а также сопряженности с ними ПОЛ. Эти

данные указывают, что олигоэфиры стимулируют не только ПОЛ, СРП, но и окислительную модификацию белковых молекул (рис.3.1.).

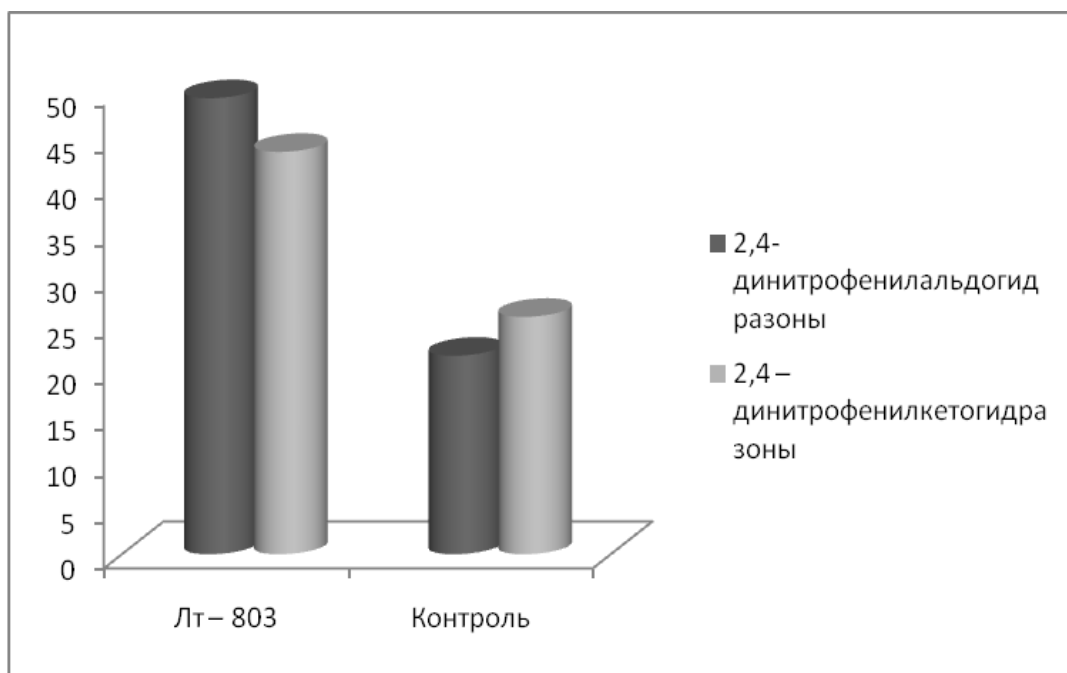


Рис.3.1. Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ в подостром опыте на окислительную модификацию белков.

Длительное, на протяжении 45 суток, пероральное поступление ксенобиотиков в организм опытных животных сопровождалось формированием глубоких структурно-метаболических нарушений плазматических мембран, в том числе ионной проницаемости.

Исследования обнаружили, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ повышали самопроизвольный и индуцированный валиномицином выход ионов K⁺ из эритроцитов, что в комплексе с установленными изменениями свидетельствовало о нарушении структурно-функциональной организации их мембран (табл. 3.6). Следует отметить, что потоки самопроизвольного выхода ионов K⁺ повышались в сравнении с контрольной группой наблюдения более чем в 6 раз. Было установлено, что олигоэфиры значительно сильнее оказывали влияние именно на самопроизвольный выход ионов K⁺ из эритроцитов. В меньшей

степени вещества изменяли индуцированный валиномицином выход из эритроцитов ионов K^+ .

Таблица 3.6

Влияние олигоэфира Лт - 803 в дозе 1/100 LD₅₀ на самопроизвольный и индуцированный валиномицином выход K^+ из эритроцитов (мин), $M \pm m$

| Группа наблюдения | Скорость самопроизвольного выхода ионов K^+ из эритроцитов | Скорость индуцированного валиномицином выхода ионов K^+ из эритроцитов | Суммарное количество ионов K^+ на 1 млн. эритроцитов |
|-------------------|--|--|--|
| Контроль | 0,54±0,012 | 6,4±0,38 | 17,80±1,65 |
| Лт – 803 | 6,59±0,48* | 15,32±1,44* | 90,38±5,65* |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Анализ полученных результатов свидетельствует, что олигоэфир марки Лт – 803 в подостром эксперименте под влиянием субтоксической дозы – 1/100 LD₅₀ – стимулирует СРП, ПОЛ, окислительную модификацию белков, изменяет конформационные свойства макромолекул и проводит к накоплению альдегидов, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, которые способны нарушать структурно-метаболические и физико-химические свойства цитоплазматических мембран, что неизбежно может привести к изменению внутриклеточного метаболизма и развитию патологических состояний.

3.2. Влияние олигоэфиров на состояние системно-антисистемного взаимодействия свободнорадикальных процессов, перекисного окисления липидов, белков и антиоксидантной системы

Улучшение качества жизни человека неотъемлемо связано с ростом научно-технического прогресса. Современная жизнь невозможна без бытового и производственного комфорта, который состоит из лаков, красок, строительных материалов на основе полиуретана, мебели, искусственной кожи как обивки и одежды, офисной техники, автомашин и технических жидкостей. Перечисленные атрибуты комфорта получают из олигоэфиров на основе окиси

этилена и пропилена, которые непосредственно оказывают патогенное действие на различные биосистемы, что явилось объектом настоящего исследования.

Возросшая химическая нагрузка на биосферу и человека диктует необходимость оперативного выявления нарушений гомеостатической функции организма на ранних этапах формирования предпатологических состояний. Методологической основой при этом может быть разработка экспресс-тестов для установления ранних признаков развития молекулярной-мембранной патологии, которая лежит в основе формирования экологически обусловленных заболеваний. В этой связи, актуальным является изучение патогенеза структурно-метаболических нарушений под влиянием олигоэфиров в концепции время/доза/эффект воздействия и выявление ведущих метаболических показателей на основе системно-антисистемной оценки состояний гомеостаза. Необходимость изучения системно-антисистемных взаимодействий диктуется, прежде всего, их важностью в обеспечении постоянства внутренней среды организма и прогностической оценкой возможного риска развития дисфункции оксидантно-антиоксидантной системы, которые формируют мембранную патологию.

По мнению многих авторов, ведущим патогенетическим звеном в развитии метаболических нарушений выступает активация СРП и ПОЛ. Это, прежде всего, относится к сахарному диабету, атеросклерозу, воспалительным заболеваниям и др. [58, 77, 79, 159, 247]. Нарушения в указанном звене метаболизма, могут снижать устойчивость организма к воздействию неблагоприятных антропогенных факторов и создавать предпосылки к ускоренному течению заболеваний. Характерной и специфической особенностью активации СРП и ПОЛ является повреждение биологических мембран, ингибирование АОС, которые сопряжены с развитием дистрофических и деструктивных процессов. Вместе с тем, следует отметить, что активация СРП и ПОЛ является важным звеном анаболических и катаболических процессов в организме в целом. Такие важнейшие процессы, как перенос электронов в

дыхательной цепи, окислительное фосфорилирование, ацетилирование, метилирование, гидрокселирование ряда субстратов эндо-и экзогенного происхождения ферментными системами эндоплазматической сети и даже деление клеток сопровождаются определенными изменениями в интенсивности СРП и ПОЛ. Липидные перекиси являются нормальными и необходимыми продуктами при биосинтезе простагландинов, лейкотриенов, некоторых стероидных гормонов, участвуют в гидрокселировании стерольного кольца холестерина. Вместе с тем, в литературе имеется много данных, свидетельствующих об участии липоперекисей в развитии различных патологических процессов (радиационные поражения, злокачественный рост клеток, отравления токсическими веществами, воспалительные процессы и др.). При повышении уровней липоперекисей может ингибироваться ряд ферментов, увеличиваться проницаемость мембран, уменьшаться количество SH-групп, что сопряжено с замедлением деления клеток и восстановительных синтезов. Результаты многих исследований убедительно показывают, что ксенобиотики активируют ПОЛ, ингибируют АОС и вызывают структурно-метаболические нарушения в различных органах и тканях и формируют развитие мембранной патологии [159, 228, 274, 304].

Нарушение состояния АОС тесно связано с формированием многих заболеваний и патологических процессов. По мнению многих исследователей, активация СРП и ПОЛ, является патогенетическим фактором мембранной патологии и ведущим звеном в развитии подавляющего числа метаболически-обусловленных заболеваний. Нарушения в данном звене метаболизма могут значительно влиять на резистентность организма к воздействию неблагоприятных факторов, в том числе химических веществ, и создавать условия ускоренного его старения [138, 149, 153]. Характерной особенностью свободнорадикальной патологии является повреждение биологических мембран, ингибирование АОС, активация СРП и ПОЛ. Однако следует отметить, что ПОЛ является важным звеном метаболизма для

физиологического функционирования мембран и организма в целом. Такие важнейшие процессы, как перенос электронов в дыхательной цепи, окислительное фосфорилирование и синтез АТФ, гидрокселирование значительного количества субстратов экзогенного и эндогенного происхождения ферментными системами эндоплазматического ретикулума, и, даже, деление клеток сопровождаются определенными изменениями в интенсивности течения СРП и ПОЛ. При повышении в организме количества метаболитов ПОЛ и СРП может ингибироваться ряд ферментов антирадикальной защиты, увеличивается проницаемость мембран, уменьшается количество SH-групп, глутатиона, цистеина, что будет способствовать замедлению деления и обновления клеток, а также восстановительных синтезов.

Усиление процессов ПОЛ может быть сопряжено с образованием большого количества свободных радикалов, АФК и других реакционноспособных молекул – альдегидов, кетонов, эпоксидов, которые могут ковалентно взаимодействовать с отдельными функциональными группами белков и нуклеиновых кислот. Это способно приводить к их полимеризации, разрушению, модификации, изменению активности, конформационных свойств, что неизбежно формирует метаболические нарушения. Возможно развитие отдаленных последствий их влияния – мутагенные, тератогенные и канцерогенные эффекты. Ряд авторов показали важное значение в антирадикальной и антипероксидной защите организма гаптоглобина, глутатиона, серусодержащих аминокислот, свободных SH-групп, которые тормозят накопление ДК, МДА, перекисей, гидроперекисей и свободных радикалов, предотвращая развитие молекулярной свободнорадикальной патологии. Имеющиеся сведения по параметрам их острой токсичности не раскрывают патофизиологических основ развития структурно-метаболических нарушений гомеостатической функции организма [114, 152, 190, 196, 197, 216, 338]. При этом сами структурно-метаболические нарушения

для новой группы олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена совершенно не исследованы, что представляет самостоятельную актуальную медико-биологическую проблему. Исходя из задач диссертационного исследования, проведено изучение состояния АОС и процессов детоксикации в печени и обоснование информативных показателей ее дисфункции; исследование состояния кооперативного взаимодействия окислительно-антиоксидантной системы и обоснование критериально-значимых показателей диагностики молекулярной патологии; выявление состояния окислительно-антиоксидантного гомеостаза в условиях подострого опыта и определение наиболее значимых показателей развития свободнорадикальной патологии; обоснование прогностических критериев развития свободнорадикальной мембранной патологии. Олигоэфиры, попадая в организм подвергаются биотрансформации с помощью ферментативной системы и, метаболизируясь и ослабляя токсичность за счет внутренних резервов, выводятся из организма. Первичными процессами, осуществляющими метаболизм олигоэфиров, являются их гидролиз и окислительно-восстановительные реакции. Сбалансированное действие активаторов и тормозных систем представляет собой динамическую, непрерывную и одновременно ясную систему: активации ↔ тормоза. Примером динамической системы является окислительно-антиоксидантные взаимодействия при действии на организм ксенобиотиков. Исследование выявило существенные изменения активности антиоксидантной и прооксидантной системы у крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀. При 1/1000 LD₅₀ ксенобиотики не оказывали влияния на указанные оценочные показатели. Результаты изучения воздействия олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀ на состояние окислительно-антиоксидантного гомеостаза представлены в табл. 3.7. Как видим, ксенобиотики в сыворотке крови повышали в целом содержание 2,4-ДНФАГ, 2,4-ДНФКГ, шиффовых оснований, ДК, МДА и активность ферментов АлАТ, АсАТ, γ-ГТ.

Таблица 3.7

Подострое воздействие олигоэфиров при дозе 1/10 LD₅₀ на показатели оксидантно-антиоксидантного гомеостаза в организме белых крыс

| Показатели (сыворотка, кровь) | Группа наблюдения, M±m | | | |
|---|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| 2,4-ДФАГ (ед.опт.плотн/1г белка, л=370нм),сыворотка | 26,5±2,4 | 47,30±3,5* | 36,82±1,73* | 41,35±2,68* |
| 2,4-ДФКГ (ед.опт.плотн/1г белка, л=370нм),сыворотка | 22,8±1,7 | 45,74±3,2* | 34,73±2,65* | 39,46±3,17* |
| Шиффовы основания (мкмоль/л), сыворотка | 270,4±9,5 | 388,3±17,6* | 325,6±12,8* | 348,7±15,3* |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 20,3±1,6 | 41,32±3,60* | 92,14±2,63* | 36,18±2,74* |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 4,95±0,53 | 17,6±1,4* | 12,7±0,96* | 14,5±1,23* |
| Г – SH (мкмоль/л), кровь | 2,340,16 | 0,72±0,05* | 0,96±0,06* | 1,14±0,12* |
| SH-групп (мкмоль/л), сыворотка | 24,7±1,8 | 10,6±1,4* | 13,6±1,7* | 15,2±1,2* |
| Гаптоглобин (г/л), сыворотка | 1,73±0,16 | 0,78±0,06* | 1,1±0,08* | 0,9±0,05* |
| Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка | 2,15±0,23 | 0,86±0,05* | 1,48±0,13* | 1,23±0,10* |
| Каталаза (мкат/г Нв), кровь | 7,3±0,62 | 3,9±0,25* | 5,1±0,46* | 4,2±0,35* |
| СОД (ЕД/ мл сыворотки·мин) | 1,68±0,05 | 0,74±0,04* | 1,23±0,07* | 0,92±0,05* |
| ГП (мкмоль/мл сыворотки·мин) | 9,4±0,58 | 5,10±0,48* | 7,15±0,68* | 6,24±0,53* |
| ГТ (нмоль/мл сыворотки·мин) | 38,6±2,8 | 15,43±0,97* | 21,18±1,14* | 17,28±1,32* |
| АсАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,67±0,05 | 2,58±0,32* | 1,96±0,12* | 2,25±0,18* |
| АлАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,540,63 | 2,34±0,26* | 1,78±0,16* | 2,14±0,21* |
| γ-ГТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 1,75±0,14 | 2,83±0,32* | 2,45±0,22* | 2,63±0,19* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p<0,05.

На этом фоне отмечалось снижение уровней Г – SH, SH-групп, гаптоглобина, церулоплазмина и активности каталазы, СОД, ГП, ГТ. Более конкретно, выявлено повышение содержания 2,4-ДФКГ – на 78,5 %; 38,9 % и 56,1%; 2,4-ДФКГ – 100,6 %; 52,3 % и 73,07 %; шиффовых оснований – 43,6 %; 20,4 % и 28,96 %; ДК – 103,5 %; 58,3 % и 78,2 %; МДА– 255,5 %; 156,5 % и 192,9 %; а также активности АсАТ – на 285,1 %; 192,5 % и 235,8 %, АлАТ – на 333,3 %; 229,6 % и 296,3 %; γ -ГТ – на 61,7 %; 40,1 % и 50,3 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» по сравнению с показателями контрольной группы. При этом концентрации Г – SH снижались – на 69,24 %; 58,9 % и 51,3 %; SH-групп – 57,1 %; 44,9 % и 38,5 %; гаптоглобина – 54,9 %; 36,4 % и 47,9 %; церулоплазмина – 60 %; 31,15 % и 42,8%; активность каталазы уменьшалась на 46,6%; 30,15% и 42,5%; СОД – на 56,96 %; 26,8% и 45,24 %; ГП – 45,75%; 23,9 4 % и 33,6 %; ГТ – 60,03 %; 45,13% и 55,24 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Анализ полученных результатов обнаружил, что олигоэфиры Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в дозе 1/10 LD₅₀ оказывают значительное воздействие, активируя СРП, ПОЛ, белков и ингибируя систему антирадикальной и антиперекисной защиты организма. Изучаемые ксенобиотики приводят к истощению активности АОС и нарушению функции органов их детоксикации, в первую очередь, печени, что свидетельствует о срыве защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостаза. Динамика оценочных показателей оксидантно-антиоксидантного взаимодействия в условиях воздействия на организм Лт - 803 и Л - 2501-2-50 в 1/10 LD₅₀ имела похожий характер. Наблюдалось повышение в крови содержания ДК, МДА, свободных SH-групп и снижение уровня гаптоглобина, церулоплазмина, Г – SH. При этом отмечалось снижение активности ферментов антирадикальной и антиперекисной защиты – СОД, ГП, каталазы, пероксидазы (табл. 3.8). Установленная динамика исследуемых показателей может свидетельствовать о том, что олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ приводят к истощению АОС и развитию дистрофических и деструктивных процессов.

Таблица 3.8.

Влияние олигоэфира Лт - 803 на состояние АОС белых крыс при дозе 1/10 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения М±m | | |
|-------------------------------------|-----------------------|------------|---------------|
| | Контроль | Лт – 803 | Л - 2501-2-50 |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 32,7±3,8 | 65,2±5,3* | 68,4±5,7* |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 10,6±1,2 | 29,6±1,8* | 34,6±3,2* |
| Каталаза (мкат/г Нв), кровь | 6,4±0,57 | 3,5±0,43* | 3,9±0,37* |
| Пероксидаза (мкат/г Нв), кровь | 8,8±0,82 | 6,2±0,48* | 5,7±0,43* |
| СОД (мкат/г Нв), кровь | 0,64±0,07 | 0,28±0,02* | 0,36±0,04* |
| ГП(мкат/г Нв), кровь | 7,1±0,65 | 4,7±0,35* | 5,2±0,46* |
| Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка | 2,4±0,12 | 0,87±0,06* | 1,4±0,08* |
| Г – SH (ммоль/л), кровь | 1,7±0,06 | 1,1±0,07* | 1,2±0,06* |
| SH-группы (ммоль/л), кровь | 27,5±1,8 | 41,61,5* | 44,7±1,8* |
| Гаптоглобин (г/л), сыворотка | 1,9±0,07 | 0,790,06* | 0,85±0,05* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Так, содержание ДК повышалось в сыворотке крови – на 99,38 % и 109,17 %, МДА – на 179,24 % и 226,4 %, SH-групп – на 51,27 % и 62,54 %, как результат формирования мембранной патологии, на фоне снижения уровня гаптоглобина – на 58,43 % и 54,74 %, Г – SH – на 35,30 % и 29,42 %, соответственно под влиянием Лт - 803 и Л - 2501-2-50. Исследуемые ксенобиотики снижали активность каталазы – на 45,32 % и 39,07 %, пероксидазы – на 29,55 % и 35,23%, СОД – на 56,25 % и 43,75 %, ГП – на 33,81 % и 26,77%, церулоплазмина – на 63,75 % и 41,66 %, соответственно в условиях воздействия Лт - 803 и Л - 2501-2-50. При воздействии на животных дозы олигоэфиров Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» в дозе 1/100 LD₅₀ наблюдалась иная динамика оценочных показателей: все вещества усиливали СРП, ПОЛ и активность системы антиоксидантной защиты (табл. 3.9).

Таблица 3.9

Влияние олигоэфиров на показатели оксидантно-антиоксидантного гомеостаза белых крыс в условиях подострого эксперимента при дозе 1/100 LD₅₀

| Показатели (сыворотка, кровь) | Группа наблюдения, M±m | | | |
|---|------------------------|-------------|--------------------|--------------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| 2,4-ДНФАГ (ед.опт.плотн/1г белка,λ=370нм),сыворотка | 26,5±2,4 | 37,8±2,2* | 35,4±1,6* | 32,7±2,1* |
| 2,4-ДНФКГ (ед.опт.плотн/1г белка,λ=370нм),сыворотка | 22,8±1,7 | 35,4±1,9* | 30,8±2,4* | 32,3±1,7* |
| Шиффовы основания (мкмоль/л), сыворотка | 270,4±9,5 | 328,3±12,5* | 310,4±15,6* | 330,4±10,8* |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 20,3±1,6 | 33,4±2,8* | 28,7±1,4* | 26,5±2,10* |
| МДА(мкмоль/л), сыворотка | 4,95±0,53 | 10,7±0,84* | 9,6±0,73* | 11,7±1,3* |
| Г – SH (мкмоль/л), кровь | 2,34±0,16 | 2,68±0,14* | 2,79±0,16* | 2,88±0,21* |
| SH-групп (мкмоль/л), сыворотка | 24,7±1,8 | 29,5±1,3* | 28,6±1,10* | 31,5±2,15* |
| Гаптоглобин (г/л), сыворотка | 1,73±0,16 | 2,54±0,18* | 2,63±0,21* | 2,77±0,17* |
| Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка | 2,15±0,23 | 3,10±0,24* | 2,75±0,15* | 2,86±0,27* |
| Каталаза (мкат/г Нв), кровь | 7,3±0,62 | 8,9±0,56* | 9,10±0,74* | 9,34±0,68* |
| СОД (ЕД/ мл сыворотки·мин) | 1,68±0,05 | 2,73±0,24* | 2,59±0,18* | 2,47±0,22* |
| ГП (мкмоль/мл сыворотки·мин) | 9,4±0,58 | 12,72±0,83* | 14,53±0,95* | 13,86±0,73* |
| ГТ (нмоль/мл сыворотки·мин) | 38,6±2,8 | 45,32±2,4* | 46,51±2,72* | 44,83±1,97* |
| АсАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,67±0,05 | 1,35±0,09* | 1,46±0,13* | 1,58±0,16* |
| АлАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,54±0,03 | 1,18±0,07* | 1,23±0,09* | 1,35±0,14* |
| γ-ГТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 1,75±0,14 | 2,38±0,17* | 2,44±0,21* | 2,25±0,19* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p<0,05.

Так, выявлено в сыворотке крови повышение содержания 2,4-ДНФАГ – на 42,64 %; 33,6 % и 23,4 %; 2,4-ДНФКГ – на 52,26 %; 35,1% и 41,6 %; шиффовых оснований – 21,4 %; 14,8 % и 22,2 %; ДК – 64,5%; 41,4% и 30,54%; МДА – 145,9 %; 93,9% и 136,4 %; Г – SH – 14,53%; 19,2 % и 23,07 %; SH-групп – 19,43 %; 15,8 % и 27,5 %; гаптоглобина – 46,8 %; 52,02 % и 60,1 %; церулоплазмина – 44,2 %; 27,9% и 33,02 %; активность каталазы повышалас – на 21,9%; 24,6% и 27,9%, СОД – 36,9 %; 54,15 % и 47,02 %, ГП – 35,3 %; 54,6 % и 47,4 %: ГТ – 17,4 %; 20,5% и 16,13 %, АсАТ – 101,5%; 117,9% и 135,8%, АлАТ – 118,5%;127,7% и 150% и γ - ГТ – 36%; 39,4% и 28,6%, соответственно под воздействием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» по сравнению с показателями референтной группы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне усиления СРП и ПОЛ в организме подопытных животных активированы антиокислительные механизмы и система детоксикации ксенобиотиков под влиянием дозы 1/100 LD₅₀, в то время как при дозе 1/10 LD₅₀ олигоэфиры вызывают ингибирование антиоксидантной и активацию прооксидантной систем.

Результаты исследования состояния оксидантно-антиоксидантного гомеостаза в условиях подострого опыта и определение наиболее значимых показателей развития свободнорадикальной патологии у животных, подвергавшихся воздействию олигоэфироми Лт - 803 и Л - 2501-2-50, выявили, что ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ повышали в крови содержание ДК, МДА, гаптоглобина, активность ферментов каталазы, преоксидазы, СОД, ГП и снижали содержание SH-группы (табл. 3.10).

Содержание ДК увеличивалось – на 70,9% и 77,9%, МДА – на 158,5% и 133,9%, церулоплазмина – на 79,16% и 116,6%, Г – SH – на 82,35% и 94,1%, гаптоглобина – на 68,4% и 84,2%, активность каталазы – на 31,25% и 21,8%, пероксидазы – на 78,4% и 90,9%, СОД – на 37,5% и 50%, ГП – на 104,2% и 43,28%, соответственно под влиянием Лт - 803 и Л - 2501-2-50.

Таблица 3.10

Влияние олигоэфиров на состояние АОС белых крыс под воздействием 1/100 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения M±m | | |
|-------------------------------------|-----------------------|------------|---------------|
| | Контроль | Лт – 803 | Л - 2501-2-50 |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 32,7±3,8 | 55,9±6,3* | 58,2±5,7* |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 10,6±1,2 | 27,4±1,8* | 24,8±1,6* |
| Каталаза (мкат/г Нв), кровь | 6,4±0,57 | 8,4±0,67* | 7,8±0,75* |
| Пероксидаза (мкат/г Нв), кровь | 8,8±0,82 | 15,7±1,4* | 16,8±1,7* |
| СОД (мкат/г Нв), кровь | 0,64±0,07 | 0,88±0,07* | 0,96±0,05* |
| ГП (мкат/г Нв), кровь | 7,1±0,65 | 14,5±1,2* | 10,7±0,83* |
| Церулоплазмин (мкмоль/л), сыворотка | 2,4±0,12 | 4,3±0,48* | 5,2±0,44* |
| Г – SH(ммоль/л), кровь | 1,7±0,06 | 3,1±0,24* | 3,3±0,27* |
| SH-группы (ммоль/л), кровь | 27,5±1,8 | 12,7±1,18* | 15,6±1,3* |
| Гаптоглобин (г/л), сыворотка | 1,9±0,07 | 3,2±0,26* | 3,5±0,32* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Эти данные свидетельствуют о том, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ стимулируют СРО и ПОЛ на фоне усиления активности АОС, что следует рассматривать как напряжение защитно-приспособительных и адаптационных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма в условиях токсификации.

3.3. Изучение состояния мониторинговых показателей белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового видов обмена в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров

Анализ научной литературы показывает, что наиболее оптимальным является изучение механизмов биологического действия ксенобиотиков на уровне субтоксических доз, которые не вызывают грубых дистрофических и деструктивных процессов во внутренних органах и тканях. К таким дозам относятся те концентрации химических веществ, при которых после

прекращения их воздействия на организм, внутренние органы и ткани способны восстанавливаться репаративными механизмами до нормального состояния [48, 128, 181]. Изучение влияния субтоксической дозы (1/100 LD₅₀) на белковый обмен опытных животных обнаружило повышение в сыворотке крови содержания креатинина – на 76,14%; 64,05% и 65,03%, мочевины – 155,1%; 169,5% и 124,3% и активности ферментов АсАТ – 370,5%; 317,6% и 364,7%, АлАТ – 442,6%; 405,6% и 425,9% (табл. 3.11).

Эти результаты могут свидетельствовать об усилении обмена белков и превалировании катаболических процессов, над анаболическими синтезами, а также о существенном напряжении функции печени, которое сопряжено со структурно-метаболическими нарушениями гепатоцитов. Существенное повышение мониторинговых органоспецифических показателей свидетельствует, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ нарушают белковый обмен и оказывают гепатотоксическое, а возможно и нефротоксическое действие, о чем свидетельствуют высокие уровни в крови мочевины и креатинина.

Исследование липидного обмена у белых крыс выявило, что олигоэфиры повышают в сыворотке крови содержание кетоновых тел, свободных жирных кислот, холестерина, а в печени – МДА и ДК, что свидетельствует об активации процессов катаболизма липидов, СРП и ПОЛ. Так, концентрация кетоновых тел повышалась на 572,4 %; 493,1 % и 531,04 %, свободных жирных кислот – на 136,8 %; 114,03 % и 122,8 %; холестерина – 104,5 %; 118,5 % и 98,6 %, МДА – 114,5 %; 124,02 % и 97,5 %, ДК – 66,1 %; 57,25 % и 69,85 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р». В частности, изучение показателей углеводного обмена у подопытных животных обнаружило снижение содержания глюкозы в крови, гликогена в печени и активности Г-6-Фазы в микросомальной фракции печени. По сравнению с показателями контрольной группы уровни глюкозы снижались на 51,10%; 38,70 % и 42 %, гликогена – на 80,06 %; 79,90 % и 73,1 % и активность Г-6-фазы – на 75 %; 70,8 % и 75,7 %, соответственно под воздействием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р».

Таблица 3.11

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на показатели белкового, липидного и углеводного обмена

| Показатели | Группа наблюдения, M±m | | | |
|--|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50«Б» n=10 | Л-1601-2-50«Р» n=10 |
| Белковый обмен | | | | |
| Креатинин (мкмоль/л) сыворотка | 71,14±3,56 | 125,3±6,20* | 116,7±8,14* | 117,4±7,15* |
| Мочевина (ммоль/л) кровь | 4,86±0,35 | 12,4±0,83* | 13,10±1,26* | 10,9±1,12* |
| АсАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,68±0,05 | 3,2±0,43* | 2,84±0,21* | 3,16±0,27* |
| АлАТ (мкмоль/л·час), сыворотка | 0,54±0,06 | 2,93±0,35* | 2,73±0,22* | 2,84±0,33* |
| Липидный обмен | | | | |
| Кетоновые тела (ммоль/л), сыворотка | 0,29±0,014 | 1,95±0,08* | 1,72±0,05* | 1,83±0,12* |
| Свободные жирные кислоты (ммоль/л), сыворотка | 0,57±0,06 | 1,35±0,06* | 1,22±0,09* | 1,27±0,08* |
| Холестерин (ммоль/л), сыворотка | 1,35±0,12 | 2,76±0,17* | 2,95±0,14* | 2,68±0,15* |
| МДА (нмоль/мг белка), микросомальная фракция печени | 8,37±0,74 | 17,95±1,36* | 18,75±1,42* | 16,53±1,36* |
| ДК (нмоль/мг белка), микросомальная фракция печени | 34,52±2,16 | 57,32±3,75* | 54,28±4,15* | 58,63±3,76* |
| Углеводный обмен | | | | |
| Глюкоза (ммоль/л), кровь | 5,60±0,20 | 2,74±0,18* | 3,46±0,24* | 3,25±0,31* |
| Гликоген (мкмоль глюкозы/г печени) | 128,4±7,30 | 25,6±1,3* | 29,8±1,7* | 34,6±2,8* |
| Г-6-Фаза (нмоль/мин·мг белка), микросомальная фракция печени | 9,76±0,83 | 2,44±0,32* | 2,85±0,26* | 2,37±0,23* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Полученные показатели углеводного обмена свидетельствует о развитии гипогликемии у подопытных животных, которая может быть следствием интоксикации организма, дефицита глюкокортикоидов, глюкагона, тиреоидных гормонов при печеночной и почечной недостаточности. Это положение подтверждается снижением содержания гликогена в печени и активности фермента Г-6-Фазы в микросомальной фракции печени.

Таким образом, результаты данного этапа исследований показали, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ активируют в печени распад белков, жиров и углеводов, оказывают гепатотоксическое действие, ускоряют СРП и ПОЛ на фоне ингибирования обезвреживающей, антиоксидантной, биосинтетической и депонирующей функций.

При этом исследование мониторинговых показателей олигоэфирциклокарбоната выявило сходную тенденцию – наблюдалось повышение содержания в печени МДА и ДК. В крови наблюдалось увеличение содержания креатинина, мочевины, свободных жирных кислот, кетоновых тел, холестерина и активности ферментов АлАТ и АсАТ (табл. 3.12). Таким образом, анализ результатов исследования свидетельствует, что олигоэфир Лт-803 в условиях подострого опыта под влиянием 1/100 LD₅₀ ингибирует в печени процессы глюкуронидной, глутатионовой и сульфатной конъюгации на фоне активирования ацетилтрансферазных реакций, что указывает на серьёзную дисфункцию системы детоксикации ксенобиотиков. Данные исследования мониторинговых показателей указывают, что олигоэфиры в 1/100 LD₅₀ стимулируют ПОЛ и СРП, накопление кетоновых тел, активируют распад белков и триацилглицеролов, что свидетельствует о преобладании катаболических процессов, над анаболическими синтезами, на фоне нарушения функции печени и почек.

Вместе с тем, было установлено снижение в печени содержания гликогена, рибонуклеиновых кислот, глобулинов, гистонов и активности ферментов Г-6-Фазы и ТДО ($p < 0,05$), что указывает на ингибирование восстановительных синтезов, нарушение углеводного, нуклеинового и белково-гообмена.

Таблица 3.12

Влияние олигоэфира Лт - 803 на динамику мониторинговых показателей в подостром опыте под влиянием 1/100 LD₅₀

| Показатели, объекты исследования | Группа наблюдения, М±m | |
|--|------------------------|----------------|
| | Контроль | Лт – 803 |
| МДА – микросомальная фракция печени (нмоль/мг белка) | 8,90±0,74 | 24,82±2,15* |
| Диены – микросомальная фракция печени (нмоль/мг белка) | 35,62±2,53 | 72,64±4,27* |
| Креатинин – сыворотка крови (мкмоль/л) | 67,35±3,86 | 112,67±5,73* |
| Мочевина – сыворотка крови (ммоль/л) | 5,20±0,47 | 14,82±1,12* |
| Гликоген, печень (мкмоль глюкозы/г печени) | 140,7±6,84 | 32,61±2,14* |
| РНК, печень (имп/мин·мг РНК) | 27983,6±524,3 | 15143,8±269,5* |
| Глобулины, ядерная фракция печени (имп/мин·мг белка) | 187,3±9,26 | 124,6±8,52* |
| Гистоны, ядерная фракция печени (имп/мин·мг белка) | 248,7±12,5 | 143,8±5,39* |
| Свободные жирные кислоты, сыворотка (мкмоль/л) | 0,62±0,07 | 1,46±0,03* |
| Кетоновые тела, сыворотка (ммоль/л) | 0,28±0,01 | 1,84±0,08* |
| Глюкоза, кровь (ммоль/л) | 5,32±0,36 | 2,87±0,26* |
| Г-6-Фаза, микросомы печени (нмоль/мин·мг белка) | 9,84±0,73 | 3,62±0,37* |
| Холестерин, сыворотка (ммоль/л) | 1,38±0,15 | 3,15±0,33* |
| АлАТ, сыворотка (мкмоль/л·час) | 0,58±0,06 | 3,10±0,21* |
| АсАТ, сыворотка (мкмоль/л·час) | 0,76±0,08 | 3,17±0,06* |
| ТДО, микросомы печени (нмоль кинуренина/мг белка·час) | 13,5±0,92 | 4,15±0,43* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Мы полагаем, что увеличение уровней свободных жирных кислот и кетоновых тел в сыворотке крови подопытных животных может быть связано с активацией симпато-адреналовой системы и гепатотоксическим действием олигоэфиров.

Повышение уровней МДА и холестерина под влиянием исследуемых соединений указывает на активацию ПОЛ, высокий риск развития атеросклероза и атерогенное действие данных ксенобиотиков в дозе 1/100 LD₅₀.

Изучение влияния олигоэфиров на ведущие метаболические пути обмена углеводов в условиях подострого эксперимента и определение состояния энергетических процессов в сердце и печени раскрывает главные механизмы, приспособляющие скорость гликолиза к интенсивности окислительного фосфорилирования и энергетическим потребностям клетки – контроль активности ферментов гликолиза и гликогенолиза.

Изучение влияния олигоэфиров марок Лт - 803 и Л - 2501-2-50 в 1/100 LD₅₀ на углеводный и энергетический обмен в печени выявило снижение содержания гликогена и активности фермента митохондриальной фракции гепатоцитов креатинфосфокиназы. На этом фоне наблюдалось значительное повышение активности ферментов Г-6-Фазы, Г-6-ФДГ, ФФК, альдолазы, ГК и ЛДГ (табл. 3.13). Исследования обнаружили снижение содержания гликогена в печени – на 42,57 % и 53,49 %, активности митохондриальной КФК – на 50% и 47,57%, Г-6-ФДГ – на 60,34 % и 81,03 %, ФФК – на 66,15 % и 44,61 %, альдолазы – на 100,1 % и 57,35 %, ГК – на 68 % и 98,28 %, ЛДГ – на 36,68 % и 51,8 %, соответственно под влиянием Лт-803 и Л-2501-2-50. Эти данные убедительно показывают, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ активируют анаэробный гликолиз, пентозофосфатный цикл и распад гликогена на фоне ингибирования аэробного дыхания и энергетических процессов в митохондриях гепатоцитов. Изучение оценочных показателей углеводного обмена в печени олигоэфиров марок Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в 1/10 LD₅₀ обнаружило снижение активности ГК, альдолазы, ЛДГ, КФК и повышение – Г-6-ФДГ.

Таблица 3.13

Влияние олигоэфиров на некоторые показатели энергетического и углеводного обмена в печени под влияние 1/100 LD₅₀ в подостром опыте

| Показатели, ткани | Группа наблюдения, вещества (M±m) | | |
|---|-----------------------------------|------------|-------------|
| | Контроль | ЛГ-803 | Л-2501-2-50 |
| Гликоген печени (мкмоль/г) | 140.6±12,3 | 80,75±5,3* | 65,4±6,2* |
| Г-6-Фаза микросом печени (нмоль,мг белка · 1 мин) | 0,44±0,03 | 0,86±0,05* | 0,79±0,04* |
| Г-6-ФДГ в печени (мкмоль НАДФН/мг белка · 1 час) | 0,58±0,04 | 0,93±0,04* | 1,05±0,11* |
| КФК в печени (мкмоль НАДФН/мг белка · 1 час) | 8,2±0,56 | 4,1±0,25* | 4,3±0,32* |
| ФФК в печени (мкмоль триоз/ мг белка · 1 час) | 6,5±0,43 | 1,08±0,79* | 9,4±0,73* |
| Альдолаза в печени (мкмоль триоз/ мг белка · 1 час) | 6,8±0,47 | 13,6±0,20* | 10,7±0,24* |
| ГК в печени (мкмоль НАДФН ₂ /мг белка · 1 час), митохондриальная фракция | 17,5±1,26 | 29,4±2,5* | 34,7±2,7* |
| ЛДГ в печени (мкмоль НАДН/мг белка · 1 час) | 53,7±6,2 | 73,4±6,9* | 81,52±4,3* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Так, было установлено ингибирование растворимой функции ГК – на 27,33 %; 18,1 % и 32,56 %, митохондриальной фракции гексокиназы – на 44,7%; 31,02 % и 29,8 %, ФФК – на 74,4 %; 71,62 % и 75,45 %, альдолазы – на 75,8 %; 75,40 % и 77,35 %, растворимой фракции ЛДГ – на 51,44 %; 44,24 % и 48,22 %, митохондриальной фракции ЛДГ – на 58,88 %; 46,08 % и 51,61 %, митохондриальной КФК – на 65,86 %; 69,11 % и 63,42 %, КФК цитозоля

печеночной ткани – на 45,3 %; 49,06 % и 40,57 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» (табл. 3.14). На этом фоне наблюдалось значительное повышение активности Г-6-ФДГ, соответственно – на 132,4%; 97,3% и 86,5% при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Анализ оценочных показателей углеводного обмена в разных дозах выявил влияния олигоэфиров в $1/10 LD_{50}$ на состояние углеводного обмена ингибирование процессов гликолитического расщепления глюкозы и анаэробного типа дыхания. В дозе $1/100 LD_{50}$ изучаемые олигоэфиры активируют анаэробный гликолиз, пентозофосфатный цикл и распад гликогена на фоне ингибирования аэробного дыхания и энергетических процессов в митохондриях гепатоцитов. Установленная динамика активности «ключевых ферментов» обмена углеводов в печени позволяет судить о напряжении защитно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма. Исследование оценочных показателей углеводного обмена в сердце обнаружило повышение активности ГК, ФФК, альдолазы, ЛДГ, Г-6-ФДГ, Г-6-Фазы и снижение активности КФК в митохондриальной фракции и уровня гликогена (табл. 3.15). Так, результаты выявили повышение под воздействием $1/100 LD_{50}$ активности ГК – на 66,9% и 107,7 %, ФФК – на 86,5 % и 76,9 %, альдолазы – на 184,4 % и 271,1 %, ЛДГ – на 35,4 % и 38,76 %, Г-6-ФДГ – на 96,4 % и 125,3 %, Г-6-Фазы – на 77,14 % и 94,28% на фоне снижения активности КФК – на 35,58% и 41,47% и содержания гликогена – на 51,69 % и 47,10 %, соответственно при воздействии Лт-803 и Л-2501-2-50. Анализ показывает сходное влияние олигоэфиров на обмен углеводов, как в печени, так и в сердце. Под влиянием олигоэфиров в $1/100 LD_{50}$ на первый план выступает активация гликолиза, пентозофосфатного цикла, распада гликогена и подавление аэробных процессов энергетики. Динамические изменения оценочных показателей углеводного и энергетического обмена позволяют судить о том, что олигоэфиры ингибируют

Таблица 3.14

Влияние олигоэфиров разных марок в дозе 1/10 LD₅₀ на углеводный обмен в печени

| Показатели | Группа наблюдения, M±m | | | |
|---|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| ГК (мкмоль НАДФ·Н ₂ /мг белка· 1 час): | 17,2±0,98 | 12,5±0,76* | 14,1±1,13* | 11,6±0,84* |
| - растворимая фракция | 4,7±0,43 | 2,6±0,31* | 3,2±0,27* | 3,3±0,32* |
| - фракция митохондрий | | | | |
| ФФК (мкмоль триоз/мг белка· 1 час), печень | 6,8±0,35 | 1,74±0,15* | 1,93±0,22* | 1,67±0,19* |
| Альдолаза (мкмоль триоз/мг белка· 1 час), печень | 14,3±0,87 | 3,46±0,27* | 3,52±0,34* | 3,24±0,21* |
| ЛДГ (мкмоль НАД·Н/мг белка· 1 час), субстрат-пируват: | 148,3±11,6 | 73,5±4,8* | 82,7±5,3* | 76,8±4,3* |
| -растворимая фракция | | | | |
| -митохондриальная фракция | 49,6±3,3 | 20,4±1,5* | 26,3±1,7* | 22,5±1,4* |
| Г-6-ФДГ (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 час), печень | 0,37±0,02 | 0,86±0,05* | 0,73±0,06* | 0,69±0,04* |
| КФК митохондрий гепатоцитов (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 час) | 12,3±0,74 | 4,2±0,37* | 3,8±0,26* | 4,5±0,42* |
| КФК цитозоля печеночной ткани (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 час) | 10,6±0,82 | 5,8±0,44* | 5,4±0,38* | 6,3±0,55* |

Примечание:* различия достоверные p <0,05

Таблица 3.15

Влияние олигоэфиров на показатели энергетического и углеводного обмена в сердце под воздействием 1/100 LD₅₀ в условиях подострого эксперимента

| Показатели, ткани | Группа наблюдения, вещества (M±m) | | |
|---|-----------------------------------|-------------|-------------|
| | Контроль | Лт-803 | Л-2501-2-50 |
| ГК в сердце (мкмоль НАДФН ₂ /мг белка · 1 час) | 10,3±0,84 | 17,2±1,3* | 21,4±1,6* |
| ФФК в сердце (мкмоль триоз/мг белка · 1 час) | 5,20±0,63 | 9,7±0,84* | 9,2±0,73* |
| Альдолаза в сердце (мкмоль триоз/ мг белка · 1 час) | 4,5±0,36 | 12,8±0,93* | 16,7±1,5* |
| ЛДГ в сердце (мкмоль НАД·Н/мг белка · 1 час) | 135,7±9,3 | 183,7±10,2* | 188,3±13,8* |
| Г-6-ФДГ в сердце (мкмоль НАДФН/мг белка · 1 час) | 0,83±0,04 | 1,63±0,14* | 1,87±0,15* |
| Г-6-Фаза в сердце (нмоль /мг белка · 1 мин) | 0,35±0,02 | 0,62±0,05* | 0,68±0,07* |
| КФК в сердце (мкмоль НАДФН/мг белка · 1 час), митохондриальна фракция | 10,4±0,86 | 6,7±0,43* | 6,10±0,47* |
| Гликоген в сердце (мкмоль/г) | 32,7±4,8 | 15,8±1,4* | 17,3±1,2* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

функциональную активность цикла Кребса и синтез АТФ в аэробных условиях. Это, в свою очередь, создает условия для интенсификации других путей генерации энергии, которые сопряжены с активацией гликолиза и пентозофосфатного цикла, что и наблюдается в условиях подострого эксперимента.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфиры в дозе $1/100$ LD₅₀ ингибируют процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях и активируют механизмы анаэробного дыхания, которые сопряжены с активацией гликолиза, пентозофосфатного цикла и гликогенолиза, что отражает значительное напряжение защитно-приспособительных и адаптационных механизмов, направленных на обеспечение гомеостаза и усиление восстановительных синтезов.

Изучение влияния оценочных мониторинговых показателей олигоэфиров разных марок на метаболические процессы в печени выявило, что все вещества обладают сходным действием. В дозах $1/10$ и $1/100$ LD₅₀ они приводят к нарушению углеводного, белкового, липидного видов обменов и значительно ингибируют процессы детоксикации ксенобиотиков. Во всех случаях исследуемые ксенобиотики в дозе $1/1000$ LD₅₀ не влияют на метаболические процессы в организме. Это дает основание считать данную дозу недействующей в подостром опыте.

Изучение влияния новой группы олигоэфиров на обмен белков и нуклеиновых кислот в печени белых крыс, подвергавшихся в подостром эксперименте воздействию ксенобиотиков, и определение прогностически значимых показателей, отражающих состояние восстановительных синтезов, представляет значительный интерес, поскольку именно эти процессы в первую очередь характеризуют степень и глубину функциональных нарушений, определяют уровень репаративных процессов в органах и тканях [114, 187, 218, 224, 239, 338].

Появление структурно-метаболических нарушений, по мнению многих авторов, сопряжено с дисфункцией белкового и нуклеинового обменов в печени, поскольку она является основным органом детоксикации. Актуальность изучения патофизиологических механизмов формирования структурно-метаболических нарушений, при действии на организм олигоэфиров, обусловлена необходимостью обоснования прогноза потенциальной опасности данных соединений для теплокровных животных и человека, разработки патогенетической коррекции метаболических изменений и антидотной терапии. Отсутствие в научной литературе данных о новой группе этих соединений исключает возможность решения проблемы сохранения и укрепления здоровья населения и рабочих, занятых в производстве олигоэфиров [12, 258, 293, 328]. Изучение влияния олигоэфиров на белковый и нуклеиновый обмены в печени обнаружило дисфункцию этих видов метаболизма в группах животных, получавших дозы 1/10 и 1/100 LD₅₀. Воздействие дозой 1/1000 LD₅₀ не выявило существенных отличий с группой контроля. Исследования показали, что олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ снижали в печени синтез суммарных белков – на 63,7 %; 61,76 % и 76,96 %, негистоновых белков – на 55 %; 51,12 % и 59,65 %, гистонов – 76,89 %; 64,52% и 69,26 %, I фракции РНК (0-10°C) – 40,28 %; 42,42 % и 41,17 %, II фракции РНК (10-65°C) – 46,84 %; 48,50 % и 50,68 %, ДНК – 45,7%; 42,1 1% и 48,57 %, гистонов ядерной фракции – 40,86%; 30,20% и 43,20%, глобулинов ядерной фракции – 38,95 %; 31,25 % и 37,5 %, соответственно, под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» по сравнению с контролем (табл. 3.16). Эти данные свидетельствуют, что олигоэфиры в токсической дозе 1/10 LD₅₀ ингибируют процессы синтеза ДНК, РНК и белка. Динамика показателей указывает также на замедление восстановительных синтезов и возможных репаративных процессов, связанных с обновлением органов и тканей в условиях токсификации организма. Подавление синтеза нуклеиновых кислот и белков при воздействии дозой 1/10 LD₅₀ позволяет судить о срыве защитно-компенсаторных

Таблица 3.16

Подострое воздействие олигоэфиров в 1/10 и 1/100 LD₅₀ на показатели нуклеинового и белкового обмена в печени белых крыс

| Показатели | Группа наблюдения, M±m | | | | | | |
|---|------------------------|-------------|------------|-----------------|------------|-----------------|------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | | Л-1601-2-50 «Б» | | Л-1601-2-50 «Р» | |
| | | 1/10 LD50 | 1/100 LD50 | 1/10 LD50 | 1/100 LD50 | 1/10 LD50 | 1/100 LD50 |
| Суммарные белки (имп/мин·мг ткани) | 1286±53 | 467±42* | 1694±46* | 479±38* | 1725±48* | 425±23* | 1864±57* |
| Негистоновые белки (имп/мин·мг ткани) | 1395±34 | 628±26* | 1757±62* | 682±17* | 1816±77* | 563±28* | 1943±68* |
| Гистоны (имп/мин·мг ткани) | 1054±33 | 349±15* | 1123±76 | 374±26* | 1094±65 | 324±31* | 1115±59 |
| Фракция РНК(0-10°C) (имп/мин·мг ткани) | 653±27 | 390±22* | 874±35* | 376±19* | 946±28* | 345±16* | 896±32* |
| Фракция РНК(10-65°C) (имп/мин·мг ткани) | 1326±43 | 705±29* | 1579±64* | 683±32* | 1625±53* | 654±25* | 1678±68* |
| ДНК (имп/мин·мг ткани) | 418±16 | 227±18* | 453±22 | 242±14* | 464±37 | 215±12* | 472±44 |
| Гистоны, ядерная фракция (имп/мин·мг белка) | 257±13 | 152±6* | 182±14* | 164±11* | 179±16* | 146±7* | 186±20* |
| Глобулины, ядерная фракция (имп/мин·мг белка) | 208±8 | 127±7* | 165±11* | 143±8* | 174±8* | 130±6* | 167±12* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, p<0,05.

защитно-компенсаторных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма и, в частности, печени, что может проявляться в нарушении всех видов обмена веществ (белкового, углеводного, липидного, нуклеинового, пигментного), функции желчеобразования, синтеза биологически активных субстратов, детоксикации, депонирования и др.

Анализ динамики оценочных показателей белкового и нуклеинового обменов в печени опытных животных, подвергавшихся воздействию дозой 1/100 LD₅₀, обнаружил, что олигоэфиры в этой дозе активируют процессы восстановительных синтезов. Так, по сравнению с контролем, отмечалось усиление синтеза в печени суммарных белков – на 31,7 %; 34,13 % и 44,9 %; негистоновых белков – на 25,9 %; 30,17 % и 39,28 %, I фракции РНК(0-10°С) – на 33,8 %; 44,86 % и 37,2 %, II фракции РНК (10-65°С) – на 19,07 %; 22,54 % и 26,54 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Уровни гистонов и ДНК имели недостоверное повышение ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой, а гистонов и глобулинов ядерной фракции были значительно снижены: гистонов ядерной фракции на 29,2 %; 30,36 % и 27,63 %, глобулинов ядерной фракции – 20,68 %; 16,35 % и 19,72 %, соответственно в группах животных, токсифицированных Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р». Данные результаты указывают на активацию синтеза белка и нуклеиновых кислот на фоне существенного напряжения защитно-компенсаторных механизмов, направленных на усиление возможных репаративных процессов.

Следует подчеркнуть, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ активируют процессы обмена белков и нуклеиновых кислот. Одним из важнейших факторов, обеспечивающих пластические реакции, является наличие нуклеозидтрифосфатов, для образования которых, в свою очередь, необходимы пентозы. По мнению многих авторов, угнетение гликолитического пути и активация пентозофосфатного цикла превращения глюкозы являются одной из компенсаторно-приспособительных реакций, итогом которой может быть

образование пентоз, необходимых для синтеза нуклеозидтрифосфатов – предшественников РНК [239, 258, 261]. Использование в качестве меченого предшественника 2-С¹⁴-глюкозы позволило обнаружить эту метку во фракции РНК печени. При этом удельная радиоактивность РНК печени была значительно выше уровней контрольной группы животных (рис. 3.2).

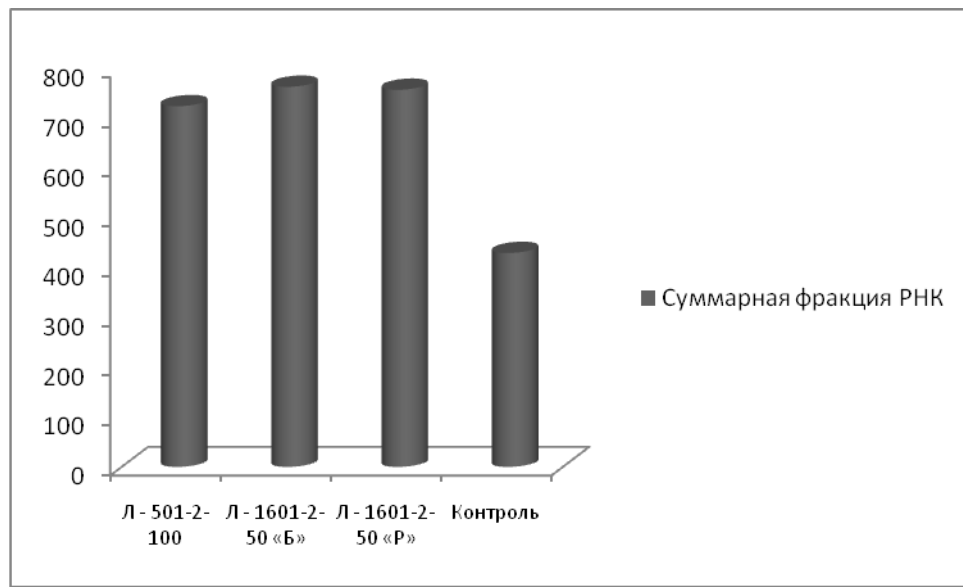


Рис. 3.2. Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на удельную радиоактивность РНК(0-65°C) печени при использовании меченого предшественника 2-С¹⁴-глюкозы

Так, суммарная фракция РНК (0-65°C) увеличивалась в печени опытных групп животных – на 68,6%; 77,67% и 76,27%, соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Как известно, в пентозном цикле происходит отщепление первого углеродного атома глюкозы в виде СО₂, а остальные пять атомов углерода входят в молекулу рибозы. Следовательно, радиоактивность второго атома углерода глюкозы будет в конечном итоге обнаруживаться в РНК. Из этих результатов следует, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ приводят к значительному напряжению адаптационных механизмов, которые сопряжены с активацией пентозофосфатного цикла и восстановительных синтезов.

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфиры марок Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 160 -2-50 «Р» в дозе 1/10 LD₅₀ ингибируют синтез белков и нуклеиновых кислот в печени экспериментальных животных и приводят к срыву защитно-компенсаторных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма. В дозе 1/100 LD₅₀ олигоэфиры усиливают обмен белков и нуклеиновых кислот на фоне значительного напряжения защитно-приспособительных реакций, направленных на усиление восстановительных синтезов и пластической функции печени. Прогностически значимыми показателями усиления анаболической функции печени являются повышение синтеза нуклеозидтрифосфатов и переключение гликолитического пути обмена глюкозы на пентозофосфатный цикл, который обеспечивает реализацию трофотропной функции организма, обновление и репаративные процессы морфологических и структурно-метаболических единиц органов и тканей.

Обмен ионов металлов при действии олигоэфиров на организм определяет структуру и функции важнейших ферментативных, детоксикационных систем, определяющих метаболизм и выведение ксенобиотиков. Так, например, ионы кальция составляют структуру рибосом, входят в состав гидролитических ферментов, увеличивают активность рибонуклеазы и ускоряют распад ДНК, участвует в передаче нервных импульсов и контролирует процессы возбуждения и торможения в коре головного мозга, а фосфор тесно связан с обменом кальция [178, 252]. А также, изучение влияния олигоэфиров в подостром опыте на обмен ионов металлов в органах и тканях экспериментальных животных определяется их исключительной ролью в обеспечении различных физиологических и биохимических процессов, транспорта аминокислот через мембраны, проведение нервного импульса и др. Особая роль в этих процессах отводится ионам калия, натрия, магния, кальция, меди, цинка, железа, фосфора, марганца. Ионы металлов выполняют широкий спектр различных функций в организме – структурную, транспортную,

гормональную, энерготрансформирующую, кофакторную, регуляторную, детоксикационную, хемиосмотическую и многие другие.

Исследования обнаружили, что олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ приводят к увеличению содержания в сыворотке крови ионов калия, кальция, магния, меди, цинка, железа, фосфора, марганца и снижению количества натрия (табл. 3.17).

Таблица 3.17

Влияние 1/10 LD₅₀ олигоэфиров на содержание ионов металлов в сыворотке крови подопытных и контрольных животных

| Показатели | Группа наблюдения М±m | | | |
|---------------------|-----------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| Калий (ммоль/л) | 3,53±0,42 | 6,24±0,57* | 6,15±0,35* | 6,43±0,53* |
| Натрий (ммоль/л) | 140,4±5,76 | 120,3±4,80* | 115,6±5,10* | 110,4±3,75* |
| Кальций (ммоль/л) | 2,43±0,17 | 3,46±0,28* | 3,54±0,39* | 3,70±0,48* |
| Магний (ммоль/л) | 1,10±0,16 | 2,27±0,19* | 2,43±0,25* | 2,56±0,33* |
| Медь (мкмоль/л) | 16,8±1,44 | 27,8±1,32* | 26,5±1,47* | 29,66±1,74* |
| Цинк (мкмоль/л) | 17,35±1,67 | 31,43±2,55* | 33,18±1,76* | 30,54±2,10* |
| Железо (мкмоль/л) | 18,44±1,52 | 42,56±3,17* | 44,62±3,80* | 39,74±2,75* |
| Фосфор (ммоль/л) | 1,77±0,19 | 3,45±0,37* | 3,62±0,29* | 4,15±0,32* |
| Марганец (мкмоль/л) | 16,35±1,24 | 28,26±1,94* | 31,58±2,63* | 34,32±2,76* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Так, уровень калия повышался на 76,77 %; 74,22 % и 82,16 %, кальция – на 42,39 %; 45,68 % и 52,27 %, магния – на 106,37 %; 120,91 % и 132,735, меди – на 65,48 %; 57,74 % и 76,55 %, цинка – на 81,16 %; 91,24 % и 76,03 %, железа – на 130,81 %; 141,98 % и 115,51 %, фосфора – на 94,92 %; 104,52 % и 134,47 %, марганца – на 72,85 %; 93,15 % и 109,91 %, на фоне снижения концентрации натрия – на 14,31%; 17,66% и 21,36%, соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р». Анализ обмена ионов металлов в печени выявил снижение содержания калия, натрия, магния, цинка, меди, железа, фосфора, марганца на фоне повышения уровня кальция (табл. 3.18).

Таблица 3.18

Влияние 1/10 LD₅₀ олигоэфиров на содержание ионов металлов в печени в подостром опыте

| Показатели | Группа наблюдения M±m | | | |
|---------------------------|-----------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| Калий (мг/100 г ткани) | 8,45±0,32 | 5,13±0,36* | 4,96±0,42* | 5,28±0,47* |
| Натрий (мг/100 г ткани) | 8,73±0,46 | 6,17±0,32* | 6,54±0,53* | 6,24±0,46* |
| Кальций (мг/100 г ткани) | 3,26±0,25 | 5,82±0,49* | 6,10±0,55* | 6,63±0,57* |
| Магний (мг/100 г ткани) | 6,70±0,38 | 4,16±0,35* | 3,84±0,31* | 4,05±0,24* |
| Цинк (мг/100 г ткани) | 9,84±0,57 | 7,15±0,63* | 6,52±0,49* | 6,22±0,38* |
| Медь (мг/100 г ткани) | 0,88±0,07 | 0,65±0,04* | 0,60±0,05* | 0,53±0,04* |
| Железо (мг/100 г ткани) | 1,28±0,09 | 0,82±0,03* | 0,74±0,05* | 0,66±0,06* |
| Фосфор (мг/100 г ткани) | 4,15±0,24 | 2,63±0,18* | 2,56±0,22* | 2,17±0,17* |
| Марганец (мг/100 г ткани) | 5,22±0,46 | 3,10±0,27* | 2,84±0,33 | 2,56±0,22* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Содержание калия в печени снижалось – на 39,29 %; 41,30 % и 37,51%, натрия – на 29,32 %; 25,08 % и 28,52 %, магния – на 37,01 %; 42,68 % и 39,55 %, цинка – на 27,33 %, 33,74 % и 36,78 %, меди – на 26,13 %; 31,81 % и 39,77 %, железа – на 35,93 %, 42,18 % и 48,43 %, фосфора – на 36,62 %; 38,71 % и 47,71%, марганца – на 40,61%; 45,59% и 50,95% на фоне повышения уровня кальция – на 78,53 %; 87,12 % и 103,38 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р».

Изучение обмена ионов металлов в семенниках выявило: снижение содержания калия – на 16,58 %; 19,5 1% и 24,39 %, натрия – на 23,97 %; 25,54 % и 33,65 %, магния – на 17,95 %; 20,17 % и 22,36 %, цинка – на 62 %; 60,34 % и

63,79 %, меди – на 20,92 %; 21,79 % и 41,02 %, железа – на 48,03 %; 43,30 % и 50%, фосфора – на 48,79 %; 52,78 % и 56,49 %, марганца – на 27,35 %; 31,18 % и 16,23 % на фоне повышения уровня кальция – на 38,26 %; 33,34 % и 40,09 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» (табл. 3.19).

Таблица 3.19

Влияние олигоэфиров в 1/10 LD₅₀ на содержание ионов металлов в семенниках в подостром опыте

| Показатели | Группа наблюдения М±m | | | |
|---------------------------|-----------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| Калий (мг/100 г ткани) | 4,10±0,23 | 3,42±0,18* | 3,30±0,20* | 3,10±0,26* |
| Натрий (мг/100 г ткани) | 8,26±0,35 | 6,28±0,43* | 6,15±0,34* | 5,48±0,42* |
| Кальций (мг/100 г ткани) | 1,83±0,12 | 2,53±0,16* | 2,44±0,21* | 2,58±0,27* |
| Магний (мг/100 г ткани) | 6,35±0,38 | 5,21±0,26* | 5,05±0,18* | 4,93±0,36* |
| Цинк (мг/100 г ткани) | 5,80±0,27 | 2,16±0,18* | 2,30±0,22 * | 2,10±0,14* |
| Медь (мг/100 г ткани) | 0,88±0,06 | 0,57±0,04* | 0,61±0,03* | 0,46±0,04* |
| Железо (мг/100 г ткани) | 2,54±0,26 | 1,32±0,14* | 1,44±0,16* | 1,27±0,13* |
| Фосфор (мг/100 г ткани) | 8,62±0,69 | 4,23±0,28* | 4,07±0,32* | 3,75±0,24* |
| Марганец (мг/100 г ткани) | 5,74±0,46 | 4,17±0,23* | 3,95±0,18* | 3,66±0,22* |

Примечание: * различия достоверные $p < 0,05$

Исследования показывают, что олигоэфиры в основном увеличивают в сыворотке крови содержание ионов металлов, тогда как во внутренних органах они в большинстве случаев значительно снижают. Изучение обмена ионов в органах и тканях животных, подвергавшихся воздействию 1/10 LD₅₀ олигоэфиров, показало, что содержание калия повышалось в сыворотке крови и снижалось в печени и семенниках. Уровни натрия снижались в сыворотке крови, печени и семенниках, что позволяет судить о развитии натрийурии.

Содержание ионов кальция повышалось в сыворотке, печени и семенниках. Уровни ионов магния, цинка, меди, железа, фосфора, марганца повышались в сыворотке крови и снижались в печени, семенниках. Такая динамика ионов металлов может свидетельствовать о выведении их из организма [227, 261, 269, 279].

Известно, что регуляция микро- и макроэлементного обмена в организме осуществляется как нервной системой, так и железами внутренней секреции. Большинство авторов считают, что основным регуляторным механизмом обмена микроэлементов в организме является система гипофиз-кора надпочечников, функциональное состояние которой теснейшим образом зависит и связано с деятельностью центральной нервной системы. Именно эти системы в наибольшей мере подвержены изменениям при условии формирования патологических состояний [87, 130, 131]. В связи с этим, можно судить, что дисбаланс ионов металлов в различных органах и тканях в условиях токсификации олигоэфирами сопряжен с нарушением кооперативного взаимодействия ЦНС и гипофизарно-надпочечниковой системы.

Таким образом, установленная динамика обмена микро- и макроэлементов в организме экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиров, свидетельствует о структурно-метаболических нарушениях, которые сопряжены с развитием дистрофических и деструктивных процессов. При таких условиях ионы металлов выходят из клетки, внутриклеточных структурно-функциональных единиц и поступают в межклеточное пространство и кровь. В этих условиях следует ожидать нарушения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, развития гипоксических процессов, нарушения энергетических и метаболических синтезов, что свидетельствует о срыве адаптационных и защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостатической функции организма, ведущая роль в которых принадлежит ЦНС и гипофизарно-надпочечниковой системе.

Выявленные дезинтегральные мониторинговые показатели белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового видов обмена вызывают структурно-метаболические нарушения, которые сопряжены с развитием дистрофических и деструктивных процессов при действии на организм олигоэфиров в разных дозах. Недействующей оказалась доза 1/1000 LD₅₀. Стремление организма поддерживать мониторинговые показатели обмена веществ с помощью обратной связи в физиологических границах тесно связано с функционированием интегративных систем и направлено на ликвидацию последствий возбуждения в тех или иных подсистемах организма, что представляет собой процесс адаптации. Постоянство этих и многих других показателей обеспечивается на относительно стационарном и динамическом уровне в очень узких пределах колебаний, благодаря согласованной и скоординированной работе интегративных систем поддержания гомеостаза и адаптации организма к изменяющимся условиям среды обитания.

3.4. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на гидроксигирующую монооксигеназную систему микросом гепатоцитов, процессы дезаминирования

Многочисленные работы по изучению судьбы чужеродных для организма веществ показали, что их метаболизм осуществляется в основном путем окисления в микросомальной гидроксигирующей монооксигеназной системе гепатоцитов. Большое распространение имеют и синтетические реакции, а именно: связывание с белками, аминокислотами, глюкуроновой и серной кислотами. В большинстве случаев ксенобиотики подвергаются в организме последовательным превращениям – модификации, а после – синтетическим реакциям конъюгации. Исследования показывают, что начальная фаза метаболизма может существенно отразиться на биологических свойствах химических соединений. Они могут быть усилены, ослаблены или модифицированы. Изучение метаболизма химических веществ представляет не только общебиологический интерес, но и дает важный прогностический материал для

разработки мер специфической и неспецифической профилактики, направленной на сохранение и укрепление здоровья рабочих, занятых в сфере химического производства, а также диагностики интоксикаций и патогенетической терапии [12, 25, 26, 35, 82, 83, 93, 108, 136, 169].

Основное значение в метаболизме чужеродных для организма веществ придается микросомальным ферментам, которые подвергают окислению разнообразные по строению органические неполярные соединения. Ведущим типом реакции обычно является гидроксилирование, которое в упрощенной форме представляется в следующем виде: восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ·Н₂) превращает кислород в активную молекулярную форму; активированный кислород в присутствии различных гидроксилаз гидроксилирует чужеродное соединение, что является обычно первой фазой реакции, направленной на ускорение элиминации ксенобиотиков из организма. Основной структурно-функциональной единицей осуществляющей эти процессы является эндоплазматическая сеть гепатоцитов, а именно ферментная система микросомальной мембраны. С современных научных позиций, в условиях вредного воздействия на организм факторов окружающей и производственной среды для оценки резервных возможностей и степени устойчивости организма к неблагоприятному воздействию наиболее адекватны методы изучения модифицирующего действия химических загрязнителей на уровне МОС с параллельным исследованием возможного неблагоприятного эффекта на уровне мембраноструктурированных ферментов [324].

Изучение подострого влияния олигоэфиров на МОС гепатоцитов и активность мембраноструктурированных ферментов соответствовало задачам диссертационного исследования. Изучение влияния олигоэфиров на ферментативную активность микросом обнаружило при дозе 1/10 и 1/100 LD₅₀ повышение активности О-деметилазы, НАДФ·Н- цитохром С-редуктазы и

НАД·Н-цитохром С-редуктазы (табл. 3.20). В дозе 1/1000 LD₅₀ ксенобиотики не влияли на данные показатели.

Таблица 3.20

О-деметилазная (нмоль р-нитрофенола/мин· мг белка) и НАД·Н; НАДФ·Н-цитохром с-редуктазная (нмоль цитохрома с/мин·мг белка) активности микросом печени крыс в подостром опыте

| Вещества, доза LD ₅₀ | | Показатели, M±m | | |
|---------------------------------|--------|-----------------|-----------------------------|----------------------------|
| | | О-деметилаза | НАДФ·Н-цитохром С-редуктаза | НАД·Н-цитохром С-редуктаза |
| Л-501-2-100 | 1/10 | 17,8±1,43* | 350,4±56,7* | 1483,5±46,2* |
| | 1/100 | 16,20±1,35* | 280,6±35,4* | 1376,2±60,3* |
| | 1/1000 | 7,15±0,68 | 210,3±21,6 | 917,4±34,8 |
| Л-1601-2050 «Б» | 1/10 | 18,6±1,22* | 363,2±65,8* | 1397,3±41,5* |
| | 1/100 | 14,76±1,28* | 264,5±27,3* | 1283,7±57,2* |
| | 1/1000 | 6,84±0,73 | 205,4±18,7 | 853,6±42,4 |
| Л-1601-2050 «Р» | 1/10 | 16,53±1,47* | 324,6±39,4* | 1523,8±62,6* |
| | 1/100 | 13,46±1,15* | 285,3±17,6* | 1415,8±53,6* |
| | 1/1000 | 6,45±0,62 | 186,4±20,8 | 865,3±38,6 |
| Контроль | | 6,72±0,58 | 190,5±16,3 | 873,6±57,4 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Так, под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ активность деметилазы соответственно увеличивалась на 164,88% и 141,08%, НАДФ·Н-цитохром С-редуктазы – на 69,8% и 57,5% у групп животных, которые подвергались воздействию Л-501-2-100. Сходная динамика активности ферментов микросом отмечалась и под влиянием других исследуемых ксенобиотиков.

Олигоэфир Л-1601-250 «Б» в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ повышал активность О-деметилазы на 176,8 % и 119,65 %, НАДФ·Н-цитохром С-редуктазы – на 90,66 % и 38,85 % и НАД·Н-цитохром С-редуктазы – на 69,8 % и 57,5 %.

Олигоэфир Л-1601-2-50 «Р» в этих дозах увеличивал активность О-деметилазы соответственно на 145,9 % и 100,3 %, НАДФ·Н-цитохром С-редуктазы – на 70,4% и 49,8 % и НАД·Н-цитохром С-редуктазы – на 74,4 % и 62,1 %. Исследования показывают, что олигоэфиры являются индукторами гидроксимирующей МОС микросом гепатоцитов, что может иметь приспособительный характер.

Вместе с тем, это может иметь и вредные последствия, которые заключаются в активации канцерогенеза, нарушении обмена витаминов, гормонов, возникновении порфирий, усилении токсификации организма [274, 311, 335]. Известно, что индукция или блокирование активности метаболизирующих ферментов эндоплазматической сети, митохондрий, пероксисом, лизосом может существенно влиять на превращение ксенобиотиков в организме и развитие патологических состояний, которые всегда сопряжены с усилением процессов старения.

Исследования обнаружили, что олигоэфиры не только влияли на активность двух электронно-транспортных цепей микросом, но и значительно активировали скорость эндогенного дыхания в микросомах, скорость окисления НАДФ·Н, скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА и скорость ПОЛ, что может свидетельствовать об усилении СРП, накоплении АФК и, возможном развитии свободнорадикальной патологии, в условиях подострого воздействия олигоэфиров на организм (табл. 3.21).

Следует отметить, что скорость эндогенного дыхания повышалась – на 214,8 %; 166, 7% и 125,9 %, скорость окисления НАДФ·Н – на 71,5 %; 67,09 % и 58,86 %, скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА – на 100,1 %; 83,93 % и 73,93 % и скорость ПОЛ – на 453,8 %; 438,5 % и 217,9 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Исследуемые олигоэфиры в 1/100 LD₅₀ повышали содержание цитохрома P₄₅₀ – на 63,9 %; 73,2 % и 41,24 %, цитохрома v₅ – на 74,6 %; 85,8 %; и 90,1 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» (табл. 3.22).

Таблица 3.21

Потребление кислорода микросомами печени под воздействием олигоэфиров в 1/100 LD₅₀ в условиях подострого опыта

| Показатели | Группа животных, M±m | | | |
|---|----------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| Скорость эндогенного дыхания (нмоль O ₂) | 1,35±0,26 | 4,25±0,47* | 3,60±0,54* | 3,05±0,43* |
| Скорость окисления НАДФ·Н (нмоль O ₂) | 3,16±0,37 | 5,42±0,63* | 5,28±0,46* | 5,02±0,64* |
| Скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА(нмоль O ₂) | 2,80±0,43 | 5,60±0,54* | 5,15±0,37* | 4,87±0,54* |
| Скорость перекисного окисления липидов (нмоль O ₂) | 0,39±0,08 | 2,16±0,18* | 2,10±0,35* | 1,24±0,11* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Таблица 3.22

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на содержание микросомальных цитохромов (нмоль/мг белка)

| Показатели | Группа животных, M±m | | | |
|---------------------------|----------------------|---------------|-----------------|------------------|
| | Контроль | Л - 501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601 -2-50 «Р» |
| Цитохром P ₄₅₀ | 0,970±0,035 | 1,590±0,17* | 1,680±0,14* | 1,370±0,12* |
| Цитохром B ₅ | 0,650±0,027 | 1,135±0,08* | 1,208±0,07* | 1,235±0,14* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Олигоэфиры в дозе 1/1000 LD₅₀ не влияют на показатели МОС гепатоцитов.

Таким образом, результаты исследования позволяют судить, что олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ являются индукторами микросомальной гидроксилирующей МОС гепатоцитов; их действие сопряжено с активацией СРП, ПОЛ, накоплением АФК и развитием мембранной молекулярной патологии, которая лежит в основе многих патологических процессов, в том числе и канцерогенеза.

3.5. Состояние обезвреживающей функции печени экспериментальных животных в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров

Попадая в организм, ксенобиотики претерпевают ряд окислительно-восстановительных и гидролитических превращений с образованием более реакционноспособных молекул, которые вызывают молекулярные деструкции и гибель биосистемы. Надо отметить, что процессы окисления в организме – это защитно-приспособительная система, обеспечивающая детоксикацию ксенобиотиков и их выведение из организма. Преобладание же в биосистемах процессов восстановления, напротив, способствует накоплению недоокисленных продуктов и развитию патологий, связанных с окислительным стрессом и гипоксией [90, 138, 181, 194, 229, 266]. Метаболизм ксенобиотиков в биосистеме – это способ защиты от прямого повреждающего чужеродных агентов разного происхождения, включая ксенобиотики. Рассмотрим процесс активации олигоэфирами ферментов биотрансформации для выделения из организма ксенобиотиков, которые длительно поступали в организм белых крыс в эксперименте. Оценка УДФ-глюкуронилтрансферазной активности в микросомах гепатоцитов и содержания глюкуронидов в печени крыс выявила снижение активности фермента, количества общих, связанных и свободных глюкуронидов, что указывает на ингибирование под воздействием олигоэфира в дозе 1/100 LD₅₀ фазы детоксикации метаболитов чужеродных химических соединений (табл. 3.23).

Таблица 3.23

Влияние олигоэфиров в дозах 1/100 и 1/1000 LD₅₀ на активность УДФ-глюкуронилтрансферазы и содержание глюкуронидов в печени белых крыс в условиях подострого опыта

| Показатели | Группа наблюдения, М±m, LD ₅₀ | | |
|---|--|------------|----------|
| | Контроль | Лг – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| УДФ-глюкуронилтрансфераза (нмоль/мин·мг белка) | 3,50±0,24 | 2,15±0,16* | 3,4±0,28 |
| Общие глюкурониды (мкмоль/г) | 92,7±5,8 | 62,8±4,5* | 89,4±5,2 |
| Связанные глюкурониды (мкмоль/г) | 50,6±3,5 | 27,3±1,84* | 47,5±4,6 |
| Свободные глюкурониды (мкмоль/г) | 42,2±4,4 | 35,3±1,68* | 41,7±4,3 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Изучение влияния олигоэфира в подостром опыте на белых крысах в дозе 1/100 LD₅₀, выявило нарушение структурно-метаболического состояния функции печени и АОС на фоне дисфункции обмена липидов, белков, углеводов, нуклеиновых кислот. Вещество в дозе 1/1000 LD₅₀ не оказывало влияние на метаболические показатели при длительном субтоксическом влиянии на опытных животных. Определение обезвреживающей функции печени в той же действующей дозе других изучаемых олигоэфиров выявило также снижение активности фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы в микросомальной фракции гепатоцитов – на 36,9 %; 41,1 % и 43,1 %, Г – SH в печени – на 60 %; 51,42 % и 37,14 %, на фоне увеличения содержания окисленного глутатиона в печени – на 291,9 %; 243,2 % и 267,6 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р» по сравнению с контролем (табл. 3.24).

Эти результаты убедительно подтверждают вывод о снижении дезинтоксикационной, антиокислительной и обезвреживающей функции

печени, обусловленном угнетением системы антиоксидантной и антиперекисной защиты.

Таблица 3.24

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на обезвреживающую функцию печени

| Показатели | Группа наблюдения, М±m | | | |
|---|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б»n=10 | Л-1601-2-50«Р» n=10 |
| УДФ- глюкуронилтрансфера за (нмоль/мин·мг белка), микросомы гепатоцитов | 3,65±0,34* | 2,30±0,21* | 2,15±0,16* | 2,08±0,13* |
| Г – SH (мкмоль/г), печень | 7,30±0,84* | 3,57±0,29* | 3,18±0,32* | 3,46±0,44* |
| Окисленный глутатион (мкмоль/г), печень | 0,37±0,07* | 1,45±0,12* | 1,27±0,15* | 1,36±0,18* |
| Цистеин (мкмоль/г), печень | 0,35±0,02* | 0,14±0,004* | 0,17±0,03* | 0,22±0,02* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, $p < 0,05$.

Большой интерес при изучении антиоксидантной функции печени при действии олигоэфиров представляет изучение процессов сульфатной и ацетильной конъюгации. Особенно и в связи с тем, что на уровне организма человека присущ известный генетический полиморфизм N – ацетилтрансферазы, который обуславливает наличие в средневропейской популяции – 60% медленных ацетиляторов и 40 % быстрых [180, 252]. Изучение влияния олигоэфиров в 1/100 и 1/1000 LD₅₀ в эксперименте на способность образования сульфатной и ацетильной конъюгации выявило существенное снижение активности фермента арилсульфотрансферазы и увеличение активности N – ацетилтрансферазы (табл. 3.25).

Так, вещества в дозе 1/100 LD₅₀ снижали активность арилсульфотрансферазы – на 48,88%, содержание общих сульфатов – на 42,49%, связанных сульфатов – на 69,30% на фоне повышения количества

свободных сульфатов – на 88,46%, у групп животных, подвергавшихся воздействию Лт - 803.

Таблица 3.25

Активность арилсульфотрансферазы и N – ацетилтрансферазы в постмитохондриальной фракции и содержание сульфатов и КоА в печени под влиянием олигоэфиров

| Показатели | Группа наблюдения, $M \pm m$, LD ₅₀ | | |
|---|---|-------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| Арилсульфотрансфераза (нмоль/мин·мг белка) | 0,41±0,012 | 0,21±0,011* | 0,39±0,02 |
| Общие сульфаты (мкмоль/г) | 1,53±0,06 | 0,88±0,06* | 1,54±0,08 |
| Свободные сульфаты (мкмоль/г) | 0,26±0,012 | 0,49±0,05* | 0,25±0,013 |
| Связанные сульфаты (мкмоль/г) | 1,27±0,05 | 0,39±0,03* | 1,29±0,07 |
| N-ацетилтрансфераза (нмоль/мин·мг белка) | 0,22±0,03 | 0,51±0,06* | 0,21±0,04 |
| Общее содержание КоА(нмоль/г печени) | 274,8±12,3 | 874,5±30,2* | 268,7±15,3 |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

При этом следует отметить повышение активности N-ацетилтрансферазы – на 131,8 % и общего содержания в печени КоА – на 218,23%, под воздействием олигоэфиров марок Лт - 803.

Детоксикация организма происходит опосредованно через глутатион-S-трансферазу, что повышает устойчивость клеточных мембран к продуктам ПОЛ и СРО. Определение активности в постмитохондриальной фракции печени и содержания глутатиона, а также цистеина в печени выявило значительное ингибирование фермента, снижение содержания Г – SH, цистеина, на фоне повышения количества окисленного глутатиона – глутатиондисульфида (табл. 3.26).

Таблица 3.26

Активность глутатион-S-трансферазы в постмитохондриальной фракции печени и содержание глутатиона и цистеина в печени под влиянием олигоэфиров

| Показатели | Группа наблюдения, M±m, LD50 | | |
|--|------------------------------|-------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| Глутатион-S- трансфераза (нмоль/мин·мг белка) | 37,4±2,63 | 12,8±0,97* | 35,86±2,73 |
| Г – SH (мкмоль/г) | 7,20±0,68 | 4,15±0,38* | 7,10±0,76 |
| Глутатиондисульфид (мкмоль/г) | 0,29±0,017 | 0,94±0,06* | 0,32±0,05 |
| Цистеин (мкмоль/г) | 0,32±0,05 | 0,17±0,014* | 0,27±0,07 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Эти результаты свидетельствуют о том, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ ингибируют образование глутатионовых конъюгаций и антиоксидантную способность тканей печени, что в комплексе обнаруженных нарушений этой дозы указывает на снижение обезвреживающей и дезинтоксикационной функции печени. Даже в малых дозах 1/100 LD₅₀ такие результаты свидетельствуют о прямом воздействии продуктов ПОЛ и СРО на клеточные мембраны. Изучение в подостром опыте состояния АОС печени животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиров Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в дозе 1/10 LD₅₀, обнаружило дисфункцию оксидантно-антиоксидантных метаболических процессов. Они характеризовались снижением содержания в печени гликогена, Г – SH , цистеина и активности ферментов Г-6-Фазы, Г-6-ФДГ, каталазы на фоне повышения уровня окисленного глутатиона, МДА, ДК, СОД и активности ферментов МОС микросом гепатоцитов – НАДФН-редуктазы, НАДН-редуктазы. Так, уровень Г – SH снижался в печени – на 48,8%; 38,30 % и 42,9 %, цистеина – на 55,6 %; 41,7 % и 30,56 %, гликогена – на 74,75 %; 77,5 % и 71,4 % на фоне уменьшения активности Г-6-Фазы – на 50,2%; 41,85% и 46,01%, Г-6-ФДГ – на 60,3%; 48,53% и 52,95%, каталазы – на 59,04%; 55,65 % и 56,3 %, увеличения СОД – на 102,86 %; 78,57 % и 82,85% (табл. 3.27).

Таблица 3.27

Состояние оксидантно-антиоксидантных процессов у белых крыс, подвергавшихся воздействию в подостром опыте олигоэфирами в дозе 1/10 LD₅₀

| Показатели, органы и ткани | Группа наблюдения М±m | | | |
|---|-----------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| Г – SH (мкмоль/1г), печень | 6,74±0,38 | 3,45±0,29* | 4,16±0,33* | 3,85±0,27* |
| Оксисленный глутатион (мкмоль/ 1г), печень | 0,38±0,05 | 1,93±0,18* | 1,35±0,24* | 1,64±0,23* |
| Цистеин (мкмоль/1г), печень | 0,36±0,04 | 0,16±0,02* | 0,21±0,05* | 0,25±0,03* |
| МДА (нмоль/мг белка), микросомальная фракция | 8,12±0,97 | 16,4±1,3* | 15,2±0,95* | 18,7±1,6* |
| НАДФ·Н-редуктаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 61,7±4,58 | 92,3±5,6* | 89,4±6,1* | 95,3±7,2* |
| НАД·Н-редуктаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 79,4±3,26 | 112,5±7,4* | 105,3±6,7* | 109,7±5,4* |
| Г-6-Фаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 9,63±0,74 | 4,8±0,53* | 5,6±0,43* | 5,2±0,64* |
| Г-6-ФДГ (мкмоль/мин· мг белка), печень | 0,68±0,014 | 0,27±0,04* | 0,35±0,03* | 0,32±0,04* |
| Гликоген (мкмоль глюкозы/г печени) | 45,7±8,6 | 36,8±3,5* | 47,4±4,4* | 41,7±5,3* |
| Свободные жирные кислоты (ммоль/л), сыворотка крови | 0,66±0,07 | 1,86±0,12* | 1,63±0,09* | 1,95±0,14* |
| Каталаза (Ед. акт), печень | 7,69±0,62 | 3,150,24* | 4,18±0,36* | 3,36±0,17* |
| СОД (Ед. акт.), печень | 2,10±0,17 | 4,26±0,43* | 3,45±0,18* | 3,87±0,26* |
| ДК (нмоль/мг белка), микросомальная фракция печени | 24,65±1,8 | 76,52±4,16* | 71,58±5,62* | 74,35±6,43* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Вместе с тем, при действии $1/10 LD_{50}$ тех же олигоэфиров наблюдалось повышение в печени содержания окисленного глутатиона – на 589,3 %; 382,1% и 485,7 %, МДА – на 101,9 %; 87,2 % и 130,3 %, ДК – на 210,4 %; 190,4 % и 201,6 %; активности НАДФН-редуктазы – на 49,6 %; 44,9 % и 54,45%, НАДН-редуктазы – на 41,68 %; 32,6 % и 38,16 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р».

Оценка динамических показателей свидетельствует, что олигоэфиры в дозе $1/10 LD_{50}$ активируют СРП, ПОЛ, ингибируют систему антирадикальной и антиперекисной защиты на фоне преобладания катаболических процессов, над анаболическими синтезами.

Анализ показывает, что исследуемые олигоэфиры в дозе $1/10 LD_{50}$ при подостром воздействии на организм теплокровных животных, приводят к срыву защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостатической функции организма и подавлению восстановительных синтезов, что неизбежно приводит к структурно-метаболическим нарушениям, в основе которых лежит свободнорадикальная мембранная патология.

Патогенетическими звеньями, развития которой, являются стимуляция СРП, ПОЛ, ингибирование АОС, нарушение структурно-метаболических свойств мембран, тканевая гипоксия и метаболический хаос.

Результаты изучения влияния олигоэфиров Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в $1/100 LD_{50}$ на состояние АОС выявили, существенные и отличительные особенности динамики исследуемых показателей. Они характеризовались значительной активацией системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма и напряжением метаболических процессов направленных на обеспечение восстановительных синтезов.

Олигоэфиры в $1/100 LD_{50}$ приводили к незначительному снижению восстановленного глутатиона на – 23,45 %; 26,6 % и 22,4 %, цистеина – на 25%, 19,45 % и 30,56 % и активности фермента Г-6-Фазы – на 27,63 %; 24,93 %

и 23,2 %, гликогена – на 43,52 %; 33,57 % и 42,11 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Вместе с тем, действие этой дозы повышало в печени содержание окисленного глутатиона – на 521,4 %; 478,6 % и 550,1%, МДА на – 55,2 %; 47,16 % и 32,14%, ДК – на 180,8 %; 120,9 % и 154,6 %, при этом, активность НАДФН-редуктазы повышалась – на 23,7 %; 21,26 % и 19,7 %, НАДН – редуктазы – на 20,15 %; 15,05 % и 8,85 %, Г-6-ФДГ – на 42,6 %; 26,5% и 38,2%, каталазы на – 27,2 %; 25,2% и 20,28 % и СОД – на 63,8 %; 47,6% и 40,95 %.

В сыворотке крови отмечалось увеличение уровня свободных жирных кислот на – 101,5 %; 87,87 % и 74,2 %, соответственно у групп животных подвергавшихся пероральному воздействию в подостром опыте Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р».

Анализ динамических показателей (табл. 3.28) СРП, ПОЛ и ингибируют неферментную антиоксидантную защиту печени. Эти процессы протекают на фоне активации ферментативной антирадикальной и антиперекисной защиты.

При этом следует отметить, как усиление катаболических процессов, так и активизацию восстановительных синтезов, что свидетельствует о существенном напряжении защитно-приспособительных механизмов направленных на обеспечение гомеостатической функции печени.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют судить, что вещества в 1/100 LD₅₀ способны стимулировать СРП, ПОЛ, окислительную модификацию белков и подавлять систему антирадикальной и антиперекисной защиты, сопряженных с нарушением белкового, углеводного, жирового и нуклеинового обмена.

Обладая мембранотропным действием, олигоэфирные способны оказывать, в первую очередь, повреждающее действие на орган, который играет ведущую роль в системе детоксикации ксенобиотиков – печень.

Таблица 3.28

Состояние оксидантно-антиоксидантных процессов у белых крыс подвергавшихся воздействию в подостром опыте олигоэфирами 1/100 LD₅₀.

| Показатели, органы и ткани | Группа наблюдения M±m | | | |
|---|-----------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| Г – SH (мкмоль/1г), печень | 6,74±0,38 | 5,16±0,43* | 4,95±0,37* | 5,23±0,31* |
| Оксисленный глутатион (мкмоль/ 1г), печень | 0,28±0,05 | 1,74±0,12* | 1,62±0,14* | 1,85±0,17* |
| Цистеин (мкмоль/1г), печень | 0,36±0,04 | 0,27±0,03* | 0,29±0,04* | 0,25±0,03* |
| МДА (нмоль/мг белка), микросомальная фракция | 8,12±0,97 | 12,6±1,3* | 11,95±0,87* | 10,73±0,65* |
| НАДФ·Н – редуктаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 61,7±4,58 | 76,32±3,54* | 74,82±4,10* | 73,90±3,60* |
| НАД·Н – редуктаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 79,4±3,26 | 95,40±5,70* | 91,35±4,26* | 86,43±5,14* |
| Г-6-Фаза (нмоль/мин· мг белка), микросомальная фракция печени | 9,63±0,74 | 6,97±0,54* | 7,23±0,68* | 7,40±0,56* |
| Г-6-ФДГ (мкмоль/мин· мг белка), печень | 0,68±0,014 | 0,97±0,07* | 0,86±0,06* | 0,94±0,05* |
| Каталаза (Ед. акт), печень | 7,69±0,62 | 9,78±0,57* | 9,63±0,44* | 9,25±0,68* |
| СОД (Ед. акт.), печень | 2,10±0,17 | 3,44±0,26* | 3,10±0,23* | 2,96±0,18* |
| Гликоген (мкмоль глюкозы/г печени) | 145,7±8,6 | 82,3±7,15* | 96,8±5,23* | 84,35±6,10* |
| Свободные жирные кислоты (ммоль/л), сыворотка крови | 0,66±0,07 | 1,33±0,12* | 1,24±0,09* | 1,15±0,07* |
| ДК (нмоль/мг белка), микросомальная фракция печени | 24,65±1,8 | 69,23±6,5* | 54,47±4,82* | 62,75±5,28* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ в условиях подострого воздействия на белых крыс способствуют стимуляции СРП, ПОЛ, повышению активности системы антирадикальной и антиперекисной защиты на фоне значительного напряжения адаптационно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма. При более высокой дозе $1/10 LD_{50}$ олигоэфиры приводят к ингибированию активности АОС и системы детоксикации ксенобиотиков в условиях активации СРП, ПОЛ, что свидетельствует о срыве адаптационных механизмов и развитии мембранной патологии при дисфункции системно-антисистемных взаимодействий оксидантной и антиоксидантной систем. Наиболее информативными показателями срыва защитно-приспособительных механизмов является повышение МДА, диенов и SH-групп на фоне снижения активности ферментов антирадикальной защиты, что указывает на развитие мембранной патологии.

Олигоэфиры в исследуемых дозах, активируют в печени СРП, ПОЛ. В дозе $1/10 LD_{50}$ они истощают АОС и формируют развитие молекулярной мембранной патологии, обеспечивая превалирование катаболических процессов над анаболическими синтезами, что характеризуется срывом защитно-приспособительных механизмов. В дозе $1/100 LD_{50}$ они активируют систему антирадикальной, антиперекисной защиты организма, сопровождающуюся усилением как катаболических процессов, так и анаболических синтезов, что указывает на значительное напряжение защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостаза.

3.6. Оценка NO-синтазной окислительной системы и декарбоксилазной активности организма

Изучение состояния NO-синтазной окислительной системы у белых крыс, подвергавшихся воздействию в подостром опыте олигоэфирами, и обоснование пороговых и максимально недействующих доз обусловлено тем, что активация свободнорадикальных процессов сопряжена метаболически с

образованием оксида азота (NO), который играет универсальную роль модулятора многих физиологических функций сердечно-сосудистой, центральной нервной, иммунной, мышечной, дыхательной, пищеварительной и др. систем организма. Оксид азота отвечает за тонус сосудов, межклеточную коммуникацию, модуляцию нейротрансмиссии, уровень иммунной цитотоксичности, секрецию гормонов, медиаторов [100]. Вместе с тем, оксид азота, является потенциально токсической молекулой, которая широко представлена при гипертензии, сахарном диабете, новообразованиях, нейродегенеративных процессах, атеросклерозе, циррозе печени, болезнях почек и других заболеваниях и патологических процессах. Эта молекула может быть губительной как для клеток, включая раковые, так и для внутриклеточных патогенных микроорганизмов. Установлено, что цитотоксичность NO является результатом образования большого количества этих молекул, которые инициируют апоптоз. Двойственность действия NO проявляется в способности защищать клетки от апоптозных сигналов и вызывать апоптоз. Будет ли молекула NO обладать цитотоксическими свойствами, зависит от типа клетки, фазы ее развития, биоэлектрического потенциала, локальной концентрации NO и других АФК. Свободный радикал NO в клетках быстро взаимодействует с молекулярным кислородом, супероксидным анион-радикалом кислорода и металлами гемовых и негемовых белков. Вследствие этого в клетке образуются нитрозильные комплексы гемового и негемового железа. Непосредственно с SH-группами белков взаимодействует NO^+ , который образуется из NO после восстановления или взаимодействия с металлами. В результате этого в клетках, при достаточном количестве тиолов, под влиянием NO осуществляется нитрозилирование и изменение активности металлосодержащих белков и белков, которые имеют активные цистеиновые центры. Регуляция активности белков нитрозилированием – один из способов контроля функции белков в клетке. При образовании большого количества NO, он под влиянием NO-синтазы может взаимодействовать с супероксидным анионом, образуя другую

активную форму кислорода – пероксинитрит (ONOO^-), который способен вступать в реакцию восстановления с глутатионом и углекислым газом. В этом случае образуется нитропероксикарбонат ($\text{ONO}_2\text{CO}_2^-$), который легко вызывает химическую модификацию реактивных остатков тирозина в белках, что сопровождается изменением их активности. Кроме того, токсический пероксинитрит способен неэнзиматически продуцировать гидроксильные токсические радикалы (OH^\cdot), включая таким образом молекулы NO в процесс образования новых АФК. Последние (OH^\cdot , NO^\cdot , ONOO^\cdot) обладают свойствами окислять белки и липиды, нарушать структуру биологических мембран. Повышение количества АФК в клетке может трансформировать эффекты NO из защитных в цитотоксические.

Изучение состояния NO -синтазной окислительной системы у белых крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров, обнаружило увеличение содержания в сыворотке крови метаболитов обмена оксида азота – нитритов, нитратов, S-нитрозотиолов – и активности эндотелиальной и индуцибельной NOS в группах, под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50} . Действие 1/1000 LD_{50} не привело к изменению показателей NO -синтазной окислительной системы при сравнении их с группой контроля. Наиболее значимые динамические нарушения дисфункции данной системы наблюдались под влиянием 1/10 LD_{50} (табл. 3.29). Исследования обнаружили, что олигоэфиры в дозе 1/10 LD_{50} повышали в сыворотке крови содержание NO_2^- – на 110,2 %; 91,3 % и 124,4 %, NO_3^- – на 45,9 %; 34,4 % и 59,4%, активность эндотелиальной NOS – на 64,9%; 38,6% и 59,6%, индуцибельной NOS – на 123,1; 111,5% и 138,5%, соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р». Ксенобиотики в дозе 1/100 LD_{50} оказывали менее значимое влияние на уровни исследуемых показателей. Так, при дозе 1/100 LD_{50} содержание нитритов увеличивалось на 84,2 %; 62,9 % и 93,7 %, нитратов – на 34,04 %; 17,4% и 42,5%, S-нитрозотиолов – на 28,1%; 18,7% и 43,7%, активность эNOS повышалась на 50,8 %; 28,1 % и 47,4 %, и иNOS – на 100 %; 84,6 % и 115,4 %.

Таблица 3.29

Влияние олигоэфиров на состояние NO-синтазной окислительной системы в подостром опыте

| Показатели | Доза LD ₅₀ | Группа наблюдения, вещества (M±m) | | | |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|
| | | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» | Контроль |
| NO ₂ (мкм/л) | 1/10 | 26,7±1,5* | 42,3±1,7* | 28,5±2,1* | 12,7±1,4 |
| | 1/100 | 23,4±1,8* | 20,7±1,3* | 24,6±1,5* | |
| | 1/1000 | 10,6±1,3 | 11,8±1,1 | 12,2±1,6 | |
| NO ₃ (мкм/л) | 1/10 | 34,3±2,2* | 31,5±1,6* | 37,2±2,3* | 23,5±1,6 |
| | 1/100 | 31,5±2,4* | 27,6±2,1* | 33,5±2,7* | |
| | 1/1000 | 21,7±1,8 | 22,5±1,4 | 20,9±1,7 | |
| S-нитрозотиол (ммоль/л) | 1/10 | 0,47±0,04* | 0,43±0,05* | 0,51±0,04* | 0,32±0,03 |
| | 1/100 | 0,41±0,05* | 0,38±0,03* | 0,46±0,05* | |
| | 1/1000 | 0,29±0,03 | 0,28±0,04 | 0,31±0,03 | |
| э NOS (ммоль/мин·мг белка) | 1/10 | 0,94±0,06* | 0,79±0,05* | 0,91±0,07* | 0,57±0,08 |
| | 1/100 | 0,86±0,07* | 0,73±0,06* | 0,84±0,08* | |
| | 1/1000 | 0,42±0,05 | 0,48±0,04 | 0,52±0,05 | |
| и NOS (ммоль/мин·мг белка) | 1/10 | 0,58±0,05* | 0,55±0,06* | 0,62±0,05* | 0,26±0,04 |
| | 1/100 | 0,52±0,04* | 0,48±0,03* | 0,56±0,04* | |
| | 1/1000 | 0,20±0,03 | 0,22±0,04 | 0,21±0,03 | |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Оценка окислительной NOS-системы свидетельствовала о повышении продукции оксида азота, которое имело тесную связь с дозой воздействия олигоэфиров.

Эти результаты подтверждались высокими уровнями в сыворотке крови нитритов, нитратов и активностью эндотелиальной и индуцибельной NOS. Анализ показывает, что олигоэфиры вызывают активацию NOS-окислительной медиаторной системы, сопровождающуюся развитием эндогенной интоксикации, степень которой сопряжена с тяжестью течения патологического процесса и уровнем оксида азота. Учитывая механизмы действия иNOS и эNOS, следует полагать, что данные ферменты катализируют образование существенного количества NO в ответ на химическую стимуляцию

олигоэфирами. Механизм действия этих изоформ ферментов сходен и состоит в следующем: ионы Ca^{2+} под влиянием нейромедиаторных стимулов входят в клетку, где в цитозоле связываются в единый комплекс с кальцийсвязывающим белком кальмодулином. Комплекс Ca^{2+} –кальмодулин выступает как кофактор и активирует NOS и продукцию оксида азота. Последний, в свою очередь, активирует клеточный цитоплазматический фермент ГЦ, что приводит к образованию цГМФ, который опосредует все эффекты NO через сложную систему биохимических реакций, инициируя многочисленные биохимические процессы и развитие патологических состояний [273, 274]. Существенное накопление NO в клетке приводит к быстрому взаимодействию его с молекулярным кислородом, супероксидным анион-радикалом, металлами гемсодержащих и негемовых белков и продукции реакционноспособных АФК, свободных радикалов, перекисей, гидроперекисей, обладающих мембрано-повреждающим действием.

Таким образом, олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD_{50} приводят к значительному накоплению оксида азота, свободных радикалов, АФК, перекисей, гидроперекисей, обладающих мембранотропным действием и формирующих развитие свободнорадикальной патологии. В дозе 1/1000 LD_{50} все вещества не влияли на NO-синтазную окислительную систему и СРП.

3.7 Содержание макроэргических соединений, дыхательной и фосфорилирующей функций митохондрий гепатоцитов под влиянием субтоксических доз олигоэфиров

Изучение влияния новой группы олигоэфиров на сопряженные процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в условиях подострого эксперимента на белых крысах обусловлено тем, что в условиях тканевого поражения, независимо от вызывающих причин, наблюдается дефицит богатых энергией фосфорных соединений (АТФ, креатинфосфата), что обусловлено, в основном снижением интенсивности окислительного ресинтеза АТФ в

митохондриях. При этом наблюдается снижение коэффициента фосфорилирования АТФ/ O_2 , дыхательного коэффициента Ларди и активности фермента – митохондриальной АТФ-азы. Авторы отмечают, что степень нарушения функционального состояния митохондрий зависит от интенсивности структурно-метаболических повреждений. Наряду со снижением окислительного ресинтеза АТФ в пораженной ткани, уменьшается и образование АТФ гликолитическим путем. Нарушаются не только энергогенерирующие процессы, но и процессы транспорта энергии, что выражается в значительном снижении активности КФК– основного фермента в цепи транспорта энергии от мест ее образования к местам использования. Это приводит к значительному дефициту энергии в мышечной ткани. Недостаток энергетического обеспечения снижает функциональную активность организма. Нарушение образования энергии, ее транспорта и утилизации не может не сказаться на функции различных органов и тканей и их структуре. Как правило, существует прямая зависимость между истощением резерва АТФ и необратимыми повреждениями тканей [258, 261, 268, 273, 324].

Реакции, приводящие к эндергоническому образованию АТФ из АДФ и неорганического фосфата, являются важнейшим сопрягающим фактором катаболических процессов и анаболических синтезов в использовании макроэргических соединений для обеспечения жизнедеятельности клетки и организма в целом.

Изучение влияния новой группы олигоэфиров на состояние некоторых показателей энергетического и углеводного обмена в условиях подострого воздействия на организм белых крыс приводит к пониманию механизмов развития повреждающего действия при воздействии вредных факторов, что тесно связано с глубоким и всесторонним изучением патофизиологических особенностей формирования структурно-метаболических нарушений в кооперативном взаимодействии интегративных регуляторных систем, обеспечивающих нормальную трофику и функционирование.

Хорошо известно, что трофические процессы органов и тканей определяются не только их кровоснабжением, но и не в меньшей степени интенсивностью и направленностью обменных процессов, зависящих от регулирующего влияния нейрогуморальных факторов. Поэтому становится очевидным, что в патогенезе возникновения многих заболеваний решающее значение могут приобретать изменения процессов метаболизма, особенно связанных с биоэнергетикой и нарушением коррелятивных функций центральной, периферической и внутриклеточной систем регуляции. Следует отметить, что большинство исследований, посвященных изучению систем регуляции и метаболизма, уделяют достаточное внимание ранним стадиям развития патологического процесса, когда еще не отмечаются грубые морфологические изменения и существует возможность предотвратить дальнейшие нарушения. Существующие методы моделирования патологических процессов дают возможность проследить изменение многих параметров, характеризующих функциональную активность организма, систем регуляции и управления, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма.

Анализ изучения состояния биоэнергетических процессов при влиянии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в $1/10 LD_{50}$ выявил снижение в печени содержания АТФ, АДФ, креатинфосфата, цГМФ, суммарного количества адениннуклеотидов на фоне повышения уровня АМФ, неорганического фосфора и цАМФ (табл. 3.30).

Исследованием было установлено, под воздействием олигоэфиров в дозе $1/100 LD_{50}$, снижение содержания в печени АТФ – на 70 %; 65,4 % и 61,66 %, АДФ – на 45,8 %; 37,6 % и 52,13 %, креатинфосфата – на 53,2 %; 47,6 % и 62,1%, цГМФ – на 43,5 %; 33,5 % и 49,5 %, суммарного количества адениннуклеотидов – на 38,8 %; 36,9 % и 34,1 % на фоне увеличения в данном органе уровня АМФ – на 82,36 %; 64,7 % и 94,1 %, неорганического фосфора –

на 44,36 %; 37,4 % и 50,8 %, в группах животных, подвергавшихся воздействию Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р».

Таблица 3.30

Состояние биоэнергетических процессов у белых крыс под воздействием олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения, М±m | | | |
|---|------------------------|-------------|-----------------|------------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601- 2-50 «Р» |
| АТФ (мкмоль/г печени) | 2,40±0,13 | 0,72±0,06* | 0,83±0,07* | 0,92±0,08* |
| АДФ (мкмоль/г печени) | 1,17±0,08 | 0,64±0,04* | 0,73±0,05* | 0,56±0,04* |
| Креатинфосфат (мкмоль/г печени) | 1,24±0,06 | 0,58±0,03* | 0,65±0,06* | 0,47±0,05* |
| цГМФ (нмоль/г печени) | 38,2±4,3 | 21,6±2,5* | 25,4±1,7* | 19,3±1,56* |
| Сумма адениннуклеотидов (мкмоль/г печени) | 4,25±0,08 | 2,60±0,06* | 2,68±0,06* | 2,80±0,07* |
| АМФ(мкмоль/г печени) | 0,68±0,03 | 1,24±0,08* | 1,12±0,07* | 1,32±0,09* |
| Неорганический фосфор (мкмоль/г печени) | 6,20±0,37 | 8,95±0,56* | 8,52±0,64* | 9,35±0,86* |
| цАМФ (нмоль/г печени) | 563,4±48,2 | 874,6±39,5* | 853,7±41,2* | 910,4±53,8* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфиры марок Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р» в дозе 1/100 LD₅₀ ингибируют процессы биоэнергетики, разобщают процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования на фоне превалирования катаболических реакций над анаболическими синтезами. В дозе 1/1000 LD₅₀ олигоэфиры не влияют на биоэнергетические процессы у экспериментальных животных. Исследование содержания в печени макроэргических соединений и метаболитов энергетического обмена

обнаружило снижение под влиянием Лт – 803 в 1/100 LD₅₀ олигоэфиров содержания АТФ, АДФ и повышение количества АМФ и неорганического фосфата (табл. 3.31).

Таблица 3.31

Влияние олигоэфирциклокарбоната в 1/100 LD₅₀ в подостром опыте на энергетический метаболизм

| Показатели | Вещества, М±m, LD ₅₀ | | |
|--|---------------------------------|-------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| АТФ (мкмоль/г печени) | 2,16±0,08 | 0,68±0,05* | 2,14±0,06 |
| АДФ (мкмоль/г печени) | 1,14±0,05 | 0,55±0,03* | 1,18±0,08 |
| АМФ (мкмоль/г печени) | 0,78±0,03 | 1,42±0,07* | 0,75±0,06 |
| Неорганический фосфор (мкмоль/г печени) | 6,28±0,43 | 3,48±0,68* | 6,33±0,47 |
| цАМФ (нмоль/г печени) | 630,4±37,5 | 896,7±43,2* | 628,7±32,5 |
| цГМФ (нмоль/г печени) | 35,3±6,2 | 19,68±1,85* | 36,9±4,80 |
| Сумма аденин нуклеотидов (мкмоль/г печени) | 4,08±0,08 | 2,65±0,05* | 4,07±0,06 |
| Креатинфосфат (мкмоль/г печени) | 1,15±0,05 | 0,52±0,03* | 1,14±0,06 |
| Энергетический потенциал: АТФ+1/2АДФ АТФ+АДФ+АМФ | 0,669±0,05 | 0,36±0,03* | 0,67±0,06 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Вещества в дозе 1/1000 LD₅₀ не оказывали влияние на эти показатели. Так, олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ снижал содержание в печени АТФ – на 68,52 %, АДФ – на 51,76 % на фоне повышения количества АМФ – на 82,05% и неорганического фосфата – на 50,15 %, под влиянием Лт – 803. Анализ динамики внутриклеточных медиаторов выявил повышение уровня цАМФ и снижение – цГМФ. Содержание цАМФ повышалось – на 42,24 % и цГМФ снижалось – на 44,24 %, у групп животных, подвергавшихся воздействию Лт – 803. Эти результаты свидетельствуют о возможном преобладании катаболических процессов над анаболическими синтезами. Сумма адениловых нуклеотидов (АТФ+АДФ+АМФ) и содержание креатинфосфата существенно снижались в печени подопытных групп животных сравнительно с контролем. Уровень адениннуклеотидов под влиянием 1/100 LD₅₀ снижался – на 35,05 %, а креа-

тинфосфата – на 54,79 %, у групп животных под воздействием Лт – 803. Подавление процессов биоэнергетики подтверждалось также снижением энергетического потенциала гепатоцитов, который ингибировался – на 46,19 %, под влиянием Лт - 803. Результаты исследования свидетельствуют, что олигоэфир Лт - 803 в дозе 1/100 LD₅₀ в условиях подострого эксперимента, способен ингибировать тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование на фоне разобщения этих процессов и снижения синтеза АТФ. В дозе 1/1000 LD₅₀ вещество не нарушает биоэнергетический гомеостаз. Олигоэфир Лт - 803 в дозе 1/100 LD₅₀ снижает резервы макроэргических соединений (АТФ, АДФ, креатинфосфат) и повышают содержание АМФ и неорганического фосфата на фоне ингибирования энергетического потенциала и преобладания катаболических процессов, над анаболическими синтезами. Изучение влияния новой группы олигоэфиров на метаболическое состояние печени, а также некоторые показатели энергетического и углеводного обмена в условиях подострого эксперимента дает обоснование патофизиологических механизмов развития структурно-метаболических нарушений, которые лежат в основе возникновения патологических состояний и заболеваний, связанных с кризисным состоянием сред обитания человека. Результаты исследования метаболического состояния митохондрий гепатоцитов крыс, подвергавшихся воздействию ксенобиотиков в дозе 1/10 LD₅₀, представлены в табл. 3.32.

Обнаружено по сравнению с контролем ингибирование дыхания митохондрий после добавления сукцината (в метаболическом состоянии V4), АДФ (V3) и разобщителя – 2,4-динитрофенола (V4^P). Эти процессы сопровождались уменьшением величины дыхательного коэффициента и коэффициента фосфорилирования. Было установлено снижение дыхания митохондрий в метаболическом состоянии V4 – на 38,8 %; 34,52 % и 37,16%; V3 – на 51,16 %; 48,7 % и 50,10 %; V4^P – на 57,3 %; 56,12 % и 49,77 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р» по сравнению с показателями в интактной группе. При этом отмечалось снижение величины дыхательного коэффициента – на 19,10 %; 20,24 % и 20,53%, коэффициента фосфорилирования – на 58,75%; 53,85% и 61,54%, соответственно у групп животных, под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р».

Таблица 3.32

Метаболическое состояние митохондрий гепатоцитов крыс в условиях подострого опыта под воздействием олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения, M±m | | | |
|---|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50«Б» n=10 | Л-1601-2-50«Р» n=10 |
| Дыхание митохондрий после добавления сукцината (V4), нмоль O ₂ /мин·мг белка | 1,83±0,16 | 1,12±0,05* | 1,18±0,07* | 1,15±0,06* |
| Дыхание после добавления АДФ (V3), нмоль O ₂ /мин · мг белка | 6,35±0,57 | 3,14±0,18* | 3,26±0,22* | 3,17±0,25* |
| Дыхание после добавления разобшителя 2,4-ДНФ (V4 ^P), нмоль O ₂ /мин·мг белка | 7,68±0,73 | 3,28±0,24* | 3,37±0,33* | 3,19±0,28* |
| Дыхательный коэффициент, ДК=V3/V4, отн. ед. | 3,46±0,36 | 2,80±0,12* | 2,76±0,20* | 2,75±0,15* |
| Коэффициент фосфорилирования, АДФ/O ₂ | 2,86±0,25 | 1,18±0,05* | 1,32±0,07* | 1,10±0,04* |
| Mg ²⁺ -АТФ-аза (мкмоль P _n /мг белка·1 ч) | 84,32±6,10 | 41,73±3,44* | 43,80±2,96* | 39,76±3,52* |
| Ca ²⁺ -АТФ-аза (мкмоль P _n /мг белка·1 ч) | 69,84±4,53 | 32,46±2,75* | 35,42±2,58* | 43,62±3,78* |
| H ⁺ -АТФ аза (мкмоль P _n /мг белка·1 ч) | 77,54±5,83 | 34,27±2,56* | 36,43±3,25* | 31,66±3,15* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Активность митохондриальной Ca^{2+} - и Mg^{2+} -зависимой АТФ-азы также существенно ослаблялась под влиянием исследуемых олигоэфиров. Так, активность Mg^{2+} -АТФ-азы была снижена на 50,51 %; 48,10 % и 37,55 %; Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы – на 53,53 %; 49,30 % и 37,5 %. Сходная динамика была свойственна и для H^+ -АТФ-азы, активность этого фермента снижалась соответственно – на 55,8 %; 53,02 % и 59,17 %. Исследования свидетельствуют, что олигоэфиры в дозе $1/10 \text{ LD}_{50}$ ингибируют дыхание и окислительное фосфорилирование на фоне увеличения доли свободного дыхания. Изучение влияния олигоэфиров на метаболическое состояние митохондрий гепатоцитов в условиях подострого опыта показало, что ксенобиотики в дозах $1/10$ и $1/100 \text{ LD}_{50}$ нарушают процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. В дозе $1/1000 \text{ LD}_{50}$ олигоэфиры не влияли на процессы биоэнергетики. Падение величин дыхательного коэффициента и коэффициента фосфорилирования дает основание судить о разобщении дыхания и окислительного фосфорилирования на фоне ингибирования продукции АТФ, что может быть связано с нарушением физико-химических и структурно-метаболических свойств митохондриальных мембран. Эти данные подтверждались также снижением ферментативной активности Ca^{2+} -АТФ-азы, Mg^{2+} -АТФ-азы и H^+ -АТФ-азы, что в комплексе обнаруженных изменений указывает на ингибирование процессов биоэнергетики и тканевого дыхания под воздействием олигоэфиров.

Так, результаты воздействия олигоэфиров в дозе $1/100 \text{ LD}_{50}$ обнаружили снижение скорости окисления субстрата сукцината ферментом СДГ в метаболическом состоянии дыхательной электронно-транспортной цепи митохондрий V4, по сравнению с группой контрольных животных, что связано, возможно, со значительным дефицитом АДФ (табл. 3.33). Это состояние характеризуется низкой интенсивностью дыхания. Основная причина перехода митохондрий в состояние V4 связана с тем, что разность потенциалов, возникающая на сопрягающей мембране в результате переноса электронов от субстрата на кислород, не разряжается в процессах синтеза АТФ, так как АДФ в системе отсутствует.

Таблица 3.33

Метаболическое состояние митохондрий гепатоцитов в подостром опыте под влиянием олигоэфиров в 1/100 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения M±m | | | |
|--|-----------------------|---------------|----------------------|-------------------|
| | Контроль | Л – 501-2-100 | Л – 1601-2-50 «Б» | Л – 1601-2-50 «Р» |
| V ₄ – дыхание после добавления сукцината (нмоль O ₂ , мин·мг белка) | 1,83±0,17 | 1,23±0,13* | 1,14±0,09* | 1,32±0,15* |
| V ₃ – дыхание после добавления АДФ (нмоль O ₂ , мин·мг белка) | 6,44±0,58 | 2,96±0,24* | 3,26±0,31* | 3,15±0,27* |
| V ₄ ^P – дыхание после добавления разобшителя (2,4-динитрофенола) (нмоль O ₂ , мин·мг белка) | 7,20±0,44 | 4,10±0,35* | 4,28±0,28* | 5,15±0,43* |
| Дыхательный коэффициент ДК V ₃ /V ₄ , отн. единицы | 3,52±0,38 | 2,41±0,19* | 2,86±0,20* | 2,39±0,21* |
| Коэффициент фосфорилирования АДФ/O ₂ | 2,63±0,25 | 1,27±0,18* | 1,34±0,22* | 1,20±0,16* |
| Mg ²⁺ -АТФ-аза (мкмоль Р/мг белка·1 час) | 76,54±4,30 | 53,17±3,80* | 56,25±4,10* | 49,62±5,30* |
| Ca ²⁺ -АТФ-аза (мкмоль Р/мг белка·1 час) | 65,83±3,50 | 48,52±4,17* | 51,36±3,80* | 49,20±3,15* |
| H ⁺ -АТФ-аза (мкмоль Р/мг белка·1 час) | 81,34±5,62 | 39,73±2,86* | 44,52±3,35* | 41,63±4,26* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Эта разность потенциалов препятствует дальнейшему переносу электронов через мембрану на кислород, и он начинает потребляться митохондриями с более низкой скоростью. Следует отметить, что активность СДГ под влиянием олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ снижалась в метаболическом состоянии V4 – на 32,78 %, 37,7 % и 27,86 %, дыхание митохондрий после добавления АДФ в метаболическом состоянии V3 ингибировалось – на 49,2%; 47,2 % и 54,2 %, дыхание после добавления разобщителя 2,4-динитрофенола снижалось – на 48,5 %; 44,15 и 39,1 %, соответственно при воздействии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р». При этом отмечалось снижение дыхательного коэффициента на 45,4 %; 44,9 % и 43,3 %, а коэффициента фосфорилирования – на 54,8%; 55,6% и 53,1%, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Снижение активности СДГ, имеющей тесную связь со структурной организацией внутренней мембраны митохондрий, позволяет судить о возможных структурно-метаболических нарушениях и развитии мембранной патологии. Оценка метаболической активности митохондрий гепатоцитов контрольной группы наблюдения выявила высокий уровень энергетических процессов по всем анализируемым показателям. Так, добавление акцептора в метаболическое состояние V3 и дополнительно разобщителя 2,4-динитрофенола в состояние V4P, показало повышение скорости дыхания в присутствии сукцината и АДФ, связанное со снижением мембранного потенциала в контрольной группе наблюдения. При этом дыхательный коэффициент, который измеряли как отношение V3/V4, в контрольной группе составлял 3,52±0,38 отн. ед., что свидетельствовало о высоком уровне энергетического состояния митохондрий животных, не подвергавшихся воздействию олигоэфиров. Пероральное поступление олигоэфиров в подостром опыте привело к ингибированию дыхания в метаболическом состоянии V3, которое отражает активность дыхательной цепи при функционировании Н⁺-АТФ-синтетазы. Наблюдалось значительное снижение скорости дыхания в присутствии 2,4-динитрофенола,

что сопровождалось снижением дыхательного коэффициента до 0,73; 0,77 и 0,62, соответственно при действии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Исследования показывают, что ксенобиотики ингибируют в митохондриях окислительное фосфорилирование и увеличивают долю свободного дыхания. На это указывают снижение интенсивности дыхания в безакцепторной среде и третьем метаболическом состоянии (V3) после добавления АДФ. Существенное снижение дыхательного коэффициента (V3/V4) и коэффициента фосфорилирования (АДФ/O₂) позволяет судить, что исследуемые вещества приводят к разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования. Регенерация АДФ при анализе АТФ-гидролазной реакции была снижена в опытных группах животных в сравнении с контролем. Значительное угнетение дыхания в метаболическом состоянии V3 указывает на ингибирование реакций окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ, что может быть связано с изменением физико-химических и структурно-метаболических свойств митохондриальных мембран.

Изучение состояния митохондриальных мембраноструктурированных ферментов выявило, что олигоэфиры существенно снижают активность Ca²⁺, Mg²⁺-зависимой АТФ-азы – на 30,53%; 26,56% и 34,31%, Ca²⁺-АТФ-азы – на 26,30 %; 22,09 % и 25,26 % и Н⁺- АТФ-азы – на 51,15 %; 45,26 % и 48,82 % соответственно у групп животных, подвергавшихся воздействию Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Согласно хемиосмотической теории сопряжения Митчела, а также исследованиям В.П. Скулачева, активация фермента Н⁺-АТФ-синтазы отмечается при увеличении протонной проницаемости митохондрий. Снижение активности фермента Н⁺-АТФ-синтазы, наблюдаемое при воздействии олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀, является одним из звеньев разобщения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования, а следовательно и подавления синтеза АТФ.

Результаты изучения энергетического обмена у белых крыс, подвергшихся пероральному воздействию олигоэфирциклокарбонатом,

обнаружили существенное ингибирование тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования у группы животных под воздействием олигоэфиров в $1/100 LD_{50}$. Доза $1/1000 LD_{50}$ не оказывала влияние на показатели энергетического обмена. Исследуемый олигоэфир Лт - 803 в $1/100 LD_{50}$ снижал дыхание митохондрий после добавления сукцината – на 22,48 % (V_4), после добавления АДФ (V_3) – на 49,13%, при внесении разобщителя 2,4-ДНФ – на 49,6 %, в группах животных, которые подвергались воздействию Лт – 803. Дыхательный коэффициент у подопытных животных снижался по сравнению с контролем – на 34,66 %, а коэффициент фосфорилирования – на 52,12 %, при действии Лт – 803 (табл. 3.34).

На этом фоне наблюдалось ингибирование активности Mg^{2+} -АТФ-азы на 34,46 %, Ca^{2+} -АТФ-азы – на 22,4 % и H^+ -АТФ-азы – на 49,80 %. Важнейшим условием функционирования восстановительных синтезов, являются энергетические процессы и связанные с ними сопряженные системы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, которое сопровождается образованием из АДФ и неорганического фосфата макроэргического субстрата в виде АТФ. Исследования обнаружили снижение активности фермента СДГ в митохондриях опытных животных, что подтверждалось ингибированием дыхания после добавления субстарата окисления – сукцината. Учитывая тесную структурно-метаболическую связь этого фермента с внутренней мембраной митохондрий, можно судить, что олигоэфиры способны нарушать структурно-функциональное состояние митохондриальных мембран гепатоцитов.

Анализ метаболической активности митохондрий контрольной группы животных обнаружил достаточно высокий уровень их энергетического состояния. Так, добавление акцептора в состоянии V_3 и дополнительно разобщителя 2,4-ДНФ в состоянии V_4 обнаружило увеличение скорости дыхания в присутствии сукцината и АДФ, связанное со снижением мембранного потенциала в контрольной группе животных.

Таблица 3.34

Влияние олигоэфира Лт - 803 в подостром опыте на метаболическую активность митохондрий гепатоцитов

| Показатели | Вещества, M±m, LD ₅₀ | | |
|--|---------------------------------|-------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| Дыхание митохондрий после добавления сукцината (V ₄), (нмоль O ₂ /мин·мг белка) | 1,78±0,27 | 1,38±0,09* | 1,82±0,25 |
| Дыхание после добавления АДФ (V ₃) (нмоль O ₂ /мин·мг белка) | 6,29±0,43 | 3,20±0,35* | 6,43±0,51 |
| Дыхание после добавления разобшителя 2,4- ДНФ (V ₄ ¹) (нмоль O ₂ /мин ·мг белка) | 7,42±0,64 | 3,74±0,28* | 7,28±0,46 |
| Дыхательный коэффициент ДК=V ₃ /V ₄ , отн. ед | 3,52±0,35 | 2,30±0,22* | 3,53±0,38 |
| Коэффициент фосфорилирования, АДФ/O ₂ | 2,84±0,32 | 1,36±0,07* | 2,75±0,36 |
| Mg ²⁺ -АТФаза, (мкмоль Р/мг белка· 1 час) | 83,26±5,17 | 53,74±4,25* | 82,65±5,40 |
| Ca ²⁺ -АТФаза, (мкмоль Р/мг белка· 1 час) | 71,40±4,23 | 48,27±3,62* | 68,36±4,82 |
| H ⁺ -АТФаза, (мкмоль Р/мг белка· 1 час) | 76,52±3,86 | 38,42±4,10* | 73,76±6,23 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Олигоэфиры в $1/100 LD_{50}$ подавляли дыхание митохондрий после внесения АДФ и разобщителя, а также снижали дыхательный коэффициент и коэффициент фосфорилирования. При этом дыхательный коэффициент в контрольной группе составлял $3,52 \pm 0,35$ отн. ед., что свидетельствовало о высоком уровне энергетического состояния митохондрий гепатоцитов животных, которые не подвергались токсификации ксенбиотиками. Известно, что снижение дыхания митохондрий в метаболическом состоянии V_3 отражает сопряженность дыхательной активности электронно-транспортной цепи при функционировании H^+ -АТФазы. Исследования выявили, что олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ подавляют дыхание и окислительное фосфорилирование на фоне повышения доли свободного дыхания. Об этом свидетельствовало снижение интенсивности дыхания в безакцепторной среде и в третьем метаболическом состоянии (V_3) после добавления АДФ. Вместе с тем исследования показывают, что снижение дыхательного коэффициента и коэффициента фосфорилирования дает основания судить о разобщении процессов окисления и фосфорилирования. Анализ результатов обнаружил, что регенерация АДФ при оценке АТФ- гидролазной реакции, заметно снижается в подопытных группах животных сравнительно с контролем. Значительное ингибирование дыхания в метаболическом состоянии V_3 указывает на снижение интенсивности реакций окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ, что может быть связано с нарушением структуры мембран митохондрий и их фрагментацией. Эти данные подтверждались также снижением активности ферментов Ca^{2+} -АТФ-азы, Mg^{2+} -АТФ-азы, H^+ -АТФ-азы. Поскольку активность АТФ-аз митохондрий связывают с процессами окисления и фосфорилирования, то следует ожидать, что олигоэфиры являются разобщителями этих процессов. Снижение активности H^+ -АТФ-синтетазы, наблюдаемое при субтоксической интоксикации ксенбиотиками, является одним из ведущих звеньев в цепи разобщения окисления и фосфорилирования, а следовательно уменьшения энергопродукции АТФ и восстановительных синтезов. Известна тесная связь между состоянием углеводного обмена и процессами аэробного и анаэробного дыхания, которые сопряжены с генерацией АТФ. Изучение углеводного обмена в печени в дозе $1/10 LD_{50}$ обнаружило снижение активности ГК, альдолазы, ЛДГ, КФК и повышение – Г-6-ФДГ (табл. 3.35).

Таблица 3.35

Влияние олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀ на углеводный обмен в печени крыс

| Показатели | Группа наблюдения, M±m | | | |
|--|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50«Б» n=10 | Л-1601-2-50«Р» n=10 |
| ГК (мкмоль НАДФ·Н ₂ /мг белка· 1 ч): - растворимая фракция -фракция митохондрий | 17,2±0,98 | 12,5±0,76* | 14,1±1,13* | 11,6±0,84* |
| | 4,7±0,43 | 2,6±0,31* | 3,2±0,27* | 3,3±0,32* |
| ФФК (мкмоль триоз/мг белка· 1 ч), печень | 6,8±0,35 | 1,74±0,15* | 1,93±0,22* | 1,67±0,19* |
| Альдолаза (мкмоль триоз/мг белка· 1 ч), печень | 14,3±0,87 | 3,46±0,27* | 3,52±0,34* | 3,24±0,21* |
| ЛДГ (мкмоль НАД·Н/мг белка·1 ч), субстрат-пируват: -растворимая фракция -митохондриальная фракция | 148,3±11,6 | 73,5±4,8* | 82,7±5,3* | 76,8±4,3* |
| | 49,6±3,3 | 20,4±1,5* | 26,3±1,7* | 22,5±1,4* |
| Г-6-ФДГ (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 ч), печень | 0,37±0,02 | 0,86±0,05* | 0,73±0,06* | 0,69±0,04* |
| КФК митохондрий гепатоцитов (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 ч) | 12,3±0,74 | 4,2±0,37* | 3,8±0,26* | 4,5±0,42* |
| КФК цитозоля печеночной ткани (мкмоль НАДФ·Н/мг белка· 1 ч) | 10,6±0,82 | 5,8±0,44* | 5,4±0,38* | 6,3±0,55* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Так, было установлено по сравнению с контролем уменьшение растворимой фракции ГК – на 27,33 %; 18,1 % и 32,56 %; митохондриальной фракции ГК – на 44,7 %; 31,02 % и 29,8 %; ФФК – на 74,4 %; 71,62% и 75,45 %, альдолазы – на 75,8%; 75,40% и 77,35%; растворимой фракции ЛДГ – на 51,44%; 44,24 % и 48,22 %; митохондриальной фракции ЛДГ – на 58,88 %; 46,08% и 51,61%; митохондриальной КФК – на 65,86%; 69,11% и 63,42%; КФК цитозоля печеночной ткани – на 45,3 %; 49,06 % и 40,57 %, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50«Б» и Л-1601-2-50«Р». На этом фоне наблюдалось значительное повышение активности Г-6-ФДГ – соответственно на 132,4 %; 97,3 % и 86,5.

Изучение влияния олигоэфиров на состояние углеводного обмена и анализ оценочных показателей выявили торможение процессов гликолитического расщепления глюкозы и анаэробного типа дыхания.

Таким образом, олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ в условиях подострого воздействия на организм подопытных животных приводят к разобщению тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, которое сопряжено с подавлением синтеза АТФ, как в аэробных, так и анаэробных условиях, на фоне активации пентозофосфатного шунта, что свидетельствует о значительном напряжении защитно-компенсаторных механизмов и восстановительных синтезов. Эти нарушения способны формироваться при развитии мембранной патологии, энергетического голода и тканевой гипоксии, которые сопряжены с активацией СРП и ПОЛ.

Результаты исследования метаболического состояния митохондрий гепатоцитов крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀, свидетельствуют о разобщении тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования на фоне снижения продукции АТФ, что может быть связано с нарушением физико-химических и структурно-метаболических свойств митохондриальных мембран. Изучение углеводного обмена в печени выявило торможение процессов гликолитического расщепления глюкозы и анаэробного

типа дыхания. Существенное повышение мониторинговых органоспецифических показателей свидетельствует, что олигоэфиры в дозе $1/10 LD_{50}$ нарушают белковый обмен (превалирование катаболических процессов над анаболическими синтезами) и оказывают гепатотоксическое, а возможно и нефротоксическое действие, о чем свидетельствуют высокие уровни в крови мочевины и креатинина. Исследования липидного обмена выявило увеличение уровней свободных жирных кислот, кетоновых тел, что может быть обусловлено активацией симпато-адреналовой системы и гепатотоксическим действием олигоэфиров, а также повышение содержания МДА и холестерина, что указывает на активацию ПОЛ, высокий риск развития атеросклероза и атерогенное действие данных ксенобиотиков в дозе $1/10 LD_{50}$. Результаты изучения обезвреживающей функции печени подтверждают вывод о снижении дезинтоксикационной, антиокислительной активности печени, обусловленном угнетением системы антиоксидантной и антиперекисной защиты. Олигоэфиры в дозе $1/10 LD_{50}$ активируют в печени распад белков, жиров и углеводов, оказывают гепатотоксическое действие, ускоряют СРП и ПОЛ на фоне ингибирования обезвреживающей, антиоксидантной, биосинтетической и депонирующей функций. Олигоэфиры в $1/100 LD_{50}$ подавляли дыхание митохондрий после внесения АДФ и разобцителя, а также снижали дыхательный коэффициент и коэффициент фосфорилирования. Показатели энергетического обмена у белых крыс, обнаружили существенное ингибирование тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования у группы животных под влиянием дозы $1/100 LD_{50}$. Исследования обнаружили снижение активности фермента СДГ в митохондриях опытных животных. Учитывая тесную структурно-метаболическую связь этого фермента с внутренней мембраной митохондрий, можно судить, что олигоэфиры способны нарушать структурно-функциональное состояние митохондриальных мембран гепатоцитов. Выявленные общие изменения процессов метаболизма при действии на организм крыс олигоэфиров в разных дозах – $1/10$ и $1/100 LD_{50}$, особенно связанные с биоэнергетикой и нарушением коррелятивных функций

центральной, периферической и внутриклеточной систем регуляции, способны формировать структурно-метаболические нарушения под влиянием олигоэфиров в разных дозах и участвовать в патогенезе возникновения многих заболеваний.

3.8. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на обмен витаминов и кофакторную функцию

При изменении внешних условий, для сохранения постоянства внутренней среды организма, включаются сложные физиологические механизмы кооперативного взаимодействия интегративных систем контроля гомеостаза, которые обеспечивают защитно-приспособительные реакции и адаптацию человека. В этих механизмах ведущая роль принадлежит наряду с нервной, иммунной, эндокринной системой и состоянию витаминного обмена. Ко многим факторам риска возникновения заболеваний и нарушения структурно-метаболических процессов в организме относится и витаминная недостаточность. Известно, что в условиях недостаточности ретинола (витамина А) наблюдается остановка роста, кератинизирующая метаплазия эпителиальных клеток, поражения глаз, приводящие к развитию ксерофтальмии, кератомалации, нарушению темновой адаптации зрительного анализатора. При этом часто отмечаются повышение восприимчивости к различным инфекциям, ингибирование генеративной функции и иммунобиологической реактивности организма [16, 56, 73, 87, 201, 227]. Витаминная недостаточность может быть сопряжена с развитием молекулярной-мембранной патологии, нарушением белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового обмена, возникновением гемолиза эритроцитов, активацией СРП, преобладанием катаболических процессов над анаболическими синтезами, развитием дисбиоза желудочно-кишечного тракта, острыми и хроническими токсикоинфекциями и др. В настоящее время большое внимание обращается на алиментарные факторы, которые способны

как повышать, так и снижать, риск развития экологически обусловленных заболеваний. Отмечается особое значение в формировании общей резистентности организма и витаминной обеспеченности населения. Витамины способны влиять на окислительно-восстановительные процессы, биоэнергетический гомеостаз, систему детоксикации химических соединений – никотиновая кислота входит в состав НАДФ·Н и НАД·Н, разные звенья дифференцировки и пролиферации, иммунологическую специфическую и неспецифическую реактивность и резистентность организма. Учитывая вышесказанное, актуальным являлось изучение влияния субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната в подостром опыте на состояние обмена жирорастворимых витаминов и их прогностическое значение в механизмах формирования структурно-метаболических нарушений.

Анализ содержания в сыворотке крови жирорастворимых витаминов обнаружил снижение ретинола и α -токоферола под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ (табл. 3.36).

Таблица 3.36

Влияние олигоэфирциклокарбоната в подостром опыте на содержание жирорастворимых витаминов в субтоксических дозах

| Показатели | Группа наблюдения, M \pm m, LD ₅₀ | | | |
|--|--|-----------------|-----------------|------------------|
| | Контроль n=10 | 1/10 n=10 | 1/100 n=10 | 1/1000 n=10 |
| Ретинол в сыворотке крови (мкг/100 мл) | 54,3 \pm 6,2 | 14,8 \pm 1,3* | 45,6 \pm 3,5* | 52,8 \pm 5,7* |
| A α -Токоферол в сыворотке крови (мкмоль/л) | 24,7 \pm 3,1 | 6,5 \pm 0,8* | 12,7 \pm 1,4* | 26,4 \pm 2,78* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Уровень ретинола снижался – на 72,75% и 16,03%, а α -токоферола – на 73,69% и 48,59%, соответственно у групп животных, под влиянием доз 1/10 и 1/100 LD₅₀. Дефицит витаминов А и Е может быть сопряжен с нарушением

процессов пролиферации и дифференцировки быстро обновляемых тканей и делящихся клеток. При этом следует ожидать, что вещество способно вызывать дисфункцию слизистых оболочек дыхательной, пищеварительной и мочеполовой систем, ингибировать неспецифическую резистентность организма, синтетическую и детоксикационную функцию печени, что может привести к развитию гипопроотеинемии, жировой дистрофии, подавлению синтеза стероидных гормонов и др. Исследования свидетельствуют, что длительное пероральное поступление в организм олигоэфирциклокарбоната в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводит к снижению системы антирадикальной и антиперекисной защиты. В связи с этим токсификация организма подопытных животных может сопровождаться мышечной дистрофией, ингибированием иммунологического надзора, снижением стабильности цитоплазматических мембран, увеличением гемолиза эритроцитов и формированием гипохромной анемии. Изучение влияния олигоэфирциклокарбоната на обмен водорастворимых витаминов выявило снижение в крови витамина С, тиамина, рибофлавина, ниацина, пиридоксина и фолиевой кислоты у групп животных, подвергавшихся воздействию 1/10 и 1/100 LD₅₀. Во всех случаях доза 1/1000 LD₅₀ не влияла на обмен как жирорастворимых, так и водорастворимых витаминов. Олигоэфирциклокарбонат снижал концентрацию аскорбиновой кислоты на 79,61 % и 45,03 %, тиамина – на 71,62 % и 30,33 %, рибофлавина – на 59,17 % и 37,96 %, ниацина – на 64,52 % и 37,10 %, пиридоксина – на 65,20 % и 37,62 %, фолиевой кислоты – на 86,83 % и 55,48 %, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ (табл. 3.37). Как видно из результатов исследования, Лт-803 существенно снижает содержание аскорбиновой кислоты в сыворотке крови. Учитывая исключительно важную роль витамина С в синтезе коллагена, а именно совместно с лизином и пролином в образовании коллагеновых мостиков в соединительной ткани, следует ожидать, что дефицит данного витамина будет не только снижать антиоксидантные свойства организма, но и

способствовать прогрессии структурно-метаболических нарушений, вызванных интоксикацией организма.

Таблица 3.37

Влияние олигоэфирциклокарбоната в субтоксических дозах в подостром опыте на содержание водорастворимых витаминов

| Показатели | Группа наблюдения, $M \pm m$, LD_{50} | | | |
|--|--|-------------|--------------|------------------|
| | Контроль n=10 | 1/10 (n=10) | 1/100 (n=10) | 1/1000 (n=10) |
| Витамин С в в сыворотке крови (мкмоль/л) | 61,3±7,4 | 12,5±1,3* | 33,7±2,6* | 59,8±6,3* |
| Тиамин цельной кров (нмоль/л) | 46,5±3,8 | 13,2±1,6* | 32,4±3,3* | 44,7±4,2* |
| Рибофлавин в цельной крови (нмоль/л) | 38,2±3,5 | 15,6±1,4* | 23,7±2,4* | 37,7±2,8* |
| Ниацин-никотинамид в цельной крови (мг/л) | 6,2±0,73 | 2,2±0,5* | 3,9±0,4* | 5,9±0,84* |
| Пиридоксин в сыворотки крови (мкг/л) | 67,8±5,2 | 23,6±1,7* | 42,3±3,6* | 65,9±6,8* |
| Фолиевая кислота в сыворотке крови (мг/мл) | 14,6±1,5 | 2,8±0,4* | 6,5±0,7* | 13,8±1,4* |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Следует отметить, что обмен таких витаминов, как тиамина, рибофлавина, ниацина, тесно связан с образованием коферментных форм этих витаминов (ТДФ, ФМН, ФАД⁺, НАД⁺, НАДФ⁺), которые обеспечивают активирующее влияние на окислительно-восстановительные процессы. Значительное снижение содержания этих витаминов под влиянием олигоэфирциклокарбоната указывает в первую очередь на ингибирование окислительно-восстановительного и биоэнергетического потенциала, что может быть сопряжено с нарушением обмена белков, углеводов, жиров, нуклеиновых кислот и преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами.

Этим изменениям во многом может способствовать и дефицит витамина В₆ – пиридоксина, уровни которого также снижались в условиях воздействия субтоксических доз ксенобиотика. Из всех исследуемых водорастворимых

витаминов в наибольшей мере отмечалось снижение содержания в крови фолиевой кислоты – на 80,83% и 55,48%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Известно, что коферментная форма фолиевой кислоты – тетрагидрофолиевая кислота – участвует в переносе одноуглеродных фрагментов. Она необходима для обеспечения нормального роста и кроветворения, играет исключительно важную роль в биосинтезе белков и нуклеиновых кислот [228, 261]. Вместе с тем, имеются данные, которые свидетельствуют, что гиповитаминоз фолиевой кислоты трудно вызвать даже без предварительного подавления в кишечнике роста микроорганизмов, синтезирующих ее в необходимых количествах для удовлетворения потребностей организма в этом витамине. Оценка динамики водорастворимых витаминов и, в первую очередь, фолиевой кислоты позволяет судить, что олигоэфирциклокарбонат при пероральном поступлении в организм может приводить к развитию дисбиоза желудочно-кишечного тракта, что в комплексе способно изменять метаболическую, иммунологическую, детоксикационную и витаминную функцию микрофлоры кишечника. Результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфирциклокарбонат при пероральном поступлении в организм в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижает содержание в организме ретинола, α-токоферола, аскорбиновой кислоты, что может быть сопряжено с нарушением белкового, нуклеинового, жирового, углеводного, минерального обмена и биоэнергетических процессов, которые протекают на фоне развития дисбиоза, тканевой гипоксии и ингибирования системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма.

Триптофан, выполняя кофакторную функцию, участвует в азотистом балансе и обменных процессах, в возбуждении и торможении ЦНС, транспортных энергетических системах. Известно, что из триптофана синтезируется никотиновая кислота, которая входит в состав производных никотиновой кислоты НАДФ·Н и НАД·Н и обеспечивает энергетические процессы. Триптофан как

предшественник, участвует в синтезе белков и биологически активных – серотонина и мелатонина – обладает антидепрессантными свойствами [252].

Изучение влияния олигоэфирциклокарбоната Лт-803 на обмен скорость лимитирующей аминокислоты L-триптофана обнаружило, что ксенобиотик в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижал содержание в плазме крови мелатонина и триптофана на фоне повышения уровней серотонина, 5-ОИУК, индикана, аммиака и активности в печени фермента ТДО (табл. 3.38).

Таблица 3.38

Влияние олигоэфирциклокарбоната Лт-803 в разных дозах на состояние обмена L-триптофана в условиях субтоксического длительного поступления в организм

| Показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ , M ±m | | | |
|---|--|------------|------------|-----------|
| | Контроль | 1/10 | 1/100 | 1/1000 |
| L-триптофан (мкм/л) | 68,4±3,2 | 41,7±2,8* | 53,6±3,5* | 49,6±4,3 |
| Серотонин (мкм/л) | 0,56±0,04 | 4,6±0,52* | 3,7±0,46* | 0,53±0,05 |
| 5-ОИУК (мкм/л) | 0,42±0,02 | 2,33±0,18* | 1,79±0,14* | 0,38±0,04 |
| Мелатонин (пкг/л) | 178,5±7,3 | 46,8±4,10* | 83,5±6,2* | 184,7±8,5 |
| Индикан (мкм/л) | 2,3±0,26 | 8,5±0,76* | 6,42±0,57* | 2,17±0,24 |
| Аммиак (нмоль/л) | 24,7±1,54 | 56,4±4,3* | 47,5±3,3* | 26,4±2,5 |
| ТДО (нмоль кинуренина/мг белка · 1 час) | 36,5±2,7 | 71,6±5,8* | 63,7±4,9* | 35,6±3,2 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Содержание L-триптофана снижалось на 39,04 % и 21,64 %, мелатонина – на 73,79 % и 53,23 % при этом уровень серотонина повышался на 721,42% и 560,71 %, 5-ОИУК – на 454,76 % и 326,19 %, индикана – на 269,56% и 179,13 %, концентрация аммиака повышалась – на 128,34% и 92,3%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Триптофан является источником образования никотинамидных коферментных форм (НАД⁺ и НАДФ) витамина РР – ниацина, синтеза биогенного моноамина – серотонина, гормона – мелатонина, индуктора клеточной дифференцировки и пролиферации – 5-оксииндолацетата, которые способны оказывать значительное влияние на обменные процессы в различных

органах и тканях организма. Было убедительно показано влияние серотонина на медиаторные процессы в нервной системе, он выполняет роль местного регулятора функций периферических органов и тканей, является мощным сосудосуживающим агентом и стимулятором сокращения гладко-мышечных тканей.

Около 95% серотонина взрослого человека вырабатывается в энтерохромафинных клетках кишечника. Остальная часть его находится в тучных клетках соединительной ткани кожи, селезенке, печени, почках, легких, эпифизе, коре головного мозга, гипоталамусе, тромбоцитах крови и др. L-триптофан и непосредственный предшественник серотонин являются субстратами для синтеза гормона эпифиза, обеспечивающего циркадные ритмы метаболических процессов в организме – мелатонина, который образуется путем N-ацетилирования и последующего метилирования 5-окситриптамина. Этот гормон регулирует половое созревание, теплообмен, дыхание, водно-солевой обмен, бодрствование, циркадную динамику обменных процессов в различных органах и тканях организма в зависимости от времени суток, сезонов года, является иммуномодулятором и активным субстратом, обладающим антирадикальными и антиперекисными свойствами и др. Вместе с тем, L-триптофан может превращаться в желудочно-кишечном тракте под влиянием микрофлоры толстого кишечника в индол, скатол, крезол и др. индольные производные. Конечным продуктом этих превращений, экскретируемых с мочой, является в основном 5-оксииндолацетат, который выступает как сильный митогенный фактор дифференцировки и пролиферации быстро обновляющихся тканей. Эти нарушения характеризовались и существенным повышением содержания продукта окислительного дезаминирования аминокислот, биогенных моноаминов – аммиака (NH_3), а также животного индикана. Известно, что главным, если не единственным механизмом, посредством которого активность ТДО влияет на синтез серотонина в организме, служит изменение уровня свободного L-триптофана. Исследования обнаружили повышение активности

ТДО и снижение содержания L-триптофана в сыворотке крови. В этих метаболических условиях открывается путь повышенного синтеза коферментных форм НАД⁺ и НАДФ, необходимых для усиления окислительно-восстановительных процессов, дифференцировки и пролиферации, как результат защитно-приспособительных реакций организма, которые направлены на активацию восстановительных синтезов в условиях субтоксической токсификации.

Регуляция ТДО осуществляется по типу обратной связи конечными продуктами кинуренинового пути обмена L-триптофана – НАД⁺ и НАДФ⁺. Активация фермента сопряжена с повышением содержания субстрата окисления – L-триптофана. Положительными активаторами фермента ТДО являются ионы Cu^{2+} , гематин, ферригем и б-аминолевуленовая кислота (б-АЛК). Гемин, при этом, является коферментом ТДО. Существенное повышение активности ТДО позволяет судить о снижении белоксинтетической функции синтеза гемоглобина, в результате чего гем окисляется кислородом в гемин, являющийся коферментным активатором данного фермента, а с другой стороны – окисленная форма гема (гемин) тормозит активность митохондриального фермента б-аминолевуленатсинтазы, катализирующей первую реакцию синтеза гема из сукцинил~КоА, из глицина – б-АЛК.

Обнаруженные изменения в обмене L-триптофана и активности ТДО могут свидетельствовать о нарушении сопряженных метаболических процессов, связанных с анаболическими и катаболическими превращениями белков, нейромедиаторов, гормонов, индукторов дифференцировки и пролиферации, конечных метаболитов обмена и др. Значительная часть метаболита L-триптофана, биогенного амина – серотонина, подвергается окислительному дезаминированию с образованием аммиака, H_2O_2 , альдегида, 5-ОИУК, при этом превращение триптофана может быть связано и с синтезом мелатонина, уровни которого были существенно ниже под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50} олигоэфирциклокарбоната. Серотонин занимает промежуточное положение

между гормонами и нейромедиаторами. Этот медиатор суживает артериолы и повышает артериальное давление, усиливает перистальтику кишечника, оказывает антидиуретическое действие. В центральной нервной системе серотонин выполняет функцию медиатора и является источником синтеза в эпифизе гормона мелатонина. Литературные источники свидетельствуют, что мелатонин в неонатальном периоде развития влияет на дифференциацию центров головного мозга, контролирующую функцию гонад и надпочечников в «критическом» периоде развития. Он угнетает секрецию гонадотропинов в гипоталамусе и обуславливает антагонистические взаимоотношения между этим органом и половыми железами, являясь физиологическим ингибитором преждевременного полового созревания. Ему принадлежит важная роль в работе механизма «биологических часов», периодичности активации и ингибирования функций организма в разное время суток, сезонов года.

Результаты динамики серотонина и мелатонина указывают на серьёзную дисфункцию нейроэндокринной системы в регуляции структурно-метаболических процессов и механизмах развития патологических состояний. Уровень одного из конечных продуктов обмена L-триптофана – животного индикана – был значительно повышен под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ олигоэфирциклокарбоната, что подтверждает увеличение образования конечного токсичного продукта распада L-триптофана – индола. Эти данные свидетельствуют о нарушении процессов, которые связаны с перевариванием белков на фоне возможного изменения микробиологического профиля кишечника, сопряженного с развитием гнилостных процессов и дисбактериозом. Вместе с тем, исследования показывают на активацию детоксикационной функции печени, что подтверждалось увеличением в сыворотке крови количества индола, связанного в виде эфирсерной кислоты с калием или натрием (индикан). Известно, что одним из метаболитов обмена L-триптофана является 3-гидроксиантраниловая кислота, обладающая антиоксидантными свойствами. Она отличается способностью восстанавливать α-токоферол,

ассоциированный с липопротеидами низкой плотности (ЛПНП). Нарушения обмена L-триптофана и усиление активности ТДО при действии олигоэфирциклокарбонатом способны вносить определенный вклад в условия формирования кооперативного взаимодействия оксидантно-антиоксидантного гомеостаза, который может быть сопряжен с усилением СРП, активацией ПОЛ, окислительной модификацией белков и развитием мембранной патологии.

Обнаружено при действии олигоэфиров дозозависимое снижение L-триптофана, снижение мелатонина и увеличение серотонина – выраженное в дозе 1/10 и слабовыраженное в 1/100 LD₅₀.

Изучение обмена L-триптофана у экспериментальных животных свидетельствует, что олигоэфирциклокарбонат в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводит к глубокому нарушению белкового, нейромедиаторного, гормонального, кофакторного обмена, сопровождающихся эндотоксемией, которая подтверждалась увеличением в сыворотке крови содержания аммиака и производного индола – индикана, что является неблагоприятным показателем состояния гомеостатической функции организма. Исследования показывают, что действие ксенобиотика может сопровождаться политропными нарушениями со стороны различных органов, систем и функций, в основе которых лежит свободнорадикальная патология и оксидативный стресс.

3.9. Состояние обмена соединительной ткани в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров

В основе структурных нарушений соединительной ткани могут лежать различные вредные физические, химические и биологические факторы, которые формируют такие патологические процессы и заболевания, как пневмофиброз, цирроз печени, дерматомиозит, вибрационная болезнь и др. [26, 37, 58, 108, 189, 201]. К ним могут быть также отнесены атеросклероз, ревматоидный артрит, ревматизм, остеопороз, миодистрофии, системная склеродермия, хронические воспалительные заболевания внутренних органов и

тканей и др., некоторые заболевания соединительной ткани, связанные с наследственными нарушениями обмена коллагена и гликозаминогликанов. К последним могут быть отнесены несовершенный остеогенез, синдром Марфана (наследственное заболевание, при котором наблюдаются аномалии коллагена альфа 2), синдром Элерса-Данлоса (общее название группы нарушений обмена коллагена, которые сочетаются с дистрофией кожи, повышенной подвижностью суставов). При этом заболевании биохимические нарушения включают: дефицит коллагена типа II и лизилоксидазы, дефект фибронектина и нарушения проколлагена, аномальный обмен меди. Значительную группу наследственных заболеваний могут составлять мукополисахаридозы, при которых недостаточность лизосомальных ферментов приводит к накоплению гликозаминогликанов и возникновению различных клинических симптомов. Эти проявления связаны с малоподвижными суставами и низким ростом, кроме синдрома Маркио, который характеризуется повышенной подвижностью суставов и подвывихами первого и второго шейного позвонков. К заболеваниям соединительной ткани может быть отнесена болезнь Педжета, обусловленная формированием повышенного количества остеобластов, рахита, развивающегося в результате недостатка или нарушения обмена витамина Д и т.д. Особую группу заболеваний соединительной ткани составляют опухоли костной ткани, легких, молочной железы, простаты и др. Учитывая важную роль соединительной ткани в обеспечении целостности структурно-функциональных единиц организма, органов и тканей, актуальным являлось изучение влияния субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната на некоторые показатели обмена соединительной ткани в условиях подострого токсикологического эксперимента.

Изучение структурно-метаболического состояния соединительной ткани в 1/10 и 1/100 LD₅₀ обнаружило высокую активность эластазы, коллагенолитической активности плазмы крови и повышение содержания в сыворотке гликозаминогликанов (табл. 3.39).

Таблица 3.39

Влияние олигоэфирциклокарбоната Лт-803 в разных дозах на содержание гликозаминогликанов и активность эластазы в сыворотке крови белых крыс в подостром опыте

| Показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ , M ±m | | | |
|--|--|--------------|---------------|----------------|
| | Контроль n=10 | 1/10 n=10 | 1/100 n=10 | 1/1000 n=10 |
| Эластаза (пг/мл) | 34,5±2,6 | 179,3±16,2* | 125,7±12,4* | 32,7±3,5 |
| Гликозаминогликаны (мкмоль/л) | 41,3±3,8 | 106,5±7,4* | 69,8±6,5* | 39,6±3,2 |
| Коллагенолитическая активность сыворотки (мкмоль оксипро- лина/л·ч) | 7,4±0,8 | 83,6±5,7* | 32,4±4,8* | 8,1±0,7 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Исследования свидетельствуют, что наиболее значимые нарушения обмена соединительной ткани отмечались в группе животных, токсифицированных 1/10 LD₅₀. Доза 1/100 LD₅₀ в меньшей мере оказывала влияние на обмен соединительной ткани. Олигоэфирциклокарбонат Лт-803 в дозе 1/1000 LD₅₀ не нарушал метаболические процессы и динамику исследуемых показателей.

Анализ исследований обнаружил, что олигоэфирциклокарбонат повышал активность в сыворотке крови эластазы – на 419,7 % и 264, 3%, коллагенолитической активности – на 157,8 % и 67,79 % и содержания гликозаминогликанов – на 1029,7 % и 337,8 %, соответственно под воздействием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Результаты изучения субтоксического влияния олигоэфирциклокарбоната на белых крыс позволяют судить, что данный ксенобиотик способен в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ вызывать структурно-метаболические нарушения в соединительной ткани, которая выполняет опорную, механическую, связующую, защитную, иммунологическую, дренажную, транспортную, пластическую и многие другие функции организма. При действии олигоэфиров прослеживается высокая активность эластазы, коллагенолитической активности

плазмы крови и повышение содержания в сыворотке гликозаминогликанов – в дозе 1/100 слабее, чем в дозе 1/10 LD₅₀, что показывает дозозависимость олигоэфиров.

Обнаруженные изменения мониторинговых показателей оценки состояния, метаболической активности соединительной ткани, позволяют судить о политропном действии олигоэфирциклокарбоната и многообразии патологических проявлений в условиях длительного субтоксического воздействия ксенобиотика на организм теплокровных животных в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀. Недействующей дозой на структурно-метаболическое состояние соединительной ткани являлась 1/1000 LD₅₀.

ГЛАВА 4

ВЛИЯНИЕ ОЛИГОЭФИРОВ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Изучение состояния физиологических показателей нервной системы контрольной группы и структурно-метаболических нарушений под влиянием олигоэфиров разных марок в опытных группах животных было первоочередной задачей при оценки интегративных систем контроля гомеостаза – нервной, эндокринной и иммунной. Первичная организация нервной системы в онтогенезе предопределяет главенствующую функцию в регуляции многих физиологических и патологических состояний биосистемы.

В современной патофизиологии одна из наиболее важных и нерешенных проблем – выяснение механизмов структурно-метаболических повреждений нервной системы под влиянием химических факторов. Сохранение структурной целостности и оптимального функционирования нервной системы обеспечивается совокупностью динамично протекающих в ней информационных, энергетических и регуляторных процессов. В системе регуляторных механизмов, функционирующих на различных уровнях организации тканей, органов и организма в целом, основное значение, по всей видимости, имеют два механизма регуляции – надклеточный и внутриклеточный. Надклеточный механизм регуляции осуществляется нервной системой в тесной связи с гуморальными факторами. Единство нервного и гуморального заключается в общности эндогенных химических посредников, контролируемых нервной системой и осуществляющих механизм её трофического действия на организм. К таким посредникам можно отнести циклические нуклеотиды и простагландины. Нарушение же функционирования структур и органов, контролируемых нервной системой приводит к развитию дистрофических процессов из-за нарушения внутриклеточных механизмов

регуляции. Изучение роли регуляторных механизмов различного уровня в развитии структурно-метаболических повреждений и их механизмов под влиянием олигоэфиров приблизит нас к пониманию патогенеза этих повреждений и будет способствовать внедрению в практическое здравоохранение методов коррекции таких нарушений организма.

4.1. Влияние субтоксических доз олигоэфиров на обмен аминокислот как ферментативных и нейромедиаторных составляющих метаболизма и деятельности ЦНС

В настоящем разделе мы более детально изучили метаболические показатели – роль белков и аминокислот в процессе детоксикации ксенобиотиков. Современные достижения медицины свидетельствуют, что жизнедеятельность организма, органов и тканей в наибольшей мере зависит от степени нарушения метаболизма и гемодинамических расстройств. Это дает основание полагать, что в основе формирования патохимических механизмов развития, экологически обусловленных патологических состояний ведущая роль принадлежит структурно-метаболическим нарушениям, и в первую очередь, расстройствам белкового обмена, который интегрирует и координирует все виды обмена веществ и энергии. Белки – чрезвычайно «умные субстанции», имея глобулярную структуру, они способны слышать, понимать и передавать информацию. При поступлении в организм ксенобиотиков белки играют ключевую роль в процессе детоксикации, конъюгируя, без дополнительных энергозатрат. Они взаимодействуют с токсикантами и изменяют их кинетические характеристики, связывая свободные жирные кислоты и билирубин в крови. Кроме этого аминокислоты входят в состав ферментов (цитохром Р-450), обеспечивая детоксикацию в микросомах печени; они – составляющие нейромедиаторов. Так, например глутатион состоит из трёх аминокислот – глицина, цистеина, глутаминовой

кислоты – открытие Кендала в 1929 г. В существующей литературе не получили должного освещения вопросы о состоянии белкового обмена в патогенезе экологически обусловленных заболеваний. Учитывая вышесказанное, одной из задач работы являлось изучение состояния белкового обмена и его метаболитов у белых крыс, подвергавшихся подострому воздействию в экспериментальных условиях олигоэфиром, и обоснование ведущих звеньев метаболических нарушений и нейромедиаторной активности.

Результаты исследования показателей обмена серусодержащих и глюкогенных аминокислот в плазме крови экспериментальных животных под влиянием олигоэфиров дозой 1/100 LD₅₀ представлены в табл.4.1

Таблица 4.1

Влияние олигоэфиров дозой 1/100 LD₅₀ на показатели обмена серусодержащих и глюкогенных аминокислот в плазме крови экспериментальных животных в подостром опыте

| Показатели (нмоль/мл) | Группа наблюдения, M±m | | | |
|-----------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б» n=10 | Л-1601-2-50 «Р» n=10 |
| Серусодержащие аминокислоты | | | | |
| Цистеин | 2,16±0,14 | 1,34±0,12* | 1,44±0,18* | 1,38±0,15* |
| Метионин | 6,20±0,43 | 4,23±0,35* | 4,56±0,44* | 4,47±0,38* |
| Цистеиновая кислота | 0,87±0,1 | 1,76±0,18* | 1,53±0,12* | 1,68±0,14* |
| Таурин | 25,62±1,83 | 36,18±1,97* | 32,54±2,15* | 37,82±3,62* |
| Цистатианин | 10,95±0,87 | 18,74±1,23* | 16,25±1,43* | 15,96±1,38* |
| Глюкогенные аминокислоты | | | | |
| Треонин | 36,52±2,86 | 20,35±1,42* | 23,47±1,65* | 19,84±1,57* |
| Серин | 46,38±2,37 | 25,67±1,84* | 27,19±1,68* | 23,76±1,84* |
| Глицин | 45,4±3,17 | 33,4±2,35* | 29,60±2,74* | 34,53±1,76* |
| Аланин | 62,56±2,44 | 43,8±3,52* | 45,63±3,14* | 42,16±3,58* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Выявлено, что у опытных животных по сравнению с контрольной группой среди серусодержащих аминокислот наблюдается снижение уровней цистеина и метионина на фоне увеличения содержания их метаболитов таурина, цистеиновой кислоты и цистатионина. Метионин – предшественник цистеина. Так, при воздействии Л-501-2-1001 уровень цистеина снижался на – 37,97 %; метионина – 31,78 %, при этом концентрация таурина повышалась на – 43,16 %; цистеиновой кислоты – 102,3%; цистатионина – 71,14 %. Сходная динамика показателей имела место и при действии Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 - 2-50 «Р». Полученные данные могут указывать на повышенную потребность в серусодержащих аминокислотах для восстановительных синтезов, антирадикальной и антиперекисной защиты организма в условиях воздействия олигоэфиром. Следует полагать, что изучаемые олигоэфиры активируют СРП и ПОЛ, которые истощают активность АОС, что приводит к снижению содержания серусодержащих аминокислот. Исследование обмена глюкогенных аминокислот обнаружило снижение содержания треонина, серина, глицина, аланина. Эти аминокислоты метаболизируются через пировиноградную кислоту и могут быть источником для синтеза глюкозы, как в здоровом организме, так и при многих патологических состояниях – сахарный диабет, тиреотоксикоз, стероидный диабет, эмоциогенный стресс, интоксикации, длительное голодание и др. Олигоэфиры Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р» снижали, соответственно, уровень треонина – на 44,28%; 35,88% и 45,68, серина – 44,66 %; 41,38% и 48,78 %, глицина – 26,44 % 34,81 % и 23,95 %, аланина – 29,99 %; 27,07% и 32,61 %, цистеина – 37,97 %; 32,88 % и 43,06%. Установленная динамика содержания глюкогенных аминокислот в плазме крови может свидетельствовать об усилении катаболических процессов, а также усиленном использовании данных аминокислот для синтеза глюкозы и восстановительных синтезов, т.е. как защитно-адаптационная реакция организма.

Оценка содержания глюкогенных аминокислот в плазме крови на фоне увеличения в ней концентрации лактата и пирувата (см. табл. 4.5) дает основание судить о том, что олигоэфиры активируют их распад и, возможно,

ускоряют глюконеогенез. Исследование содержания кетогенных аминокислот, которые метаболизируются через ацетоацетил-КоА (фенилаланин, лейцин, тирозин, лизин) и аминокислот, которые превращаются в ацетил-КоА с последующим его участием в цикле Кребса (лейцин, фенилаланин, триптофан), обнаружило значительное их повышение в опытных группах по сравнению с интактными животными (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Влияние олигоэфиров на содержание в плазме крови аминокислот, которые поступают в цикл Кребса через ацетил-КоА, альфа-кетоглутаровую кислоту и сукцинил-КоА

| Показатели (нмоль/мл) | Группа наблюдения, М±m | | | |
|------------------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б» n=10 | Л-1601-2-50 «Р» n=10 |
| Через ацетил-КоА | | | | |
| Фенилаланин | 9,65±0,83 | 15,74±1,23* | 14,86±1,35* | 12,79±0,96* |
| Лизин | 15,36±1,27 | 23,86±1,75* | 19,73±1,42* | 21,54±1,85* |
| Тирозин | 9,24±0,72 | 13,65±0,87* | 12,57±1,20* | 15,80±1,43* |
| Лейцин | 3,76±0,24 | 6,28±0,49* | 5,38±0,37* | 6,10±0,54* |
| Триптофан | 4,56±0,38 | 6,73±0,52* | 7,58±0,63* | 7,20±0,68* |
| Через альфа-кетоглутаровую кислоту | | | | |
| Аргинин | 22,45±1,66 | 16,54±1,37* | 17,20±1,24* | 14,85±1,18* |
| Гистидин | 11,40±0,73 | 8,12±0,64* | 6,95±0,59* | 7,56±0,72* |
| Пролин | 52,46±2,87 | 39,8±2,16* | 35,46±3,24* | 32,65±2,74* |
| Глутамат | 10,56±0,73 | 6,54±0,86* | 7,10±0,65* | 6,23±0,57* |
| Глутамин | 385,7±9,44 | 276,5±8,32* | 268,7±9,10* | 245,7±10,35* |
| Через сукцинил-КоА | | | | |
| Изолейцин | 2,63±0,18 | 4,16±0,36* | 3,85±0,27* | 4,25±0,43* |
| Валин | 15,72±1,24 | 38,29±1,67* | 32,65±2,43* | 28,74±1,74* |
| Метионин | 6,20±0,43 | 4,23±0,35* | 4,56±0,44* | 4,47±0,38* |
| Треонин | 36,52±2,86 | 20,35±1,42* | 23,47±1,65* | 19,84±1,57* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, $p < 0,05$

Так, уровень фенилаланина повышался – на 63,10 %; 53,98 % и 34,63%, лизина – 55,33 %; 28,45 % и 40,23 %, тирозина – 47,7 %; 36,03 % и 70,99 %, лейцина – 67,02 %; 43,08 % и 62,23 % и триптофана – 47,58 %; 66,22 % и 57,89%, соответственно, под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 - 2-50 «Р». Динамика содержания кетогенных аминокислот может свидетельствовать как об усилении катаболизма белков, так и о снижении степени использования их для восстановительных синтезов. Следует отметить, что в таких метаболических условиях олигоэфиры могут индуцировать образование кетоновых тел и приводить к развитию кетоацидоза на фоне повышения концентрации лактата и пирувата.

Анализ содержания в плазме крови аминокислот, которые метаболизируются через альфа-кетоглутаровую кислоту (α -КГ) в цикл Кребса, обнаружил снижение уровней аргинина, гистидина, пролина, глутамата и глутамина. Так, концентрация аргинина снижалась – на 26,33%; 23,39% и 33,86%, гистидина – 28,78 %; 39,04% и 33,69 %, пролина – 24,14%; 32,41% и 37,77 %, глутамата – 38,07 %; 32,77 % и 41,07 %, глутамина – 28,32 %; 30,34 % и 36,30%, соответственно, при воздействии на организм Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Известно, что эти протеиногенные аминокислоты способны превращаться в α -КГ, которая в цикле Кребса окисляется с образованием CO_2 , Сукцинил – КоА и НАД \cdot Н $_2$. Вместе с тем, α -КГ может превращаться в щавелево-уксусную кислоту и использоваться для синтеза глюкозы [36, 107]. Исследования показывают, что снижение содержания этих аминокислот в плазме крови может быть связано как с усилением синтеза глюкозы, использованием их для синтетических нужд, так и с ускорением катаболизма данных аминокислот в интегрированном цикле Кребса, что свидетельствует о напряжении адаптационных и защитно-приспособительных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза.

Изучение влияния олигоэфиров на обмен плазменных аминокислот, которые метаболизируются и поступают в цикл Кребса через Сукцинил-КоА,

выявило повышение содержания изолейцина, валина и снижение – метионина и треонина. Было установлено увеличение уровней изолейцина – на 58,17%;46,38% и 61,59%, валина – 143,57 %; 107,69 % и 82,82 % на фоне снижения концентрации метионина – на 31,78%; 26,46% и 27,91%, треонина – 44,28 %; 35,08 % и 45,68 % по сравнению с контролем, соответственно под влиянием Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Такая динамика содержания плазменных аминокислот может быть сопряжена как с усилением распада белков, так и с ингибированием процессов использования их для синтетических целей. При определении содержания аминокислот, которые превращаются в оксалоацетат, выявлено снижение в плазме крови концентрации аспартата и аспарагина соответственно на – 40,1 %; 51,79 %; 43,84 % и 39,47 %; 46,19 %; 40,28 % при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» (рис. 4.1).

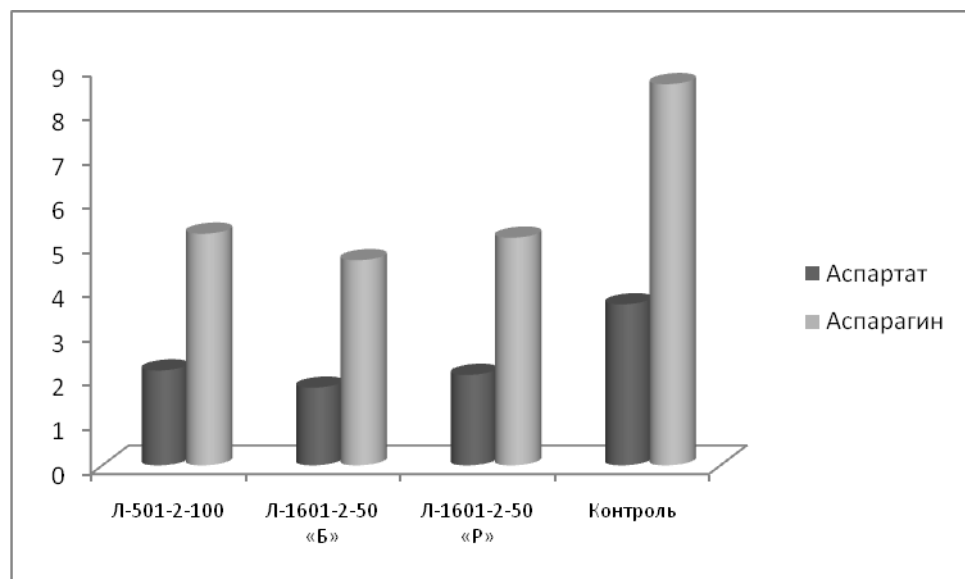


Рис.4.1. Влияние олигоэфиров на метаболизм аминокислот, которые превращаются в оксалоацетат

Полученные результаты по аспартату и аспарагину могут указывать как на усиление их катаболизма в цикле Кребса, так и на активацию процессов, связанных с синтезом глюкозы. Однако метаболизм зависит и от регуляторных систем, к которым следует отнести на первый план нервную систему, где ключевыми оценочными показателями наших исследований является уровень

содержания плазменных аминокислот. Как известно, аминокислоты, выполняя организационную функцию пищи являются «кирпичиками» при построении нейромедиторов, а значит, и участвуют в процессах активации и торможения нервных импульсов, влияющих на регуляцию обменных процессов. Функциональное состояние регуляторных систем оценивалось по показателям нейрогенных возбуждающих аминокислот – глицина, глутамата и аспартата, а также тормозящих деятельность ЦНС аминокислот – нейромедиаторов – ГАМК, пролина, серина, таурина и лейцина (табл. 4.3, 4.4).

Таблица 4.3

Влияние олигоэфиров в 1/100 LD₅₀ на показатели нейрогенных возбуждающих ЦНС аминокислот в плазме

| Показатели (нмоль/мл) | Группа наблюдения, M±m | | | |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б» n=10 | Л-1601-2-50 «Р» n=10 |
| Глицин | 45,4±3,17 | 33,4±2,35* | 29,60±2,74* | 34,53±1,76* |
| Глутамат | 10,56±0,73 | 6,54±0,86* | 7,10±0,65* | 6,23±0,57* |
| Аспартат | 3,65±0,34 | 2,15±0,18* | 1,76±0,21* | 2,05±0,28* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Таблица 4.4

Влияние олигоэфиров в 1/100 LD₅₀ на показатели тормозящих деятельность ЦНС аминокислот в плазме

| Показатели (нмоль/мл) | Группа наблюдения, M±m | | | |
|--------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б» n=10 | Л-1601-2-50 «Р» n=10 |
| ГАМК | 43,60±2,57 | 19,35±1,64* | 21,73±1,86* | 24,33±1,48* |
| Пролин | 52,46±2,87 | 39,8±2,16* | 35,46±3,24* | 32,65±2,74* |
| Серин | 46,38±2,37 | 25,67±1,84* | 27,19±1,68* | 23,76±1,84* |
| Таурин | 25,62±1,83 | 36,18±1,97* | 32,54±2,15* | 37,82±3,62* |
| Лейцин | 3,76±0,24 | 6,28±0,49* | 5,38±0,37* | 6,10±0,54* |

Примечание:* – различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Оценочные показатели нейрогенных возбуждающих ЦНС аминокислот в плазме крыс при действии олигоэфиров при дозе 1/100 LD₅₀ свидетельствуют о снижении глицина – на 26,44%, 34,81% и 23,95%, глутамата – 38,07%; 32,77% и 41,07%, и аспартата – на 40,1%; 51,79%; 43,84%, соответственно, при воздействии на организм Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Оценочные показатели нейрогенных тормозящих ЦНС аминокислот в плазме крыс при действии олигоэфиров при дозе 1/100 LD₅₀ свидетельствуют о снижении ГАМК – на 55,62 %; 50,17 % и 44,20 %, пролина – 24,14 %; 32,41 % и 37,77 %, серина – 44,66 %; 41,38 % и 48,78 % и повышении таурина на – 43,16%, 27,01 % и 47,61 %; лейцина – 67,02%; 43,08% и 62,23% соответственно, при воздействии на организм Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р»

Состояние регуляторной функции нервной системы нами было проанализировано из представленных выше результатов наблюдений в эксперименте (табл. 4.2) спектра плазменных аминокислот.

При исследовании содержания метаболитов аминокислот, продуктов азотистого обмена и белков обнаружено повышение уровней мочевины, аммиака, лактата, пирувата, оксипролина, гаптоглобина, церулоплазмина и снижение – орнитина, альфа- и ГАМК, креатинина, альбумина, общего белка (табл. 4.5). Было установлено увеличение концентрации мочевины – на 46,06%; 49,78% и 40,22%, аммиака – 93,92 %; 102,16% и 86,7 1%, лактата – 94,6%; 125,7% и 130,5%, пирувата – 107,6 %; 117,9 % и 138,1 5%, оксипролина – 101,02 %; 114,23 % и 71,24 %, гаптоглобина – 250,7 %; 268,65% и 282,08%, церулоплазмина – 112,78%; 109,48% и 107,6% на фоне снижения уровней орнитина – на 37,23 %; 34,07 % и 45,58 %, альфа-аминомасляной кислоты – 45,18%; 51,19% и 46,64%, ГАМК – 55,62%; 50,17% и 44,20%, креатинина – 37,61%; 41,75 % и 34,81 %, альбумина – 40,55%; 35,31% и 44,54%, общего белка – 34,17%; 41,69% и 38,53% по сравнению с контролем при действии, соответственно, Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р».

Таблица 4.5

Влияние олигоэфиров на основные показатели белкового обмена и их метаболиты в подостром опыте под воздействием 1/100 LD₅₀

| Показатели | Группа наблюдения, М±m | | | |
|---|------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Контроль n=10 | Л-501-2-100 n=10 | Л-1601-2-50 «Б» n=10 | Л-1601-2-50 «Р» n=10 |
| Мочевина (нмоль /мл) | 32,54±1,76 | 47,53±2,63* | 48,74±1,86* | 45,63±2,75* |
| Аммиак (нмоль /мл) | 18,44±1,35 | 35,76±2,15* | 37,28±2,68* | 34,43±2,58* |
| Лактат (ммоль /мл) | 1,67±0,14 | 3,25±0,26* | 3,77±0,31* | 3,85±0,24* |
| Пируват (мкмоль /мл) | 65,8±5,92 | 136,7±8,16* | 143,5±9,2* | 156,8±10,3* |
| Оксипролин (нмоль /мл) | 13,7±1,14 | 27,54±1,67* | 29,35±1,42* | 23,46±1,53* |
| Гаптоглобин (г/л) | 0,67±0,08 | 2,35±0,24* | 2,47±0,19* | 2,56±0,27* |
| Церулоплазмин (мг/л) | 460,8±14,6 | 980,5±20,3* | 965,3±21,8* | 956,7±25,4* |
| Орнитин (нмоль /мл) | 10,95±0,83 | 6,87±0,54* | 7,22±0,66* | 5,96±0,52* |
| Альфа-аминомас- ляная кислота (нмоль /мл) | 13,46±1,15 | 7,38±0,76* | 6,57±0,44* | 7,18±0,65* |
| ГАМК (нмоль /мл) | 43,60±2,57 | 19,35±1,64* | 21,73±1,86* | 24,33±1,48* |
| Креатинин (мкмоль /мл) | 68,35±4,23 | 42,65±2,53* | 39,82±2,16* | 44,56±3,17* |
| Альбумин (г/л) | 53,42±4,10 | 31,76±2,44* | 34,56±1,97* | 29,63±2,58* |
| Общий белок (г/л) | 75,23±4,36 | 49,53±2,15* | 43,87±3,65* | 46,25±2,96* |

Примечание: * – различия с контролем достоверные, $p < 0,05$

Эти данные свидетельствуют, что олигоэфиры приводят к развитию в организме эндогенной интоксикации; ацидоза; нарушают функцию печени, поджелудочной железы, почек; вызывают структурные изменения в соединительной ткани, нарушение баланса заменимых, незаменимых и

нейромедиаторных аминокислот; ингибируют процессы биоэнергетики, восстановительные синтезы, а также процессы обезвреживания продуктов азотистого обмена на фоне развития острофазных воспалительных реакций, что указывает на дисфункцию метаболизма.

Результаты проведенных исследований объективно свидетельствуют, что олигоэфиры Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» при дозе 1/100 LD₅₀ в организмах экспериментальных животных нарушают все метаболические пути обмена аминокислот, структурно-метаболические процессы во внутренних органах и тканях, приводят к развитию эндогенной интоксикации, усилению катаболических механизмов, связанных с распадом белков, аминокислот на фоне ингибирования восстановительных синтезов и активации острофазных воспалительных реакций. Действие данных ксенобиотиков приводит к десинхронизации системно-антисистемных метаболических процессов в организме.

4.2. Содержания биогенных моноаминов и их предшественников и процессы окислительного дезаминирования под влиянием субтоксических доз олигоэфиров

Изучение активности моноаминоксидазы (МАО) и содержания некоторых биогенных моноаминов и их предшественников под влиянием субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната в различных органах и тканях связано с участием МАО в поддержании на определенном физиологическом уровне содержания катехоламинов, серотонина, гистамина, триптамина и др. Изменения свойств и активности МАО обнаружены при многих заболеваниях и патологических состояниях: облучении, злокачественном росте, гипервитаминозе Д, холодовом стрессе, гипоксии, гиперхолестеринемии, черепно-мозговой травме. Изучение влияния обмена биогенных моноаминов в головном мозге под влиянием субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната обнаружило

повышение уровня ДОФА – предшественника дофамина – на 34,27% и 28,16%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. При этом отмечалось снижение содержания дофамина на 31,77 % и 28,24 %, норадреналина – на 46,16 % и 19,24 %, адреналина – на 69,77 % и 34,89 %, соответственно в условиях токсификации белых крыс 1/10 и 1/100 LD₅₀ (табл.4.6). В дозе 1/1000 LD₅₀ ксенобиотик не нарушал обмен моноаминов в головном мозге.

Таблица 4.6

Влияние олигоэфирциклокарбоната Лт-803 в субтоксических дозах на обмен моноаминов в головном мозге в подостром опыте (мкг/г ткани)

| Показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ (M±m) | | | |
|--------------|---|-------------|-------------|--------------|
| | Контроль (n=10) | 1/10(n=10) | 1/100(n=10) | 1/1000(n=10) |
| ДОФА | 2,13±0,12 | 2,86±0,17* | 2,73±0,21* | 2,25±0,23 |
| Дофамин | 3,40±0,37 | 2,32±0,28* | 2,44±0,26* | 3,48±0,27 |
| Норадреналин | 0,78±0,06 | 0,42±0,04* | 0,63±0,07* | 0,75±0,14 |
| Адреналин | 0,43±0,08 | 0,13±0,015* | 0,28±0,09* | 0,45±0,16 |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

В печени отмечалось снижение содержания ДОФА, дофамина, норадреналина и адреналина под влиянием олигоэфирциклокарбоната в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ (табл.4.7) Вещество в дозе 1/1000 LD₅₀ не нарушало обмен биогенных моноаминов.

Таблица 4.7

Влияние олигоэфирциклокарбоната Лт-803 в субтоксических дозах в подостром опыте на обмен моноаминов в печени крыс (мкг/г ткани)

| Показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ (M±m) | | | |
|--------------|---|-------------|-------------|--------------|
| | Контроль (n=10) | 1/10(n=10) | 1/100(n=10) | 1/1000(n=10) |
| ДОФА | 4,05±0,36 | 2,56±0,42* | 3,10±0,28* | 3,85±0,25 |
| Дофамин | 1,73±0,19 | 0,92±0,07* | 1,24±0,14* | 1,83±0,21 |
| Норадреналин | 0,81±0,09 | 0,40±0,05* | 0,58±0,12* | 0,78±0,08 |
| Адреналин | 0,22±0,03 | 0,09±0,002* | 0,11±0,02* | 0,23±0,04 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Так, было обнаружено снижение содержания ДОФА на 36,80 % и 23,46%, дофамина – на 46,83 % и 28,39 %, норадреналина – на 50,62 % и 28,40 %, адреналина – на 59,10 % и 50,0 %, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Анализ результатов исследования обмена серотонина в печени и головном мозге обнаружил снижение содержания триптофана и повышение уровня серотонина под влиянием олигоэфирциклокарбоната в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ (табл. 4.8).

Таблица 4.8

Влияние олигоэфирциклокарбоната в субтоксических дозах на обмен серотонина в печени и головном мозге (мкг/г ткани)

| Органы/показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ (M±m) | | | |
|-------------------------|---|-------------|--------------|---------------|
| | Контроль (n=10) | 1/10 (n=10) | 1/100 (n=10) | 1/1000 (n=10) |
| Печень/триптофан | 13,9±1,25 | 3,82±0,36* | 7,23±0,65* | 14,5±1,17 |
| Печень/серотонин | 2,85±0,74 | 9,35±0,78* | 6,48±0,54* | 3,16±0,26 |
| Головной мозг/триптофан | 5,93±0,82 | 4,12±0,37* | 4,25±0,46* | 5,88±0,62 |
| Головной мозг/серотонин | 2,68±0,37 | 5,87±0,42* | 4,35±0,36* | 2,74±0,28 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Содержание триптофана в печени снижалось на 72,52 % и 47,99 %, в головном мозге – на 30,53 % и 28,34 %, соответственно у групп животных при дозе 1/10 и 1/100 LD₅₀. При этом уровень серотонина в печени повышался – на 228,07 % и 127,36 %, а в головном мозге – на 119,02% и 62,31%, соответственно под влиянием доз олигоэфиров 1/10 и 1/100 LD₅₀. Определение содержания в сыворотке крови биогенных моноаминов выявило снижение уровня дофамина, адреналина, норадреналина и их предшественника ДОФА на фоне повышения концентрации серотонина (табл. 4.9). Активность тромбоцитарной моноаминооксидазы (МАО-В) была значительно повышена под влиянием ксенобиотика в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀, что указывает на усиление процессов окислительного дезаминирования. Олигоэфирциклокарбонат в дозе 1/1000 LD₅₀ не оказывал влияния на обмен биогенных моноаминов.

Таблица 4.9

Влияние олигоэфирциклокарбоната Лт-803 в субтоксических дозах на активность тромбоцитарной MAO-B и содержание моноаминов в сыворотке крови

| Показатели | Группа наблюдения, LD ₅₀ (M±m) | | | |
|-----------------------------|---|-------------|--------------|---------------|
| | Контроль (n=10) | 1/10 (n=10) | 1/100 (n=10) | 1/1000 (n=10) |
| Дофамин (мкмоль/л) | 0,83±0,05 | 0,52±0,04* | 0,63±0,05* | 0,86±0,08 |
| Серотонин (мкмоль/л) | 0,29±0,02 | 0,94±0,08* | 0,77±0,06* | 0,31±0,05 |
| MAO-B (нмоль/мг белка·мин.) | 0,37±0,04 | 0,85±0,06* | 0,68±0,05* | 0,41±0,06 |
| Адреналин (нмоль/л) | 2,40±0,25 | 0,46±0,03* | 0,62±0,07* | 2,30±0,35 |
| Норадреналин (нмоль/л) | 2,56±0,19 | 0,52±0,07* | 1,25±0,11* | 2,44±0,22 |
| ДОФА (нмоль/л) | 17,80±2,65 | 5,87±0,62* | 8,38±0,76* | 15,69±1,85 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфирциклокарбонат Лт-803 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ активизирует процессы окислительного дезаминирования на фоне ингибирования эрготропной функции организма, которая сопряжена с усилением трофотропной о которых мы судили по повышению обмена серотонина и снижению обмена триптофана в печени и головном мозге в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀, как защитно-приспособительной реакции, что направлено на обеспечение постоянства внутренней среды организма. В дозе 1/1000 LD₅₀ ксенобиотик не влияет на обмен моноаминов и процессы окислительного дезаминирования.

4.3. Состояние циклазного медиаторного каскада под влиянием субтоксических доз олигоэфиров

В системе регуляторных механизмов, функционирующих на различных уровнях интеграции тканей, органов и организма в целом, основное значение имеют два сопряженных механизма регуляции – надклеточный и внутриклеточный. Надклеточная регуляция осуществляется нервной системой в

тесном взаимодействии с гуморальными факторами. Их единство заключается в том, что трофическое влияние нервной системы на организм, органы и ткани в конечном итоге реализуется с помощью химических веществ, являющихся прямыми посредниками в передаче этих явлений, либо их освобождение контролируется нервной системой. К таким посредникам можно отнести циклические нуклеотиды – цАМФ и цГМФ и ПГ. Вполне возможно, что развитие дистрофических процессов обуславливается именно факторами, обеспечивающими функционирование внутриклеточных механизмов регуляции. Изучение роли регуляторных механизмов различного уровня в развитии структурно-метаболических изменений, может облегчить понимание патофизиологических нарушений и будет способствовать выработке лечебно-оздоровительных и терапевтических мероприятий. При изучении механизмов формирования повреждений серьезного внимания заслуживает вопрос о нарушении баланса катехоламинов в организме. Это обусловлено важной ролью этих гормонов в функционировании различных органов, систем и функций организма и патогенетической связью между дисфункцией симпато-адреналовой системы и возникновением дистрофических и деструктивных явлений. Считается, что повреждающие эффекты химических, физических, биологических факторов во многом связаны с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой нейроэндокринной системы. Отсутствие прогностической оценки потенциальной опасности олигоэфиров диктует необходимость всестороннего изучения патофизиологических механизмов повреждающего их действия на организм. Учитывая вышесказанное, одной из задач исследования являлось изучение влияния олигоэфиров на состояние симпато-адреналовой системы, циклазный медиаторный каскад и гистогормоны – ПГв условиях подострого эксперимента. Изучение влияния олигоэфиров в дозе $1/100 LD_{50}$ на циклазный медиаторный каскад и внутриклеточную медиаторную систему обнаружило нарушение этих метаболических процессов в сердце и головном мозге (табл. 4.10).

Таблица 4.10

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на циклазный медиаторный каскад и систему внутриклеточной медиации

| Показатели (органы, ткани) | Группа наблюдения, М±m | | | |
|--|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| цАМФ (пмоль/г ткани), сердце | 762,4±38,5 | 354,6±21,3* | 376,2±27,8* | 349,5±24,6* |
| цГМФ (пмоль/г ткани), сердце | 62,8±5,7 | 128,3±7,6* | 142,5±6,9* | 117,4±10,5* |
| АЦ (пмоль/мг белка·1 мин), сердце | 34,7±2,64 | 24,30±1,75* | 27,50±1,4* | 21,37±1,6* |
| ГЦ (пмоль/мг белка·1 мин), сердце | 12,8±0,97 | 28,3±2,6* | 22,7±1,8* | 20,4±1,4* |
| ФДЭ (пмольРн/мг белка·1 мин), сердце | 8,14±0,63 | 16,5±0,94* | 18,7±1,3* | 19,2±1,7 * |
| цАМФ (пмоль/мг ткани), кора головного мозга | 480,3±27,8 | 244,7±13,5* | 268,3±15,2* | 237,4±9,2* |
| цГМФ (пмоль/мг ткани), кора головного мозга | 47,6±3,2 | 105,4±7,3* | 95,8±5,8* | 101,3±6,2* |
| АЦ(пмоль цАМФ/ мг белка·1 мин), кора головного мозга | 105,4±8,7 | 74,3±6,5* | 82,6±5,3* | 69,7±7,8* |
| ГЦ (пмоль цГМФ/мг белка·1 мин), кора головного мозга | 1,78±0,14 | 3,98±0,42* | 3,5±0,37* | 4,10±0,48* |
| ФДЭ (пмоль Рн/мг белка·1 мин), кора головного мозга | 4,83±0,37 | 7,94±0,83* | 8,26±0,72* | 9,75±0,76* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Исследуемые соединения снижали в ткани сердца содержание цАМФ – на 43,49 %; 50,66 % и 54,16 %, активность АЦ – на 30%; 20,75 % и 48,42%, в коре головного мозга уровень цАМФ снижался – на 49,06%; 44,16% и 50,58% и АЦ – на 29,51 %; 21,64 % и 35,88 %, соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р». На фоне снижения содержания цАМФ и АЦ в сердце и коре головного мозга наблюдалось повышение в этих органах количества цГМФ и активности ГЦ. Так, цГМФ в сердце повышался – на 104,3%, 126,9% и 86,9%, а гуанилатциклазная активность – на 121,09% 77,3% и 59,4%, Так, цГМФ коре головного мозга повышался – на 121,4%; 101,3% и 116,4%, а ГЦ – на 123,6%; 96,6% и 130,3%, соответственно при воздействии Л - 501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р». Следует отметить, что такая динамика циклических нуклеотидов сопровождалась повышением активности ФДЭ, в сердце – на 102,7 %; 129,7 % и 135,8 %, а в коре головного мозга – на 64,4 %; 71,1 % и 101,8 %, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р». Установленные изменения со стороны циклических нуклеотидов и активности ферментов АЦ, ГЦ и ФДЭ могут свидетельствовать об усилении метаболических процессов направленных на репаративные и восстановительные синтезы, что отражает напряжение защитно-приспособительных механизмов. Изучение влияния олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на симпато-адреналовую систему выявило снижение ее активности в сердце, надпочечниках, головном мозге и печени (табл. 4.11). Анализ результатов обнаружил снижение содержания норадреналина в ткани сердца – на 26,54 %; 34,70 % и 25,7 2%, норадреналина в надпочечниках – на 47,86%; 41,11% и 49,70%, адреналина в надпочечниках – на 24,83 %, 15,04 % и 70,63 %, дофамина в головном мозге – на 46,67 %, 53,18 % и 44,06 %, норадреналина в головном мозге – на 28,74 %; 25,29 % и 50,58 %, адреналина в головном мозге – на 50%; 28,13% и 34,38%, дофамина в печени – на 32,82 %; 40,35 % и 30,12 %, норадреналина в печени – на 54,77 %; 48,81 % и 67,86 %, адреналина в печени – на 52,78 %, 41,67 % и 47,23 %, соответственно у групп животных у подвергавшихся воздействию Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Таблица 4.11

Влияние олигоэфиров на состояние симпато-адреналовой системы в подостром опыте под воздействием 1/100 LD₅₀

| Показатели, органы, ткани | Группа наблюдения, М±m | | | |
|---|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| Норадреналин (нмоль/г ткани), сердце | 9,8±0,74 | 7,2±0,53* | 6,4±0,47* | 6,3±0,42* |
| Норадреналин (мкмоль/ 1г ткани), надпочечники | 1,63±0,18 | 0,85±0,07* | 0,96±0,08* | 0,82±0,06* |
| Адреналин (мкмоль/ 1г ткани, надпочечники) | 2,86±0,23 | 2,15±0,38* | 2,43±0,46* | 2,27±0,32* |
| Дофамин (мкг/г ткани), головной мозг | 3,45±0,37 | 1,84±0,12* | 1,65±0,15* | 1,93±0,17* |
| Норадреналин (мкг/г ткани), головной мозг | 0,87±0,09 | 0,62±0,05* | 0,65±0,04* | 0,43±0,04* |
| Адреналин (мкг/г ткани), головной мозг | 0,32±0,04 | 0,16±0,02* | 0,23±0,04* | 0,21±0,03* |
| Дофамин (мкг/г ткани), печень | 1,76±0,16 | 1,20±0,14* | 1,05±0,18* | 1,23±0,15* |
| Норадреналин (мкг/ г ткани), печень | 0,84±0,07 | 0,38±0,04* | 0,43±0,05* | 0,27±0,012* |
| Адреналин (мкг/г ткани), печень | 0,36±0,05 | 0,17±0,02* | 0,21±0,03* | 0,19±0,016* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Исследования показали, что олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ значительно ингибируют в условиях подострого эксперимента эрготропную функцию организма. Большинство имеющихся в литературе данных свидетельствует о том, что при активации симпатической регуляции в целом ряде органов высвобождаются ПГ типа Е. Они угнетают выход норадреналина из симпатических нервных окончаний, особенно при вредных воздействиях. В связи с исследованием состояния циклазного медиаторного каскада под влиянием субтоксических доз олигоэфиров, мы посчитали нужным осветить сопутствующие симпатической регуляции изменения в органах и тканях. Интересной для исследования стала динамика уровня ПГЕ и F_{2α} в сердце и печени.

В отличие от ПГЕ, проявляющих своё действие на пресинаптическом уровне, действие ПГF_{2α} рассматривается как постсинаптическое, так как при этом высвобождение норадреналина либо не изменяется, либо даже угнетается. Считают, что ПГF_{2α} влияет на эффекты ацетилхолина, а не норадреналина. Имеющиеся в настоящее время многочисленные данные по изучению роли простагландинов в организме позволяют характеризовать их как класс биологически активных веществ с весьма широким спектром физиологического и фармакологического действия. Литературные данные показывают, что биологические эффекты ПГ связаны с изменением уровня циклических нуклеотидов. Имеются данные, которые свидетельствуют о том, что наибольшее действие на активацию АЦ и увеличение синтеза цАМФ оказывают ПГ типа Е, а ПГF_{2α} практически не оказывают влияния на синтез цАМФ, но стимулируют синтез цГМФ. Активация АЦ и образование цАМФ, в свою очередь, способствует усилению синтеза ПГ.

Исследования влияния олигоэфиров на циклазный медиаторный каскад и тканевые гормоны свидетельствует о сопряженности этих процессов. Изучение влияния олигоэфиров на обмен ПГ выявило снижение содержания ПГЕ в сердце и печени и повышение в этих органах уровня ПГF_{2α} (табл. 4.12).

Таблица 4.12

Влияние олигоэфиров в 1/100 LD₅₀ на содержание гистогормонов

| Показатели | Группа наблюдения М±m | | | |
|--|-----------------------|-------------|--------------------|---------------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2- 50 «Р» |
| ПГЕ (нг/г ткани), сердце | 1,68±0,09 | 0,84±0,09* | 0,93±0,06* | 0,72±0,05* |
| ПГ F _{2α} (нг/г ткани), сердце | 1,24±0,07 | 2,66±0,17* | 2,35±0,22* | 2,54±0,28* |
| ПГЕ (нг/г ткани), печень | 3,17±0,24 | 1,43±0,12* | 1,73±0,16* | 1,57±0,14* |
| ПГ F _{2α} (нг/г ткани), печень | 2,54±0,18 | 3,96±0,24* | 3,28±0,18* | 3,52±0,26* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Было установлено снижение уровня ПГЕ в сердце на – 50 %; 44, 65 % и 27,84 % и увеличение содержания ПГ F_{2α} на – 114,5 %; 89,5 % и 104,83 %; в печени уровень ПГЕ снижался на – 54,89 %; 44,43 % и 50,4 8%, а ПГ F_{2α} повышался на – 55,9 %, 29,13 % и 38,58 %, соответственно при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р». Следует отметить, что уровни ПГЕ коррелировали с количеством цАМФ, тогда как содержание ПГ F_{2α} имело прямую связь с концентрацией цГМФ. Во всех случаях наблюдалось снижение уровней ПГЕ, цАМФ, активности АЦ и повышение содержания в органах и тканях ПГ F_{2α}, цГМФ и активности ГЦ. Эти изменения наблюдались на фоне ингибирования симпатoadреналовой системы и активации трофотропной функции, которая направлена на восстановленные синтезы в условиях повреждающего действия олигоэфиров.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ нарушают внутриклеточный обмен, ингибируют симпато-адреналовую систему на фоне активации репаративных и восстановительных синтезов, что в комплексе позволяет судить о преобладании трофотропной функции над энерготропной и следует рассматривать как

усиление защитно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма в условиях воздействия олигоэфиров. Исследования свидетельствуют о действии олигоэфиров Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в $1/100 LD_{50}$ на циклазную и внутриклеточную медиаторную систему, обмен биогенных моноаминов (адреналина, норадреналина, дофамина) и ПГ групп Е и $F_{2\alpha}$, которое сопряжено с нарушением внутриклеточного метаболизма и формированием дистрофических и деструктивных процессов во внутренних органах и тканях (сердце, надпочечники, печень, головной мозг), играющих ведущую роль в детоксикации ксенобиотиков. Обнаружена общая закономерность влияния олигоэфиров на различные органы и ткани, которая характеризовалась активацией парасимпатического влияния через цГМФ и ингибированием симпатического отдела нервной системы.

Изучение влияния олигоэфиров в дозе $1/10 LD_{50}$ на обмен циклических нуклеотидов в головном мозге выявило в целом снижение уровней цАМФ в коре головного мозга, мозжечке, продолговатом мозгу и стволе мозга на фоне повышения содержания цГМФ в этих структурах (табл. 4.13). Так, обнаружено по сравнению с показателями контрольной группы уменьшение уровня цАМФ в коре головного мозга – на 57,69 %; 54,01 % и 42,60 %, в мозжечке – на 31,21%; 26,96 % и 40 %, в продолговатом мозге – на 38,29 %; 30,4 9% и 41,49 %, в стволе мозга – на 35 %; 23,63 % и 39,09 %, соответственно под влиянием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Относительно интактной группы наблюдалось увеличение концентрации цГМФ в коре головного мозга – на 163,7 %; 148, 6% и 159,6 %, в мозжечке – на 91,87 %; 97,56 % и 92,69 %, в продолговатом мозге – на 71,03 %; 57,95 % и 79,4 %, в стволе мозга – на 94,19 %; 101,17 % и 47,68 %, соответственно в группах, при воздействии Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601 -2-50 «Р».

Полученные результаты указывают на ингибирование цАМФ и активирование цГМФ путей обмена в структурах головного мозга под влиянием олигоэфиров.

Таблица 4.13

Влияние олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀ на обмен циклических нуклеотидов в структурах головного мозга

| Структура мозга | Группа наблюдения, M±m | | | |
|----------------------|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| цАМФ (нмоль/г ткани) | | | | |
| Кора головного мозга | 3,61±0,24 | 1,53±0,09* | 1,66±0,08* | 1,35±0,04* |
| Мозжечок | 3,3±0,17 | 2,27±0,13* | 2,43±0,19* | 1,98±0,21* |
| Продолговатый мозг | 2,82±0,21 | 1,74±0,08* | 1,96±0,15* | 1,65±0,07* |
| Ствол мозга | 2,2±0,14 | 1,43±0,12* | 1,68±0,17* | 1,34±0,09* |
| цГМФ (нмоль/г ткани) | | | | |
| Кора головного мозга | 1,46±0,07 | 3,85±0,27* | 3,63±0,32* | 3,79±0,28* |
| Мозжечок | 1,23±0,04 | 2,76±0,18* | 2,43±0,24* | 2,57±0,21* |
| Продолговатый мозг | 1,07±0,03 | 1,83±0,14* | 1,69±0,08* | 2,92±0,15* |
| Ствол мозга | 0,86±0,05 | 1,67±0,15* | 1,73±0,09* | 1,77±0,14* |

Примечание: * - различия с контролем достоверные, $p < 0,05$.

Описанные выше в этой главе мотивы изучения уровня ПГЕ и F_{2α} продолжили исследования защитно-компенсаторных механизмов, направленных на усиление восстановительных синтезов в структурах головного мозга. Исследование обмена некоторых ПГ в различных структурах головного мозга выявило в коре головного мозга, мозжечке, продолговатом мозге и стволе мозга снижение содержания ПГЕ и значительное увеличение в этих структурах уровня ПГF_{2α} (табл. 4.14). Уровни ПГЕ у экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию олигоэфирами Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601 -2-50 «Р» в 1/10 LD₅₀, снижались в коре головного мозга – на 35,2 %; 30,68 % и 37,5 %, мозжечке – 32,9 %; 32,14 % и 36,9 %, продолговатом мозге – 47,69 %; 44,61 % и 50,77 %, стволе мозга – 41,1 %; 34,24 % и 44,8 %, при этом отмечалось увеличение содержания ПГF_{2α} в коре головного мозга – на 171,02%;

152,18 % и 186,96 %, мозжечке – 143,3 %; 150,75 % и 158,2 %, продолговатом мозге – 140,6 %; 160,9 % и 131,25 %, стволе мозга – 188,5%; 200% и 177,05 %, по сравнению с контролем.

Таблица 4.14

Влияние олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀ на содержание ПГ в структурах
головного мозга

| Структура мозга | Группа наблюдения, М±m | | | |
|--------------------------------|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| ПГЕ (мг/г ткани) | | | | |
| Кора головного мозга | 8,8±0,46 | 5,7±0,48* | 6,1±0,52* | 5,5±0,44* |
| Мозжечок | 8,4±0,54 | 5,3±0,45* | 5,7±0,38* | 5,3±0,46* |
| Продолговатый мозг | 6,5±0,37 | 3,4±0,28* | 3,6±0,33* | 3,2±0,27* |
| Ствол мозга | 7,3±0,44 | 4,3±0,35* | 4,8±0,46* | 4,1±0,32* |
| ПГF _{2α} (мг/г ткани) | | | | |
| Кора головного мозга | 6,9±0,54 | 18,7±1,4* | 17,4±1,2* | 19,8±1,6* |
| Мозжечок | 6,7±0,46 | 16,3±1,3* | 16,8±1,5* | 17,3±1,2* |
| Продолговатый мозг | 6,4±0,39 | 15,4±0,98* | 16,7±1,3* | 14,8±1,5* |
| Ствол мозга | 6,1±0,42 | 17,6±1,5* | 18,3±1,6* | 16,9±1,3* |

Примечание:* - различия с контролем достоверные, p < 0,05.

Следует отметить, что наиболее высокие уровни ПГF_{2α} наблюдались в коре головного мозга и стволе мозга, практически более чем в 2 раза, по сравнению с группой контроля.

Исследование в различных структурах головного мозга распределения циклических нуклеотидов и ПГ выявило их тесную взаимосвязь. В целом ряде работ было показано, что ПГ оказывают существенное влияние на уровень циклических нуклеотидов в тканях. В частности, отмечено увеличение содержания цАМФ в нервной ткани под влиянием ПГЕ. Точкой приложения действия ПГЕ является, очевидно, АЦ, активность которой, под влиянием этого

ПГ, увеличивается. Результаты наших исследований свидетельствуют, что олигоэфиры снижают в головном мозге содержание как цАМФ, так и ПГЕ, при этом наблюдается увеличение уровней цГМФ и ПГF_{2α}. В литературе отмечается, что цГМФ вовлекается в быстрые адаптивные изменения активности ЦНС независимо от воздействующего фактора. Очень многие стрессорные воздействия приводят к увеличению уровней цГМФ в мозге и клетках мозжечка, в то время как уровень цАМФ в этих условиях может снижаться или не изменяться. О связи изменения уровней циклических нуклеотидов с состоянием ЦНС, ее функцией говорят данные исследований с использованием ряда веществ, возбуждающих ЦНС и способствующих ее депрессии. Согласно данным этих исследований, все вещества, стимулирующие деятельность ЦНС, повышают уровень цГМФ в мозжечке, коре, гиппокампе и других участках головного мозга. В то же время, вещества, вызывающие депрессию, значительно увеличивают уровень цАМФ в ряде структур мозга и снижают уровень цГМФ. Рассматривая с этой точки зрения, полученные результаты, можно заключить, что олигоэфиры вызывают резкое увеличение содержания цГМФ особенно в коре головного мозга и приводят к развитию возбуждающих процессов, которые, очевидно, еще в большей степени усугубляются снижением в этих условиях концентрации цАМФ как тормозного фактора. Наблюдаемые нами уменьшение уровня цАМФ в головном мозге и повышение – цГМФ свидетельствуют об активации адапционно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма в условиях подострого воздействия исследуемыми ксенобиотиками.

В этих условиях олигоэфиры, очевидно, являются фактором, стимулирующим синтез ПГF_{2α} и ингибирующим симпато-адреналовую систему.

Олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ оказывают активирующее влияние на систему «гуанилатциклаза-цГМФ» и ингибирующее действие на систему

«аденилатциклаза-цАМФ», что сопряжено с уменьшением в структурах головного мозга содержания ПГЕ и повышением – ПГФ_{2α}. Данная ситуация обусловлена значительным напряжением защитно-компенсаторных механизмов, направленных на усиление восстановительных синтезов в поврежденных структурах головного мозга. Одним из ведущих механизмов в цепи развития структурно-метаболических нарушений может быть ингибирование энергетического обеспечения головного мозга, активация перекисного окисления липидов и развитие тканевой гипоксии, которые связаны с воздействием ксенобиотиков и изменением в системах регуляции внутриклеточного метаболизма.

Таким образом, обнаружена общая закономерность влияния олигоэфиров на различные органы и ткани, которая характеризовалась активацией парасимпатического влияния через цГМФ и ингибированием симпатического отдела нервной системы. Изучение влияния олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀ на обмен циклических нуклеотидов в головном мозге выявило в целом снижение уровней цАМФ в коре головного мозга, мозжечке, продолговатом мозгу и стволе мозга на фоне повышения содержания цГМФ в этих структурах. Во всех случаях наблюдалось снижение уровней ПГЕ, цАМФ, активности АЦ и повышение содержания в органах и тканях ПГФ_{2α}, цГМФ и активности ГЦ. Эти изменения наблюдались на фоне ингибирования симпатoadренальной системы и активации трофотропной функции, которая направлена на восстановленные синтезы в условиях повреждающего действия олигоэфиров.

4.4. Влияние олигоэфиров на параметры рецепторного связывания и систему нейромедиторной активности

Особое значение приобретают исследования патохимических механизмов развития структурно-метаболических нарушений, ведущая роль в которых

принадлежит мембранной патологии, при длительном влиянии субтоксических доз олигоэфиров на рецепторный аппарат и внутриклеточную систему медиаторной регуляции метаболических процессов в условиях подострого эксперимента. Изучение состояния рецепторного аппарата клеточных структур играет важную роль в понимании механизмов обеспечения гомеостаза, патогенеза различных заболеваний и интоксикаций, оценке гормональной регуляции функций организма. Одним из приоритетных направлений в современной патологической физиологии является исследование длительного воздействия субтоксических доз химических агентов на системы рецептор-медиатор и медиаторной регуляции внутриклеточного метаболизма. Известно, что структурно-функциональное состояние рецепторного аппарата клетки во многом определяется активностью мембраноструктурированного фермента АЦ. Важная роль в процессах внутриклеточного обмена принадлежит и фосфодиэстеразе, которая является фактором регуляции уровня ведущих клеточных медиаторов – цАМФ и цГМФ. Повышение уровня цАМФ – наиболее ранний признак стрессовой ситуации в клетке. Поэтому чрезмерная активация системы циклических нуклеотидов нередко ведет к развитию патологических реакций. Результаты изучения влияния ксенобиотиков на параметры рецепторного связывания в коре головного мозга α_1 -адренорецепторов выявили повышение их равновесной константы диссоциации (K_d) и количества мест рецепторного связывания (табл. 4.15). Действие олигоэфиров в $1/100 LD_{50}$ на параметры рецепторного связывания в коре головного мозга β -адренорецепторов характеризовалось увеличением константы диссоциации и снижением количества мест рецепторного связывания.

Состояние параметров рецепторного связывания α_1 - и β -адренорецепторов в печени имело сходную динамику с таковой в коре головного мозга и характеризовалось повышением равновесной константы диссоциации и количества мест рецепторного связывания α_1 -адренорецепторов, что свидетельствовало о снижении сродства рецепторов к радиолиганду.

Таблица 4.15

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на параметры рецепторного связывания в условиях длительного воздействия олигоэфирами на белых крысах

| Показатели, органы | | | Группа наблюдения (M±m) | | |
|--|----------------------|------|-------------------------|--------------|--------------------|
| | | | Контроль (n=10) | Лт-803(n=10) | П-2501-2-50 (n=10) |
| Адренорецепторы, кора головного мозга (Kq-пмоль, Vmax фмоль/мг белка) | α_1 | Kq | 2,74±0,13 | 16,40±1,24* | 17,54±1,38* |
| | | Vmax | 0,52±0,04 | 1,27±0,08* | 1,13±0,05* |
| | β | Kq | 1,57±0,06 | 15,80±1,17* | 16,30±1,44* |
| | | Vmax | 0,21±0,03 | 0,12±0,014* | 0,14±0,012* |
| Адренорецепторы, печень (Kq-пмоль, Vmax фмоль/мг белка) | α_2 | Kq | 6,90±0,57 | 24,50±1,62* | 27,80±1,83* |
| | | Vmax | 0,64±0,04 | 1,27±0,14* | 1,35±0,18* |
| | β | Kq | 3,85±0,32 | 1,44±0,12* | 1,58±0,16* |
| | | Vmax | 0,46±0,03 | 0,15±0,018* | 0,13±0,012* |
| Адренорецепторы, продолговатый мозг (Kq-пмоль, Vmax фмоль/мг белка) | α_2 | Kq | 6,13±0,37 | 2,84±0,16** | 2,76±0,21* |
| | | Vmax | 0,54±0,03 | 0,097±0,001* | 0,095±0,002* |
| Дофаминовые рецепторы, кора головного мозга (Kq-пмоль, Vmax фмоль/мг белка) | D ₂ | Kq | 0,38±0,04 | 0,17±0,012* | 0,21±0,014* |
| | | Vmax | 85,63±3,7 | 60,48±2,53* | 57,6±2,73* |
| Серотониновые рецепторы кора головного мозга (Kq-пмоль, Vmax фмоль/мг белка) | C ₁ | Kq | 1,46±0,07 | 1,14±0,05* | 0,97±0,04* |
| | | Vmax | 260,5±8,20 | 376,8±6,74* | 387,4±9,23* |
| | C ₂ | Kq | 0,35±0,03 | 0,17±0,02* | 0,16±0,013* |
| | | Vmax | 27,4±1,25 | 18,6±0,95* | 16,7±1,14* |
| Глюкокортикоидные рецепторы 2 типа (фмоль/мг белка) | печень | | 426,8±17,5 | 865,7±31,4* | 923,8±29,5* |
| | мозжечок | | 473,6±28,2 | 1024,6±42,5* | 1138,9±54,3* |
| | ствол | | 797,4±35,6 | 2735,6±84,3* | 2668,7±93,8* |
| | Кора головного мозга | | 570,2±46,4 | 1486,7±66,4* | 1548,3±72,6* |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

При этом отмечалось в печени снижение K_q и B_{max} β -адренорецепторов, что указывало на усиление сродства β -адренорецепторов к лиганду у групп животных, под воздействием олигоэфиров.

Влияние олигоэфиров на параметры связывания α_2 -адренорецепторов в продолговатом мозге отражало иную динамику. Она заключалась в снижении равновесной константы диссоциации и количества мест связывания α_2 -адренорецепторов, что указывает на усиление сродства лиганда к α_2 -адренорецепторам. Из известных α_1 -адренергических механизмов деятельности ЦНС можно предположить, что в клетках головного мозга вследствие таких изменений должны наблюдаться нарушения обмена фосфолипидов и внутриклеточного уровня цАМФ.

Для α_2 -адренорецепторов наблюдали снижение K_q и B_{max} , что указывало на усиление сродства лиганда (3H -раувольсина) к α_2 -адренорецепторам. По современным представлениям, общим свойством α_2 -адренорецепторов является индукция снижения образования цАМФ посредством ингибирования аденилатциклазы. Наблюдаемая стимуляция α_2 -рецепторов может сопровождаться увеличением вагусного влияния, снижением активности периферической симпатической нервной системы, артериального давления и др.

Олигоэфиры в исследуемой дозе $1/100 LD_{50}$ нарушали также параметры связывания дофаминовых рецепторов. Согласно существующим научным данным, дофаминовые рецепторы в головном мозге подразделяются на 2 категории: D_1 – связанные с аденилатциклазой и D_2 – несвязанные с аденилатциклазой или участвующие в ее инактивации. Нейролептики, используемые при эндокринных, неврологических и психических нарушениях, как известно, модифицируют активность D_2 -дофаминовых рецепторов. По результатам некоторых авторов, большинство токсических эффектов дофаминовых агонистов опосредовано D_2 -рецепторами. В качестве меченого лиганда использовали 3H -спиперон, который имеет большое сродство к D_2 -дофаминовым рецепторам. Исследования обнаружили, что олигоэфиры

снижали в коре головного мозга равновесную константу диссоциации и количество мест рецепторного связывания радиолиганда ^3H -спиперона с D_2 -рецепторами, что указывает на увеличение их сродства к этому типу рецепторов.

Определение в коре головного мозга параметров рецепторного связывания серотониновых рецепторов первого типа – C_1 – обнаружило снижение K_d и повышение количества мест рецепторного связывания радиолиганда – ^3H -серотонина – данными рецепторами, что свидетельствует о влиянии олигоэфиров на активацию серотонинергических рецепторов, связанных с C_1 -рецепторами. Действие на C_2 -рецепторы сопровождалось снижением равновесной константы диссоциации и количества мест радиолигандного связывания ^3H -спиперона C_2 -рецептрами, что указывает на повышение сродства олигоэфиров к данному типу рецепторов.

Важное место в регуляции метаболических процессов и поддержании гомеостаза организма принадлежит глюкокортикоидным рецепторам. При изучении глюкокортикоидных рецепторов второго типа использовали синтетический глюкокортикоид дексаметазон, который, как известно, не взаимодействует с другими типами глюкокортикоидных цитоплазматических рецепторов и транскортином. Количество данного типа рецепторов определяли методом радиолигандного связывания. Исследования обнаружили, что олигоэфиры существенно повышали количество глюкокортикоидных рецепторов в различных структурах головного мозга – коре, стволе, мозжечке – и печени. Значительный рост количества этого типа рецепторов наблюдался в стволе головного мозга. Известно, что эффект глюкокортикоидных рецепторов 2 типа по отношению к глюкокортикоидам характеризуется значительным временным интервалом и это имеет определенный физиологический смысл. Такое свойство этих рецепторов при сохранении гомеостатического уровня активности генетического аппарата клетки является наиболее важным. Наблюдаемое повышение количества рецепторов связано с мощным

проявлением эффекта ядерной транслокации глюкокортикоидных рецепторов 2 типа в комплексе со стероидами. Продолжительное изменение гомеостатического уровня глюкокортикоидной функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы под воздействием олигоэфиров приводит к вовлечению в процесс глюкокортикоидных рецепторов и генетического аппарата, что обеспечивает повышение устойчивости организма к длительной токсификации. Различный уровень глюкокортикоидных рецепторов в исследуемых тканях обуславливает, вероятно, определенную выраженность клеточного метаболизма в условиях воздействия ксенобиотиков.

Структурно-функциональное состояние рецепторного аппарата тесно связано с физико-химическими свойствами самих мембран: их вязкостью, полярностью, зарядом, гидрофобным объемом, проницаемостью, текучестью. Эти основные показатели определяют активность мембраноструктурированных ферментов и, в первую очередь, тех, которые выполняют транспортную, сигнальную, энерготрансформирующую, синтетическую, защитную функции и др. Состояние рецепторного аппарата клетки во многом определяется активностью мембраноструктурированного фермента АЦ. О ее состоянии судили по уровню цАМФ. Изменения каталитической активности аденилатциклазной системы имели сопряженную связь с кинетикой β -адренорецепторов. Следует отметить, что в тех случаях, когда активность АЦ сильно падает, как правило, отсутствует стимуляция через рецепторное звено, однако сохраняется потенциальная активность системы, что подтверждается сохранением ответа на активатор G-белка аденилатциклазы – NaF (табл. 4.16).

Исследования показали, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ ингибируют активность АЦ в стволе и коре головного мозга, а также в печени. На этом фоне отмечалось повышение поглощения $^{45}\text{Ca}^{2+}$ мембранами синапсом клеток головного мозга, как базального уровня, так и калий стимулированного, под влиянием Лг - 803 и П - 2501 – 2 – 50.

Таблица 4.16

Влияние олигоэфиров в субтоксической дозе 1/100 LD₅₀ при длительном поступлении в организм на внутриклеточный медиаторный циклазный каскад

| Показатели, органы | Группа наблюдения (M±m) | | | |
|---|--|--------------|--------------------|----------------|
| | Контроль (n=10) | Лт-803(n=10) | П-2501-2-50 (n=10) | |
| АЦ, ствол мозга (пмоль цАМФ/мг белка·мин) | | 9,80±0,63 | 3,40±0,25* | 2,75±0,32* |
| | изопротеренол | 1,26±0,11 | 0,47±0,03* | 0,39±0,04* |
| | NaF | 1,77±0,13 | 0,76±0,05* | 0,83±0,07* |
| АЦ, печень (пмоль цАМФ/мг белка·мин) | | 2,43±0,27 | 1,35±0,14* | 1,26±0,17* |
| | изопротеренол | 2,84±0,22 | 0,63±0,05* | 0,72±0,08* |
| | NaF | 4,36±0,42 | 1,95±0,16* | 2,28±0,19* |
| Поглощение ⁴⁵ Са ²⁺ мембранами синапсом клеток головного мозга (имп/мг белка·мин) | Базальное поглощение | 9836,4±52,3 | 13875,6±73,8* | 14738,5±68,4* |
| | К ⁺ -стимулированное поглощение | 15248,7±68,2 | 21436,3±97,4* | 22607,4±115,3* |
| Поглощение ⁴⁵ Са ²⁺ мембранами микросом гепатоцитов (имп/мг белка·мин) | Базальное поглощение | 6254,7±53,6 | 9986,4±47,5* | 10158,3±62,7* |
| | К ⁺ -стимулированное поглощение | 8746,56±7,4 | 12735,6±84,3* | 11987,4±72,6* |
| АЦ, кора головного мозга (пмоль цАМФ/мг белка·мин) | | 120,4±7,8 | 57,3±5,2* | 48,9±3,8* |
| цАМФ, кора головного мозга(фмоль/мг ткани) | | 465,7±10,3 | 215,4±8,3* | 236,8±10,2* |
| АЦ, кора головного мозга(пмоль цГМФ/мг белка·мин) | | 0,74±0,06 | 2,44±0,16* | 2,33±0,24* |
| цГМФ, кора головного мозга (фмоль/мг белка·мин) | | 44,8±3,7 | 92,4±6,6* | 87,5±5,3* |
| ФДЭ, кора головного мозга (фмоль/мг белка·мин) | | 3,74±0,26 | 8,64±0,72* | 9,10±0,86* |
| ГЦ, печень (пмоль цГМФ/мг белка·мин) | | 5,20±0,38 | 9,62±0,68* | 10,35±0,74* |
| ГЦ, ствол мозга (пмоль цГМФ/мг белка·мин) | | 3,24±0,19 | 8,14±0,76* | 7,23±0,83* |
| цАМФ (пмоль/мл), плазма крови | | 57,8±4,6 | 103,5±6,8* | 123,6±8,5* |
| цГМФ(пмоль/мл), плазма крови | | 8,23±0,65 | 4,28±0,37* | 4,56±0,43* |

Примечание:* различия достоверные, p<0,05

Важное значение в процессах внутриклеточного обмена принадлежит ФДЭ, которая является фактором регуляции уровня циклических нуклеотидов. Изменение активности ФДЭ под воздействием олигоэфиров может свидетельствовать и об изменениях содержания внутриклеточных медиаторов – цАМФ и цГМФ – и, как следствие, – структурно-метаболических процессов. Исследования обнаружили, что олигоэфиры существенно повышали активность ФДЭ при длительном воздействии на организм в субтоксических доз. Известно, что активность ФДЭ тесно связана с активностью аденилат- и гуанилатциклазной системы, а также внутриклеточным медиаторным метаболизмом. Результаты исследования выявили снижение активности АЦ в коре головного мозга и повышение активности ГЦ на фоне снижения уровня цАМФ и повышения – цГМФ. Вместе с тем, в плазме крови, отмечалась обратная динамика циклических нуклеотидов, которая характеризовалась повышением уровня цАМФ и снижением – цГМФ. Эти данные свидетельствуют, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ активируют защитно-приспособительные механизмы, направленные на обеспечение гомеостаза.

Известно, что начальным этапом формирования физиологической реакции на клеточном, тканевом и организменном уровнях является возбуждение рецепторной молекулы при взаимодействии с нейромедиатором или гормоном. Это обеспечивает конформационную перестройку рецепторного аппарата. Наиболее распространенными путями нейромедиаторного контроля над внутриклеточным метаболизмом следует считать сопряжение работы соответствующих рецепторов с механизмами кальциевой проницаемости и регуляции АЦ и ГЦ. Практически все клетки организма содержат в составе плазматических мембран АЦ и ГЦ, катализирующих образование соответственно цАМФ и цГМФ. Возбуждение мембранных рецепторов приводит к изменению содержания в клетке вторичных посредников (цАМФ и цГМФ). Любой гормон или нейротрансмиттер воздействует на клетку через систему циклических нуклеотидов – универсальных регуляторов метаболизма,

пролиферции и дифференцировки клеток. Результаты исследования показали, что олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ способны вызывать дисфункцию обмена циклических нуклеотидов. Внутриклеточные концентрации цАМФ и цГМФ претерпевали противоположно направленное изменение в ответ на интоксикацию организма.

Результаты обнаружили, что олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ в условиях длительного субтоксического влияния олигоэфиров способны нарушать параметры рецепторного связывания и внутриклеточный метаболизм, проявлением чего может быть нарушение функции различных органов и систем.

Таким образом, анализ проведенных исследований позволяет судить, что олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ нарушают параметры рецепторного связывания адреналиновых, дофаминовых, серотониновых, глюкокортикоидных рецепторов и внутриклеточный медиаторный циклазный каскад, что может быть сопряжено с развитием многих патологических состояний, которые формируются на фоне мембранной патологии.

ГЛАВА 5

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО ОБМЕНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ОЛИГОЭФИРОВ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ

При обосновании механизмов развития патологических процессов, возникающих в результате вредного воздействия факторов окружающей среды, первостепенная роль в исследованиях отводится гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной и надпочечниковой эндокринной системе [336]. Это объясняется не только ролью эффекторных гормонов (глюкокортикоидов и йодтиронина) в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности и управления срочными и долговременными адаптационными реакциями организма, но и сложным взаимодействием упомянутых систем на различных уровнях их организации в условиях, как нормы, так и патологии. В этом аспекте, изучение состояния гормонального обмена у белых крыс, подвергавшихся пероральному воздействию субтоксических доз олигоэфиров в условиях подострого эксперимента, и обоснование особенностей реакции эндокринной системы является актуальной медицинской проблемой. Изучение функционального состояния центральных и периферических нейроэндокринных комплексов в условиях воздействия на организм малых доз олигоэфиров как вариант наиболее полной и устойчивой адаптации организма в стрессовых ситуациях осуществляется благодаря взаимодействию целого ряда функциональных комплексов нейро-эндокринной системы. Гормональные защитные реакции синдрома адаптации представляют собой необходимые стандартные физиологические реакции на повреждение, выработавшиеся в процессе эволюции и направленные на сохранение гомеостаза и повышение резистентности организма.

5.1. Содержание гормонов центральных органов эндокринной системы – под влиянием олигоэфиров в субтоксических дозах

Известно, что гипоталамус обеспечивает координацию процессов репродукции организма за счет получения информации, как от вышележащих областей центральной нервной системы, так и от периферических половых эндокринных желез. Для нормального протекания данного кооперативного процесса необходима целостность структурно-метаболического взаимодействия гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и наличие определенных взаимосвязей между ее отдельными звеньями. Если информация, поступающая в гипоталамус из других областей нервной системы, передается нейромедиаторами, как адренергического, так и холинергического ряда, то периферические половые гормоны могут осуществлять свои эффекты путем связывания со специфическими белками-рецепторами, которые способны обеспечивать избирательный захват половых гормонов, инициацию и реализацию специфического гормонального эффекта в клетке. Это позволяет в физиологических условиях координировать механизмы управления репродуктивными процессами в общей системе центральной регуляции гонадотропной функции гипофиза.

В существующей научной литературе накопилось достаточно большое количество сведений о вредном влиянии антропогенных химических факторов на репродуктивную функцию, как экспериментальных животных, так и человека в условиях промышленного производства [120, 122, 325]. Это в полной мере может быть отнесено и к новым, ранее не изученным химическим соединениям – олигоэфирам. Все изучаемые олигоэферы в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижали содержание в сыворотке крови СТГ и ТТГ и значительно повышали уровень АКТГ (табл. 5.1). В дозе 1/1000 LD₅₀ вещества не оказывали заметного влияния на содержание данных гормонов. Наиболее весомые изменения уровня гормонов были выявлены у животных, которые подвергались воздействию олигоэфиров в дозе 1/10 LD₅₀. Так, при этой дозе содержание СТГ снижалось – на 33,15 %, 42,4 % и 32,1 %, ТТГ – на 54,5 %, 50,4 и 52,85 %, АКТГ – на 10,5 %, 10,5 и 10,5 %.

соответственно под воздействием Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» Л - 1601-2-50 «Р».

Таблица 5.1

Влияние олигоэфиров на содержание тропных гормонов в сыворотке крови крыс

| Вещества, доза LD50 | | Показатели, М±m | | |
|---------------------|------------|-----------------|---------------|---------------|
| | | СТГ (нг/мл) | ТТГ (мкЕД/мл) | АКТГ (пкг/мл) |
| Л-501-2-100 | 1/10 LD50 | 12,3±0,98* | 5,6±0,83* | 280,8±14,5* |
| | 1/100 LD50 | 14,5±1,2* | 7,2±0,65* | 120,4±9,3* |
| | 1/1000LD50 | 17,8±1,6 | 10,7±1,4 | 48,2±6,7 |
| Л-1601-2-50 «Б» | 1/10 LD50 | 10,6±1,3* | 6,10±0,42* | 257,2±18,6* |
| | 1/100 LD50 | 13,8±0,95* | 8,3±0,74* | 105,7±6,2* |
| | 1/1000LD50 | 19,4±1,5 | 14,1±1,3 | 45,7±5,8 |
| Л-1601-2-50 «Р» | 1/10 LD50 | 12,5±1,7* | 5,8±0,54* | 210,6±17,3* |
| | 1/100 LD50 | 14,2±1,3* | 8,5±0,63* | 95,4±7,6* |
| | 1/1000LD50 | 17,3±1,6 | 13,7±1,5 | 43,5±5,2 |
| Контроль | | 18,4±1,5 | 12,3±1,2 | 37,65±4,1 |

Примечание: *различия достоверные $p < 0,05$

Концентрация АКТГ увеличивалась, соответственно, на 645,8%, 583,1% и 459,4 %. В дозе 1/100 LD₅₀ изменения уровня гормонов были менее выражены, что позволило считать эту дозой пороговой по влиянию на содержание СТГ, ТТГ и АКТГ.

Представляет интерес повышение концентрации АКТГ, как критериально-значимого показателя, который при дозе 1/100 LD₅₀ увеличивался – на 219,8 %, 180,7 % и 153,4 %, соответственно. Повышение уровня АКТГ, по-видимому, указывает на стресс, возникающий под влиянием олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀.

Так, олигоэфир марки Лт – 803 в дозе 1/100 LD₅₀ снижал в сыворотке крови белых крыс (самцы) содержание ТТГ, СТГ и повышал уровень АКТГ (табл. 5.2). Эти изменения отмечались на фоне увеличения концентрации глюкозы в крови ($p < 0,05$). Анализ гормонального обмена свидетельствует, что исследуемые ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ при субтоксическом воздействии

на организм экспериментальных животных олигоэфиров способны оказывать влияние на энергетический, углеводный, белковый, липидный и минеральный обмен с преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами.

Таблица 5.2

Влияние олигоэфиров на состояние гормонального обмена у подопытных животных в подостром эксперименте (самцы)

| Показатели | Группа животных, $M \pm m$, LD_{50} | | |
|------------------|--|--------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| ТТГ (мкЕД/мл) | 11,4±0,76 | 6,15±0,54* | 10,65±0,57 |
| АКТГ (пкг/мл) | 34,57±4,15 | 135,43±7,26* | 37,68±4,18 |
| СТГ (нг/мл) | 21,40±1,35 | 14,18±1,27* | 22,38±1,79 |
| Глюкоза (пкг/мл) | 3,40±0,35 | 6,83±0,47* | 3,24±0,46 |

Примечание: * различия достоверные, $p < 0,05$

Снижение уровней ТТГ и повышение концентрации глюкозы свидетельствует о напряжении энергетического обмена, возможном усилении теплопродукции.

Оценка и динамическое сравнение показателей гормонального обмена обнаружили в наибольшей мере изменение в сыворотке крови содержания АКТГ. Так, было установлено, что олигоэфир Лт – 803 – в дозе 1/100 LD_{50} повышал уровень АКТГ – на 291,7%. Такая динамика гормонов, на фоне их накопления в крови, указывает также и при действии этого олигоэфира на неспецифическую стресс-реакцию. Во всех случаях доза 1/1000 LD_{50} не влияла на гормональный обмен опытных крыс.

Значительное увеличение уровней АКТГ свидетельствует об усилении катаболических процессов на фоне повышения секреции надпочечниками глюкокортикоидов, что может быть сопряжено с нарушением углеводного и многих других видов обмена веществ. Эти данные подтверждались увеличением уровней глюкозы в крови, как возможным результатом активации

глюконеогенеза под влиянием 1/100 LD₅₀. В этой дозе олигоэфирсы значительно ингибировали синтез СТГ, что указывает на подавление анаболических процессов у экспериментальных животных. Изучение гормонального обмена у экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию олигоэфирсами в дозах 1/100 и 1/1000 LD₅₀, выявило значительные нарушения эндокринной функции, как у самок, так и у самцов. Учитывая вышесказанное, одной из задач работы являлось изучение влияния новой группы олигоэфирсов на содержание «центральных» гормонов - гонадотропинов в сыворотке крови белых крыс в условиях подострого опыта и обоснование потенциальной опасности их воздействия на генеративную функцию теплокровных животных. Изучение гонадотропинов обнаружило снижение в сыворотке крови содержание фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛТ) гормона и пролактина (ПЛ) в группах животных, которые подвергались воздействию ксенобиотиками в дозе 1/10 LD₅₀. Подострое воздействие 1/100 LD₅₀ приводило к увеличению содержания этих гормонов в сыворотке крови экспериментальных животных. Во всех случаях доза 1/1000 LD₅₀ не влияла на динамику гонадотропинов (табл. 5.3).

Таблица 5.3

Влияние олигоэфирсов на содержание в сыворотке крови гонадотропинов у самок в подостром опыте

| Вещества, LD ₅₀ | доза | Показатели, М±m | | |
|----------------------------|--------|---------------------|--------------------|----------------------|
| | | ФСГ, самки (miv/ml) | ПЛ, самки (miv/ml) | ЛТ (МК ЕД/мл), самки |
| Л-501-2-100 | 1/10 | 15,44±1,32* | 1625,7±56,3* | 2,18±0,23* |
| | 1/100 | 36,17±2,54* | 3153,8±124,6* | 5,47±0,52* |
| | 1/1000 | 31,54±3,16* | 2297,3±158,6* | 3,94±0,52* |
| Л-1601-2-50-«Б» | 1/10 | 16,80±1,53* | 1743,6±48,2* | 2,36±0,24* |
| | 1/100 | 40,63±3,50* | 3286,5±74,8* | 5,63±0,44* |
| | 1/1000 | 28,73±2,84* | 2169,7±183,5* | 4,36±0,47* |
| Л-1601-2-50-«Р» | 1/10 | 16,40±1,27* | 1784,6±53,7* | 2,43±0,32* |
| | 1/100 | 42,86±2,63* | 3274,5±86,7* | 6,20±0,48* |
| | 1/1000 | 26,85±2,53* | 2242,7±165,3* | 4,40±0,34* |
| Контроль | | 29,32±2,18 | 2356,8±172,4 | 4,15±0,36 |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Исследования показали, что ксенобиотики в дозе 1/10 LD₅₀ снижали концентрацию ФСГ на 47,96 %; 42,70 % и 44,10 %, ПЛ – на 31,1 %; 26,01 % и 24,27 %, ЛТ – на 47,77 %; 43,13 % и 41,44 %, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

При дозе 1/100 LD₅₀ отмечалось увеличение содержания в сыворотке крови ФСГ – на 23,37 %; 38,6 % и 46,2 %, ПЛ – на 39,8 %; 39,45 % и 38,9%, ЛТ– на 31,84 %; 35,67 % и 49,4 %, соответственно при воздействии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Действие олигоэфира на динамику обмена гонадотропинов у самок выражалось в снижении в сыворотке крови содержания ФСГ, ПЛ, ЛТ гормона (табл. 5.4).

Таблица 5.4

Влияние олигоэфиров в 1/100 и 1/1000 LD₅₀ на гормональный обмен у подопытных животных в подостром эксперименте (самки)

| Показатели | Группа животных, M±m, LD ₅₀ | | |
|--------------|--|--------------|-------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| ФСГ (miv/ml) | 27,32±1,38 | 14,74±1,18* | 26,53±1,86 |
| ПЛ (miv/ml) | 3146,5±58,2 | 2436,7±52,7* | 3132,4±60,7 |
| ЛТ (мкЕд/мл) | 5,43±0,47 | 3,15±0,29* | 5,23±0,46 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Анализ динамических изменений оценочных показателей гонадотропинов в сыворотке крови свидетельствует, что олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ нарушают генеративную функцию и кооперативное взаимодействие центральных и периферических звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадных систем. Такие изменения способны на ранних стадиях эмбриогенеза влиять на половую дифференцировку гипоталамуса в так называемый «критический» период развития, половое созревание, нарушать овариальный и маточный цикл, протекание беременности и детородной функции. Олигоэфиры в дозе 1/1000

LD₅₀ не оказывают влияния на генеративную функцию теплокровных животных.

Изучение влияния гормонов передней доли гипофиза под влиянием олигоэфиров в дозе 1/100 и 1/1000 LD₅₀, которые регулируют секреты всех остальных эндокринных желез, показало снижение СТГ, ТТГ и повышение АКТГ. В дозе 1/1000 LD₅₀ вещества не влияли на показатели гормонального обмена опытных животных. Гонадотропные гормоны ФСГ, ЛТ, лютеотропный (пролактин) показали следующие изменения – при дозе 1/100 LD₅₀ отмечалось увеличение содержания в сыворотке крови ФСГ на 23,3 7%; 38,6% и 46,2 %, ЛТ – на 31,84 %; 35,67 % и 49,4 % и ПЛ – на 39,8 %; 39,45 % и 38,9 %.

Изучение влияния олигоэфиров в разных дозах на оценочные показатели центральных органов эндокринной системы как высшего нервного центра регуляции эндокринной функции показало угнетение нейрогипофизарной части контролирующих и интегрирующих функций организма и объединение эндокринных механизмов регуляции с нервными.

5.2. Содержание гормонов периферических эндокринных желез, под влиянием субтоксических доз олигоэфиров

Одной из задач исследования было изучение периферических эндокринных желез: щитовидной, паращитовидных, коркового вещества, сетчатой зоны надпочечников – андрогенов и эстрогенов и прогестерона, половых гормонов, поджелудочной железы (инсулина и глюкагона). Гормоны же мозгового вещества надпочечников – адреналин и норадреналин, которые были снижены, нами было подробно описано в главе 4 – о нейромедиаторах.

Известно, что щитовидная железа обеспечивает работу периферических гормонов – тироксина, трийодтиронина и кальцитонина. Причём тироксин и трийодтиронин обеспечивают в организме основной обмен, а кальцитонин – обмен кальция и фосфора. Наши исследования мониторинговых обменных показателей, а также оценочных показателей влияния олигоэфиров в

субтоксических дозах на мембранную патологию организма животных показали изменения структуры, функции и физико-химических свойств мембран. В виду полученных результатов исследований, необходимым явилось изучение содержания гормонов периферических эндокринных желез, участвующих в основном обмене, в том числе и паращитовидных (гормон – паратирин), участвующих в обмене кальция и фосфора – как обеспечивающих фосфолипидную структуру мембран и регулирующих, с помощью кальция, динамическое равновесие субстратных, информационных и энергетических потоков в биосистеме. Изучение влияния олигоэфиров на уровень гормонов периферических эндокринных желез показало, что под воздействием всех изучаемых химических веществ в дозе 1/100 LD₅₀ увеличивается содержание в сыворотке крови трийодтиронина (Т₃), тироксина (Т₄), глюкагона, паратирина и снижается концентрация кальцитонина и инсулина на фоне повышения содержания глюкозы (табл. 5.5).

Уровень Т₄ увеличивался – на 142 %, 117,3 % и 94,7 %, Т₃ – на 47,2 %, 27,3 % и 18,6 %, глюкагона – на 52,7 %, 49,4 % и 39,9 %, паратирин – на 176,0%, 154,4 % и 120%, глюкозы – на 128 %, 110,7 % и 89,3 %, соответственно под воздействием 1/100 LD₅₀ Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Содержание кальцитонина снижалось, соответственно, на 42,1%, 31,1% и 28,5%, инсулина – на 63,25%, 48,3% и 52,3%.

Так, олигоэфир марки Лт – 803 в дозе 1/100 LD₅₀ снижал в сыворотке крови белых крыс (самцы) содержание инсулина, кальцитонина, тестостерона и повышали уровень тиреоидных гормонов – Т₃, Т₄ а также глюкагона, паратирин (табл. 5.6). Эти изменения отмечались на фоне увеличения концентрации глюкозы в крови ($p < 0,05$). Анализ гормонального обмена свидетельствует, что исследуемые ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ при субтоксическом воздействии на организм экспериментальных животных способны оказывать влияние на энергетический, углеводный, белковый, липидный и минеральный обмен с преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами.

Таблица 5.5

Влияние олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ на содержание гормонов периферических эндокринных желез в сыворотке крови крыс

| Показатели | Группы животных, М±m | | | |
|-----------------------------|----------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | Контроль | Л-501-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| Т ₃ , (мкЕД/мл) | 0,75±0,06 | 1,82±0,14* | 1,63±0,12* | 1,46±0,09* |
| Т ₄ , (мк ЕД/мл) | 58,75±4,63 | 86,5±7,3* | 74,8±6,8* | 69,7±3,50* |
| Кальцитонин (мкЕД/мл) | 47,30±4,10 | 27,4±2,1* | 32,6±2,5* | 33,8±1,9* |
| Глюкагон (нмоль/мл) | 170,5±8,30 | 260,4±10,3* | 254,7±8,2* | 238,6±7,6* |
| Инсулин (мкЕД/мл) | 47,60±4,27 | 21,30±1,5* | 24,6±2,2* | 22,7±1,8* |
| Паратирин (мкЕД/мл) | 12,50±0,98 | 34,50±3,2* | 31,80±1,7* | 27,5±1,4* |
| Глюкоза (пкг/мл) | 2,8±0,20 | 6,4±0,43* | 5,9±0,62* | 5,3±0,56* |

Примечание: *различия достоверные p<0,05

Таблица 5.6

Влияние олигоэфиров на состояние гормонального обмена периферических эндокринных желез у подопытных животных в подостром эксперименте (самцы)

| Показатели | Группа животных, М±m, LD ₅₀ | | |
|--------------------------|--|--------------|------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| T ₃ (мкЕД/мл) | 0,81±0,07 | 1,83±0,14* | 0,79±0,08 |
| T ₄ (мкЕД/мл) | 60,70±5,10 | 92,36±5,23* | 59,62±5,34 |
| Инсулин (мкЕД/мл) | 49,50±3,30 | 21,67±1,28* | 51,74±4,27 |
| Кальцитонин (мкЕД/мл) | 49,60±3,40 | 29,44±1,97* | 51,33±3,75 |
| Глюкагон (нмоль/мл) | 169,7±6,30 | 365,7±19,24* | 163,8±7,26 |
| Тестостерон (мкЕД/мл) | 0,95±0,08 | 0,48±0,05* | 0,83±0,07 |
| Паратирин (мкЕД/мл) | 14,2±1,17 | 39,84±2,86* | 15,65±1,43 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Оценка и динамическое сравнение показателей гормонального обмена обнаружили в наибольшей мере изменение в сыворотке крови содержания T₃, T₄ и глюкагона. Так, было установлено, что олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ повышал уровень T₃ – на 125,9 %, глюкагона – на 115,5 % и паратирин – на 180,5%, под влиянием Лт – 803. Такая динамика гормонов, на фоне их накопления в крови, указывает на неспецифическую стресс-реакцию, которая возникает под воздействием токсификации организма экспериментальных животных. Вместе с тем, снижение уровней инсулина, кальцитонина свидетельствует об угнетении анаболических процессов и восстановительных синтезов. Во всех случаях доза 1/1000 LD₅₀ не влияла на гормональный обмен опытных крыс. Повышение содержания паратирин в сыворотке крови и снижение – кальцитонина может указывать на глубокие изменения фосфорно-кальциевого обмена, который сопровождается структурно-метаболической дезорганизацией костной ткани. Изучение состояния половых гормонов у самцов в подостром опыте обнаружило, что исследуемые олигоэфир в 1/10 LD₅₀ значительно ингибировали продукцию тестостерона (табл. 5.7).

Таблица 5.7

Влияние олигоэфиров на содержание в сыворотке крови половых гормонов у самцов в подостром опыте под воздействием 1/10 LD₅₀

| Показатели | Группа животных, М±m | | | |
|-------------------------------------|----------------------|-------------|--------------------|--------------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| Тестостерон (мк ЕД/мл), самцы | 0,95±0,08 | 0,44±0,06* | 0,42±0,05* | 0,54±0,07* |

Примечание: * различия достоверные $p < 0,05$

Исследования показали, что содержание в крови тестостерона у самцов снижалось – на 53,7 %; 55,7 % и 43,15 %, соответственно в условиях влияния Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Изучение обмена половых гормонов позволяет судить, что олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ подавляет генеративную функцию, как у самцов, так и у самок.

Учитывая оценочные показатели исследования центральных гормонов в главе 5.1 нейрогипофизарный тиротроп – ТТГ в норме усиливает функцию щитовидной железы, а под действием олигоэфиров в 1/100 и 1/10 LD₅₀ этот показатель был снижен, значительно в дозе 1/10, чем в 1/100 LD₅₀, мы получили результаты повышены уровня периферических гормонов – Т₃ и Т₄ в сыворотке крови белых крыс. Поскольку тиреоидные гормоны участвуют в регуляции метаболических реакций, влияют на рост и дифференцировку тканей, особенно на развитие нервной системы, то повышение концентраций Т₃ и Т₄ свидетельствует о напряжении энергетического обмена, возможном усилении теплопродукции, повышении потребления кислорода и разобщении процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

Значительное увеличение уровней нейрогипофизарного кортикотропа АКТГ и глюкагона дает основание судить об усилении катаболических процессов на фоне повышения секреции надпочечниками глюкокортикоидов, что может быть сопряжено с нарушением углеводного и многих других видов

обмена веществ. Эти данные подтверждались увеличением уровней глюкозы в крови, как возможным результатом активации глюконеогенеза, на фоне снижения содержания инсулина под влиянием 1/100 LD₅₀. В этой дозе олигоэфиры значительно ингибировали синтез нейрогипофизарного соматотропа – СТГ и объединяющего эндокринные и неэндокринные функции – тестостерона, что указывает на подавление анаболических процессов и генеративной функции у экспериментальных животных. Эти данные свидетельствуют о дисфункции щитовидной, паращитовидных и смешанных органов эндокринной системы (половых желез, яичников, семенников и поджелудочной желез), что сопровождается активацией катаболических процессов и ингибированием восстановительных синтезов. Такое состояние оценочных показателей указывает на существенное напряжение адаптационных механизмов, направленное на обеспечение гомеостаза. Как видно, изменения гормонального обмена сопровождаются увеличением уровня глюкозы в сыворотке крови, что может быть связано с активацией симпато-адреналовой системы, усилением глюконеогенеза, а возможно, и с ингибированием синтеза инсулина β-клетками поджелудочной железы. Действие олигоэфира на динамику обмена производных холестерина, стероидных гормонов, у самок выражалось в снижении в сыворотке крови содержания эстрадиола (табл.5.8).

Таблица 5.8

Влияние олигоэфиров в 1/100 LD₅₀ на гормональный обмен у подопытных животных в подостром эксперименте (самки)

| Показатели | Группа животных, M±m, LD ₅₀ | | |
|-----------------------|--|-------------|-----------|
| | Контроль | ЛГ – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| Эстрадиол (мкЕд/мл) | 7,70±0,63 | 3,36±0,32* | 7,18±0,52 |
| Прогестерон (нмоль/м) | 24,65±1,74 | 24,17±1,78* | 22,7±1,65 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Изучение обмена половых гормонов позволяет судить, что олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ подавляет генеративную функцию самок. Изучение состояния половых гормонов у самок в подостром опыте обнаружило, что исследуемые олигоэфир в 1/10 LD₅₀ значительно ингибировали продукцию эстрадиола на фоне повышения в этой дозе прогестерона (табл. 5.9).

Таблица 5.9

Влияние олигоэфиров на содержание в сыворотке крови половых гормонов (самки) в подостром опыте под воздействием 1/10 LD₅₀

| Показатели | Группа животных, М±m | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------------|--------------------|--------------------|
| | Контроль | Л-501-2-100 | Л-1601-2-50 «Б» | Л-1601-2-50 «Р» |
| Эстрадиол (мк ЕД/мл), самки | 7,60±0,58 | 3,74±0,63* | 3,58±0,47* | 3,83±0,52* |
| Прогестерон (нмоль/мл), самки | 20,43±1,65 | 25,63±1,87* | 27,35±2,20* | 26,45±1,89* |

Примечание: * различия достоверные p<0,05

Исследования показали, что содержание эстрадиола в крови снижалось – на 51,8 %; 52,9 % и 49,6 %, при этом уровень прогестерона увеличивался – на 25,6 %; 33,88 % и 29,47 %, соответственно в условиях воздействия Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Исследуя гормоны периферических эндокринных желез, которые в норме регулируют интенсивность основного обмена и концентрацию кальция в крови, при действии олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀, мы получили снижение в сыворотке крови белых крыс (самцы) содержание инсулина, кальцитонина, тестостерона и повышение уровня тиреоидных гормонов – Т₃, Т₄, а также глюкагона, паратирина, на фоне увеличения концентрации глюкозы в крови. У самок содержание эстрадиола в крови снижалось, при этом уровень прогестерона увеличивался. Анализ гормонального обмена свидетельствует, что исследуемые ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ при субтоксическом воздействии на организм экспериментальных животных способны оказывать влияние на энергетический, углеводный, белковый, липидный и минеральный

обмен с преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами.

5.3. Влияние олигоэфиров на динамику тканевых гормонов в субтоксических дозах

Одним из перспективных направлений при обосновании патофизиологических механизмов развития болезней и патологических процессов является изучение эндогенных биологически активных веществ, к которым принадлежат гуморальные регуляторы липидной природы – ПГ, являющиеся метаболитами арахидоновой кислоты. В связи с исключительной ролью ПГ и лейкотриенов в механизмах развития многих патологических явлений актуально изучение их продукции в условиях длительного воздействия разных доз олигоэфиров новой группы. Эта группа биологически активных продуктов метаболизма арахидоновой кислоты обладает большим числом эффектов как на клеточном, так и на органном уровнях, участвуя в обеспечении защитно-приспособительных реакций и гомеостатической функции организма. Экспериментальными исследованиями было установлено влияние многих ксенобиотиков на синтез ПГ и лейкотриенов в условиях длительного воздействия олигоэфиров.

Результаты наших исследований обнаружили значительные нарушения обмена гистогормонов у групп животных, которые подвергались пероральному воздействию олигоэфиром в дозе $1/100 LD_{50}$. Доза $1/1000 LD_{50}$ не влияла на динамику обмена тканевых гормонов.

Ксенобиотики в дозе $1/100 LD_{50}$ повышали в сыворотке крови содержание ПГЕ, ПГЕ₁, ПГЕ₂, простаглицина (6-кето-ПГФ_{1 α}) и лейкотриена В₄ на фоне снижения уровня ПГФ_{2 α} и лейкотриена С₄ (табл. 5.10).

Установленные изменения динамики содержания ПГ и лейкотриенов свидетельствуют о возможной активации фосфолипазы А и монооксигеназы.

Таблица 5.10

Влияние олигоэфиров в подостром опыте на обмен ПГ и лейкотриенов

| Показатели | Группа наблюдения, M±m, LD ₅₀ | | |
|--|--|--------------|-------------|
| | Контроль | Лт – 803 | |
| | | 1/100 | 1/1000 |
| ПГЕ (нмоль/мл) | 253,6±8,73 | 742,3±18,6* | 242,4±10,7 |
| ПГЕ ₁ (пкг/мл) | 3186,2±48,5 | 4828,7±49,4* | 3195,4±49,6 |
| ПГЕ ₂ (пкг/м) | 1693,4±37,2 | 2876,2±48,5* | 1705,3±46,8 |
| ПГF _{2α} (пкг/мл) | 20,75±1,24 | 13,68±1,27* | 22,34±1,97 |
| 6-кето-ПГF _{1α} –простациклин (пкг/мл) | 5,23±0,47 | 16,87±1,46* | 5,42±0,56 |
| Лейкотриен В ₄ (пкг/мл) | 21,42±1,56 | 39,42±2,16* | 22,74±1,65 |
| Лейкотриен С ₄ (пкг/мл) | 587,2±23,4 | 315,8±10,6* | 596,8±27,3 |

Примечание: * различия достоверные, p<0,05

Такого рода метаболические эффекты подтверждают мембранотропное действие изучаемых олигоэфиров и свидетельствуют о многообразии периферических проявлений, которые сопряжены с токсическим влиянием ксенобиотиков. Известно, что основными биологическими эффектами простагландинов группы E являются расширение гладких мышц сосудов, бронхов, сокращение мышц матки, ингибирование желудочной секреции, гипотензивное действие, активация натрийуреза, воспалительные явления в тканях, подавление агрегации тромбоцитов, которые могут усиливаться и развиваться под влиянием олигоэфиров. Для ПГ группы F характерными являются такие их свойства, как сужение сосудов, бронхов, сокращение матки, модуляция АЦ системы, антилиполиз. Повышение уровней ПГЕ₁ и ПГЕ₂, весьма часто подтверждает развитие онкологического процесса, а снижение содержания лейкотриенов В₄ свидетельствует о нарушении механизмов формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета .

Исследование ПГ группы Е в сыворотке крови опытных животных обнаружило повышение их содержания под воздействием 1/10 и 1/100 LD₅₀ всех исследуемых веществ (табл. 5.11).

Таблица 5.11

Влияние олигоэфиров на содержание ПГ группы Е в сыворотке крови крыс

| Вещества | Доза LD ₅₀ | Показатели, М±m | | |
|-----------------|-------------------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| | | ПГЕ (нмоль /мл) | ПГЕ ₁ (пкг/мл) | ПГЕ ₂ (пкг/мл) |
| Л-501-2-100 | 1/10 LD ₅₀ | 895,6±34,7* | 4896,7±70,4* | 3343,6±40,2* |
| | 1/100 LD ₅₀ | 950,3±23,6* | 4220,5±62,3* | 2830,7±48,4* |
| | 1/1000 LD ₅₀ | 265,2±21,8 | 3187,4±53,6 | 1703,4±43,5 |
| Л-1601-2-50 «Б» | 1/10 LD ₅₀ | 873,2±28,4* | 4753,4±61,5* | 3245,7±50,6* |
| | 1/100 LD ₅₀ | 730,8±27,4* | 4156,7±50,8* | 2726,5±39,7* |
| | 1/1000 LD ₅₀ | 254,6±25,5 | 3205,2±43,4 | 1687,4±52,6 |
| Л-1601-2-50 «Р» | 1/10 LD ₅₀ | 850,6±28,3* | 4589,8±46,5* | 3128,4±42,9* |
| | 1/100 LD ₅₀ | 710,5±18,6* | 4103,5±48,6* | 2698,4±53,5* |
| | 1/1000 LD ₅₀ | 272,3±26,8 | 3194,8±56,7 | 1710,7±35,4 |
| Контроль | | 233,8±24,7 | 3156,5±64,3 | 1675,4±53,8 |

Примечание.*- различия по сравнению с контролем достоверные, p<0,05

В группах, которые подвергались действию 1/1000 LD₅₀, уровень этих гистогормонов практически не отличался от показателей контрольных животных. Ксенобиотики в дозе 1/10 LD₅₀ более значительно, чем в дозе 1/100 LD₅₀ повышали концентрацию ПГ: ПГЕ – на 283,1 %; 273,5 % и 263,8 %, ПГЕ₁ – на 55,1 %; 50,6 % и 45,4 %, ПГЕ₂ – на 99,6 %; 93,7 % и 86,7 %, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ менее значительно, чем в дозе 1/10 LD₅₀ повышали концентрацию ПГ: ПГЕ – на 220,9 %; 212,6 % и 203,9 %, ПГЕ₁ – на 33,7 %; 31,7 % и 30,1 %, ПГЕ₂ – на 68,9 %; 62,7 % и 61,06 %, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р». Результаты

исследования выявили, что исследуемые олигоэфир в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ стимулируют продукцию ПГЕ и, следовательно, ПГ Е-зависимые механизмы, которые могут быть направлены на обеспечение гомеостатической функции организма в условиях подострого токсического воздействия ксенобиотиков.

Исследование содержания лейкотриенов в сыворотке крови обнаружило увеличение уровня лейкотриена В₄ и снижение концентрации лейкотриена С₄ под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ всех исследуемых веществ (табл. 5.12).

Таблица 5.12

Влияние олигоэфиров на содержание лейкотриенов в сыворотке крови крыс

| Вещества | Группа животных, показатели, Доза LD ₅₀ | | | |
|---------------------|--|-----------|------------------------------------|-------------|
| | Лейкотриен В ₄ (пкг/мл) | | Лейкотриен С ₄ (пкг/мл) | |
| | 1/10 | 1/100 | 1/10 | 1/100 |
| Л-501-2-100 | 46,3±2,8* | 34,7±2,5* | 260,3±37,4* | 415,2±25,8* |
| Л-1601-2-50- «Б» | 47,5±3,1* | 32,5±1,9* | 282,6±42,5* | 405,6±31,7* |
| Л-1601-2-50 «Р» | 42,8±2,3* | 30,8±1,6* | 253,7±34,6* | 448,3±36,5* |
| Контроль | 21,65±1,73 | | 58,6±25,3 | |

Примечание: *- различия по сравнению с контролем достоверные, $p < 0,05$

Содержание лейкотриена В₄ повышалось под воздействием 1/10 LD₅₀ – на 113,8 %; 119,4 % и 97,7 %, а при дозе 1/100 LD₅₀ – на 60,3 %; 50,1 % и 42,3%, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Уровень лейкотриена С₄ в сыворотке крови снижался под влиянием 1/100 LD₅₀ – на 28,48 %; 30,14 % и 22,7 8%, а при дозе 1/10 LD₅₀ наблюдалось более выраженное снижение этого показателя – на 65,15 %; 51,3 % и 56, 3%, соответственно при введении Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Анализ динамики лейкотриенов свидетельствует, что олигоэфирные способны нарушать механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета по сравнению с контролем .

Как указывалось, ПГ играют роль местных регуляторов обменных процессов, однако могут влиять и на соседние органы и ткани, а в некоторых случаях оказывать воздействие на организм и ткани как классические гормоны, обладающие дистанционным действием. Существенное повышение продукции ПГ способно изменять внутриклеточный метаболизм, влиять на активность многих ферментов, нарушать баланс биологически активных соединений – циклических нуклеотидов, кофакторов, коферментов. Они непосредственно могут влиять на активность мембрано-структурированных ферментов – аденилат- и гуанилатциклазы, Na^+ , K^+ -зависимой - АТФ-азы. НАД·Н – зависимых дегидрогеназ, ФДЭ, Ca^{2+} , Mg^{2+} - зависимой АТФ-азы и др. Влияние ПГ на метаболические процессы через внутриклеточный медиатор цАМФ захватывает большое количество ферментов, активность которых регулируется и зависит от этого внутриклеточного посредника [324]. Как известно, основными биологическими эффектами ПГ группы Е являются расширение гладких мышц сосудов, бронхов, сокращение матки, ингибирование желудочной секреции, гипотензивное действие, активация натрийуреза, воспалительные явления в тканях, подавление агрегации тромбоцитов, которые могут возникать в условиях подострого воздействия олигоэфиров на организм. Повышение уровней ПГЕ₁ и ПГЕ₂ весьма часто подтверждает развитие онкологического процесса. Изучение влияния олигоэфиров на содержание ПГ группы F в сыворотке крови опытных животных выявило снижение уровня ПГF_{2α} под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ всех исследуемых веществ. Так, при дозе 1/10 LD₅₀ содержание ПГF_{2α} снижалось – на 49,5%; 39,32% и 43,20%, а при дозе 1/100 LD₅₀ – на 23,8%; 28,15% и 20,4%, соответственно при действии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р» (табл. 5.13).

Таблица 5.13

Влияние олигоэфиров в 1/10 и 1/100 LD₅₀ на содержание ПГ группы F в сыворотке крови крыс

| Вещества | Группа животных, показатели, LD ₅₀ | | | |
|-------------------|---|------------|--|------------|
| | ПГF _{2α} (пкг/мл) | | 6-кето-ПГF _{1α} (простаглицлины)(пкг/мл) | |
| | 1/10 | 1/100 | 1/10 | 1/100 |
| Л - 501-2-100 | 10,4±0,83* | 15,7±1,4* | 15,3±0,96* | 12,5±1,26* |
| Л - 1601-2-50-«Б» | 12,5±1,3* | 14,8±1,2* | 16,2±1,35* | 11,3±1,15* |
| Л - 1601-2-50 «Р» | 11,7±0,98* | 16,4±1,15* | 14,7±1,43* | 9,8±0,10* |
| Контроль | 20,6±1,7 | | 6,3±0,7 | |

Примечание: *- различия по сравнению с контролем достоверные, p<0,05

Вместе с тем, олигоэфиры в этих дозах повышали уровень 6 кето- ПГF_{1α} в сыворотке крови. При дозе 1/10 LD₅₀ отмечалось увеличение концентрации 6 кето- ПГF_{1α} на 142,8 %; 157,1% и 133,3%, при дозе 1/100 LD₅₀ – на 98,4 %; 79,4% и 55,6%, соответственно при воздействии Л - 501-2-100, Л - 1601-2-50 «Б» и Л - 1601-2-50 «Р».

Для действия ПГ группы F характерными являются такие проявления, как сужение сосудов, бронхов, сокращение матки, желудочно-кишечного тракта, модуляция АЦ системы, антилиполиз и др.

Таким образом, установленные нарушения содержания ПГ и лейкотриенов свидетельствуют, что исследуемые олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ изменяют местную регуляцию обменных процессов, нарушают механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета. Эти изменения могут привести к развитию мембранной патологии и многообразию периферических проявлений, в основе которых лежит активация СРП и ПОЛ.

Подытоживая три раздела главы 5, многократные изменения всех оценочных показателей гомеостаза, можно сформулировать степень поражения

регуляторных систем организма белых крыс в эксперименте. Результаты исследований гормонального обмена, под влиянием исследуемых олигоэфиров в разных дозах, показали существенное снижение гуморальной регуляции организма животных под воздействием олигоэфиров разных дозах. Анализ изменений гормонального обмена свидетельствует, что ксенобиотики в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ могут оказывать влияние на энергетический, углеводный, белковый, липидный и минеральный обмен. Выраженность изменений имеет тесную связь с дозой воздействия ксенобиотиков. При дозе 1/10 LD₅₀ четко преобладают катаболические процессы, над анаболическими синтезами. Увеличение уровней АКТГ, Т₃, Т₄, паратиринина и снижение содержания СТГ, ТТГ, кальцитонина свидетельствуют о десинхронизации ритмов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и дисфункции щитовидной и паращитовидных желез, которые протекают на фоне напряжения энергетического обмена, адаптационных механизмов и изменений фосфорно-кальциевого обмена. Значительное увеличение уровней АКТГ и глюкагона позволяет судить об усилении секреции адреналина и глюкокортикоидов и, по-видимому, отражает защитно-приспособительную реакцию организма на стрессорное влияние олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀.

При воздействии исследуемых олигоэфиров на организм происходит повышение уровней в крови АКТГ, Т₃, Т₄, паратиринина и глюкагона, а также глюкозы, и снижение содержания СТГ, ТТГ, кальцитонина и инсулина. Наблюдается дозозависимость влияния олигоэфиров на гормональный обмен: в дозе 1/10 LD₅₀ они вызывают больший эффект, чем при 1/100 LD₅₀, а доза 1/1000 LD₅₀ является неэффективной.

Учитывая оценочные показатели исследования центральных гормонов под действием олигоэфиров в 1/100 и 1/10 LD₅₀ снижение ТТГ было значительнее в дозе 1/10, чем в 1/100 LD₅₀, мы получили результаты повышения уровня периферических гормонов – Т₃ и Т₄ в сыворотке крови белых крыс. Повышение содержания паратиринина в сыворотке крови и снижение

– кальцитонина свидетельствует о глубоких изменениях фосфорно-кальциевого обмена, который сопровождается структурно-метаболической дезорганизацией костной ткани. Значительное увеличение уровней нейрогипофизарного кортикотропа АКТГ и глюкагона дает основание судить об усилении катаболических процессов на фоне повышения секреции надпочечниками глюкокортикоидов, что может быть сопряжено с нарушением углеводного и многих других видов обмена веществ на фоне увеличения уровня глюкозы в крови и снижения содержания инсулина под влиянием $1/100 LD_{50}$. В этой дозе олигоэфиры значительно ингибировали синтез нейрогипофизарного соматотропа – СТГ и объединяющего эндокринные и неэндокринные функции – тестостерона у самцов и снижения эстрадиола у самок, что указывает на подавление анаболических процессов и генеративной функции у экспериментальных животных. Исследуемые олигоэфиры в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ изменяют местную регуляцию обменных процессов повышая динамику лейкотриенов B_4 и резко повышая лейкотриены C_4 , нарушают механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета. Эти изменения свидетельствуют о развитии мембранной патологии и многообразию патологических проявлений.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ вызывают глубокие нарушения со стороны эндокринной системы на всех уровнях ее структурно-функциональной организации (гипоталамус – гипофиз – щитовидная железа, надпочечники, поджелудочная железа, яичники, семенники), которые проявляются дисфункцией энергетического, белкового, углеводного, минерального, липидного видов обмена веществ с преобладанием катаболических процессов над анаболическими синтезами. Установленные нарушения эндокринной системы и динамика гистогормонов указывают, что олигоэфиры проявляют политропное действие на организм, которое может быть сопряжено с развитием мембранной патологии.

ГЛАВА 6

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ ОЛИГОЭФИРОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ КООПЕРАТИВНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

6.1. Влияние олигоэфиров на функциональную активность и сопряженность взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета

В предыдущей главе мы получили повышение оценочных показателей лейкотриенов в значительной степени C_4 и повышение лейкотриена B_4 , нарушающие механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета. В связи с полученными результатами, мы поставили одной из задач наших исследований изучить влияние субтоксических доз олигоэфиров на показатели кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета.

Профилактическая направленность здравоохранения диктует необходимость ранней диагностики нарушения иммунологической реактивности и своевременной коррекции иммунологической недостаточности в условиях кризисного состояния биосферы. Организм человека находится под непрерывным влиянием факторов окружающей среды. Длительное воздействие физических, химических, биологических и социальных факторов приводит к сенсibilизации организма человека [214, 215]. Дальнейшее взаимодействие с этими факторами, снижая показатели иммунологической резистентности, приводит к возможной дезадаптации организма. Важная роль в повышении резистентности к неблагоприятным социально-средовым факторам принадлежит иммунной системе, состояние которой во многом определяет течение и исход многих болезней и патологических процессов. Она

обеспечивает контроль, мобилизует защитные силы и способность организма противостоять воздействию факторов окружающей среды.

Все это обосновывает актуальность изучения молекулярных механизмов формирования структурно-метаболических нарушений иммунного гомеостаза при действии на живой организм химических веществ с техническими названиями Лапролат Лт-803 и олигоэфир Л-501-2-100 в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 LD₅₀ и определения их потенциальной опасности для человека и окружающей среды. Для реализации настоящей задачи мы провели экспериментальное и теоретическое обоснование молекулярных механизмов формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета при действии на организм Лапролата Лт-803 и олигоэфира Л-501-2-100, оказывающих антропогенное воздействие.

Для решения поставленной задачи было изучено состояние клеточного и гуморального иммунитета экспериментальных животных под воздействием олигоэфиров, таких как Лапролат Лт-803 и олигоэфир Л-501-2-100, в условиях подострого опыта на мышах линии (СВАхС57ВL)F₁, ВАLВ/С и белых крысах популяции Вистар (N=140) в подостром эксперименте; выявлены показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета, лежащих в основе нарушения иммунологической реактивности теплокровных животных – мышей линии (СВАхС57ВL)F₁, ВАLВ/С и белых крыс популяции Вистар.

Изучение влияния Лапролата Лт-803 и олигоэфира Л-501-2-100 на клеточный и гуморальный иммунитет выявило, что ксенобиотики в дозе 1/10 LD₅₀ в условиях подострого воздействия эксперимента приводили к снижению в сыворотке крови содержания Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов и исследуемых цитокинов. В дозе 1/100 LD₅₀ ксенобиотики в меньшей мере оказывали воздействие на показатели клеточного и гуморального иммунитета (табл. 6.1). Вещества в этой дозе не влияли на содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов IgD и IgE, снижалась концентрация ИL-6 и ИL-8 в сравнении с контрольной группой наблюдения.

Таблица 6.1

Влияние Лапролата Лт-803 и олигоэфира Л-501-2-100 на состояние клеточного и гуморального иммунитета (M±m)

пкг/мл

| Показатели пкг/мл | Вещества, доза LD ₅₀ | | | | | | |
|----------------------|---------------------------------|---------------------|------------|------------------------------------|---------------------|------------|--------------------|
| | Лапролат Лт – 803 (N=60) | | | Олигоэфир Л – 501 – 2 – 100 (N=60) | | | Контроль (N=20) |
| | 1/10 | 1/100 | 1/1000 | 1/10 | 1/100 | 1/1000 | |
| Т-лимфоциты (СД3) | 587,4±19,5* | 722,6±18,8* | 863,1±16,2 | 563,4±17,8* | 692,4±28,5* | 887,5±19,2 | 875,6±17,9 |
| Т-хелперы (СД4) | 192,3±9,6* | 253,7±9,6* | 372,4±12,5 | 218,3±9,7* | 315,7±20,3* | 398,4±11,6 | 382,6±10,7 |
| Т-супрессоры (СД8) | 203,6±8,3* | 229,4±7,9* | 255,6±9,2 | 212,8±8,7* | 231,4±11,8* | 278,2±12,3 | 267,5±8,6 |
| В-лимфоциты (СД19) | 205,6±6,3* 33,12% | 240,4±8,3* 21,79 | 287,4±7,8 | 219,3±9,4* 28,6 | 260,3±8,5* 15,32 | 302,4±8,3 | 307,4±10,7 |
| ФНО-α | 82,4±4,8* | 102,3±4,6* | 124,8±6,5 | 85,3±6,6* | 105,4±4,3* | 128,7±6,2 | 125,6±5,7 |
| IL-1β | 22,6±1,4* | 35,7±2,8* | 53,4±3,7 | 26,8±2,6* | 39,8±3,7* | 57,3±3,2 | 55,6±4,1 |
| IL-2 | 35,6±2,6* | 44,3±3,5* | 62,6±4,8 | 39,7±3,8* | 46,2±3,4* | 65,7±4,2 | 62,9±4,7 |
| IL-4 | 21,4±1,5* | 32,8±2,7* | 45,7±3,9 | 26,5±2,4* | 31,5±2,6* | 50,4±3,7 | 48,2±3,4 |
| IL-6 | 20,4±1,7* | 31,8±2,3* | 35,4±2,5 | 22,6±1,8* | 32,7±2,7 | 40,4±3,2 | 37,9±2,3 |
| IL-8 | 23,5±1,7* | 32,6±1,8* | 45,3±2,2 | 29,6±1,7* | 45,7±3,2 | 41,4±2,5 | 53,2±3,6 |
| IgA | 31,4±2,2* | 38,7±2,6* | 52,3±3,4 | 29,2±1,5* | 41,4±2,5* | 57,6±3,2 | 53,2±3,6 |
| IgM | 25,2±1,8* | 29,4±2,3* | 47,5±2,6 | 23,8±1,8* | 31,9±2,6* | 51,4±3,5 | 50,6±4,3 |
| IgG | 46,5±3,3* | 51,7±3,5* | 76,2±4,3 | 44,8±3,1* | 55,6±4,8* | 77,3±5,6 | 78,4±6,2 |
| IgE | 9,4±0,88* | 13,2±1,4* | 16,1±1,7 | 9,8±1,12* | 15,9±1,5 | 17,4±1,5 | 16,8±1,4 |
| IgD | 8,2±0,9* | 12,3±1,15 | 13,4±1,2 | 9,3±0,7* | 12,5±1,2 | 14,6±1,3 | 13,7±1,5 |

Примечание : * - различия с контролем статистически достоверны *P<0,05

Исследования выявили ингибирование клеточного и гуморального звена иммунной системы при дозах химических веществ 1/10 и 1/100 LD₅₀. Так, обнаружено, что ксенобиотики снижают общее количество Т-лимфоцитов и их субпопуляции – Т-хелперы и Т-супрессоры – в сыворотке крови. Из этого следует ожидать снижение продукции Т-хелперами большого количества регуляторных медиаторов иммунной системы – ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, которые являются активаторами В-лимфоцитов, тучных и гемопоэтических клеток, тимоцитов, нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, фибробластов, спленоцитов. Полагаем, что наблюдаемое в эксперименте под воздействием Лапролата Лт-803 и олигоэфира Л-501-2-100 снижение содержания ИЛ-1 β может привести к замедлению процессов дифференцировки и регенерации тканей, продукции ПГ, ФНО- α макрофагами, моноцитами, гистиоцитами, синтеза иммуноглобулинов В-лимфоцитами. Данное ингибирование клеточного звена иммунной системы было сопряжено с угнетением содержания в сыворотке крови ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, которые играют важную роль в обеспечении пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, переключении синтеза антител с одного класса иммуноглобулинов на другой.

Угнетение цитокинпродуцирующей способности мононуклеаров подтверждалось уменьшением концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, что свидетельствует об ингибировании клеточного звена иммунитета и процессов связанных с межклеточными медиаторными взаимодействиями, которые направлены на обеспечение гомеостатической функции иммунной системы. Рассматриваемое снижение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови может сопровождаться угнетением процесса антигенной стимуляции Т-лимфоцитов, макрофагов, тучных клеток, базофилов, В-лимфоцитов, стромальных клеток, гемопоэтических предшественников и др. Известно, что ИЛ-4 индуцирует дифференцировку CD4⁺-Т-лимфоцитов в Т-хелперы второго типа (ТН2) и подавляет развитие Т-хелперов первого типа (ТН1), стимулирует

пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, способствует продукции IgE В-лимфоцитами и различные медиаторные эффекты на другие типы клеток, включая макрофаги и гранулоциты .

Исследованиями показано, что под влиянием 1/10 LD₅₀ более интенсивно ингибируется как гуморальное, так и клеточное звено иммунной системы, чем по сравнению с 1/100 LD₅₀. Следует отметить, что исследуемые ксенобиотики подавляли в этих дозах процессы пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов. Эти суждения подтверждались снижением в 1/10 и 1/100 LD₅₀ содержания в крови CD19⁺ - лимфоцитов – на 33,12 %, 21,79 % и 28,6 %, 15,32%, соответственно под влиянием Лт-803 и Л-501-2-100. В 1/1000 LD₅₀ олигоэфиры не влияли процессы пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что, кроме макрофагов, базофилов, Т- и В-лимфоцитов, тучных клеток, антигенному ингибированию подвергаются моноциты, фибробласты клетки эндотелия, гепатоциты, нейрциты, астроциты, которые являются продуцентами IL-6. Снижение в 1/10 и 1/100 LD₅₀ содержания IL-6 – на 46,17%, 16,09% и 41,26% и 13,72% соответственно под влиянием Лт-803 и Л-501-2-100 в сыворотке крови подопытных животных может быть сопряжено с нарушением дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников. В 1/1000 LD₅₀ олигоэфиры на содержание IL-6 в сывортке крови.

В связи с тем, что данный цитокин является индуктором этих процессов, он стимулирует созревание тимоцитов, селезеночных клеток, мегакариоцитов и продукцию тромбоцитов, способствует росту и созреванию Т- и В-лимфоцитов, превращению Т-лимфоцитов в цитотоксические клетки, усиливает продукцию острофазных белков гепатоцитами и является эндогенным пирогеном.

В ходе исследований выявлено также ингибирование продукции IL-8 под воздействием изучаемых ксенобиотиков в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ – на 55,82%, 38,72% и 44,36%, 14,09% соответственно под влиянием Лт-803 и Л-501-2-100.

Следует отметить, что продуцируемые мононуклеарными фагоцитами (моноцитами периферической крови, тканевыми макрофагами соединительной ткани печени, альвеолярными макрофагами легких, свободными и фиксированными макрофагами селезенки и лимфатических узлов, макрофагами серозных полостей, клетками макроглии ЦНС, остеокластами костной ткани) IL-6, IL-8 способны оказывать активирующее действие на Т-хелперы (CD4+), Т-цитотоксические клетки (CD8+), В-лимфоциты. Наблюдаемое ингибирование продукции данных цитокинов, возможно, является одним из важных механизмов угнетения клеточного и гуморального иммунитета. Выполняя эффекторную функцию иммунных реакций, активированные цитокинами (IL-6, IL-8, IL-4, IL-2) нейтрофилы и макрофаги обладают высокой фагоцитарной способностью и бактерицидностью, участвуют в индукции гуморального и клеточного звеньев иммунитета, стимулируют продукцию ФНО- α и экзопродукцию цитотоксических форм кислорода, что приводит к уничтожению и разрушению чужеродных и опухолевых клеток в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности.

Межклеточные медиаторные взаимодействия позволяют судить, что у подопытных групп животных под воздействием Лапролата Лт-803 и олигоэфира Л-501-2-100 наблюдается снижение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8+), из которых в ходе развития клеточной иммунной реакции дифференцируются НК-клетки (большие гранулярные лимфоциты) и Т-киллеры, способные оказывать прямое цитотоксическое действие на чужеродные клетки-мишени, свои измененные клетки, в том числе и опухолевые, а также клетки, инфицированные вирусами. На больших гранулярных лимфоцитах экспрессированы рецепторы к IL-2 через которые возможна их стимуляция. Снижение уровня IL-6, IL-8, ФНО- α , IL-2 в сыворотке крови экспериментальных животных может быть одним из важных патогенетических звеньев в нарушении механизмов ингибирования функциональной активности НК-клеток, Т-киллеров, которые оказывают

цитотоксическое действие на клетки-мишени, как путем контактного лизиса, так и через факторы, секретируемые в виде гранул, либо субстраты, находящиеся в этих клетках в свободном состоянии. Данные цитотоксические клетки являются активными продуцентами особого белка-перфорина, который полимеризуется на клетках мишенях, формируя при этом трансмембранную пору, через которую происходит гипергидратация клетки и разрушение ДНК клеток-мишеней и самой клетки.

Исследования показывают, что Лапролат Лт-803 и олигоэфир Л-501-2-100 в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ могут подавлять цитотоксическую активность иммунокомпетентных клеток. Существенное ингибирование продукции медиаторов иммунной системы, в том числе ИЛ-6, представляющего собой митоген для Т-лимфоцитов, и снижение синтеза ИЛ-8, выполняющего функцию индуктора острой воспалительной реакции, стимулятора адгезивных свойств нейтрофилов и хемотаксиса Т-лимфоцитов, свидетельствует также о нарушении кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета на фоне формирования иммунологической недостаточности. Принимая во внимание, что ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 обеспечивают клеточную составляющую адаптивного иммунитета, нами проанализирована функциональная активность В-лимфоцитов и содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови. Результаты исследований обнаружили существенное снижение содержания В-лимфоцитов и иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, что может быть связано с ингибированием функциональной активности В-лимфоцитов, плазмоцитов, которые являются основными продуцентами антител [57].

Определение антителообразующей функции иммунокомпетентных клеток – В-лимфоцитов – обнаружило значительное снижение концентраций иммуноглобулинов – IgG, IgM, IgA и в меньшей степени IgD и IgE, которые под воздействием ксенобиотиков в 1/100 LD₅₀ не отличались от уровня контроля.

Таким образом, результаты исследований позволили сделать следующие выводы об оценочных показателях кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета. При длительном поступлении в организм олигоэфиры проявляют иммунодепрессивные свойства. В основе механизма подавления гуморального и клеточного иммунитета лежат нарушения биоэнергетики, окислительного фосфорилирования, синтеза РНК, ДНК и белка. Лапролат Лт-803 и олигоэфир Л-501-2-100 в условиях подострого опыта при пероральном поступлении внутрижелудочно в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ ингибируют функциональную активность клеточного звена иммунной системы, снижая содержание в сыворотке крови экспериментальных животных общую популяцию Т-лимфоцитов (CD3⁺), субпопуляции Т-лимфоцитов – Т-хелперов (CD4⁺), Т-супрессоров (CD8⁺) и В-лимфоцитов (CD19⁺). Лапролат Лт-803 и олигоэфир Л-501-2-100 на фоне ингибирования клеточного звена иммунной системы в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀, способны подавлять синтез регуляторных цитокинов и медиаторов индукции острофазных реакций, что сопряжено с угнетением антителообразующей функции иммунокомпетентных клеток и нарушением кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета. Во всех случаях ксенобиотики в дозе 1/1000 LD₅₀ не влияли на иммунологическую реактивность экспериментальных животных.

Анализ результатов позволил обосновать маркерные показатели оценки иммунологической реактивности животных, которым вводили субтоксические дозы олигоэфиров. К ним относятся существенное снижение содержания в крови CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-, CD16⁺-, CD19⁺-лимфоцитов, ФНО- α , IgA, IgM, IgG, IgD, IgE.

Диагностически маркерными показателями структурно-метаболических нарушений организма являются показатели состояния иммунологической реактивности. В ходе эксперимента на белых крысах установлено выраженное угнетение окислительно-восстановительных процессов. Это снижает уровень биоэнергетического гомеостаза, что в свою очередь лежит в основе

подавления клеточного и гуморального звеньев иммунитета. В дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ олигоэфиры ингибируют функциональную активность клеточного звена иммунной системы, подавляют синтез регуляторных цитокинов (снижая в крови общую популяцию Т-лимфоцитов (CD3+), субпопуляции Т-лимфоцитов – Т-хелперов (CD4+), Т-супрессоров (CD8+) – и В-лимфоцитов (CD19+)) и медиаторов индукции острофазных реакций, что сопряжено с угнетением антителообразующей функции иммунокомпетентных клеток и нарушением кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета.

ГЛАВА 7

ОБОСНОВАНИЕ КРИТЕРИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОЦЕНКИ ИНТЕГРАТИВНЫХ СИСТЕМ ОЦЕНКИ И КОНТРОЛЯ ГОМЕОСТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО СУБТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОЛИГОЭФИРОВ

Научное обоснование тонких, молекулярных, процессов в биосистемах и оценка структурно-метаболических механизмов развития патологических состояний и эффектов биологического действия новой группы олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена выявила тесную связь действия токсического вещества (дозы и режима), его физико-химических свойств, сопряженности с определенными органами, физиологическими системами, тканями, субклеточными структурами, рецепторами, ферментами и аналитико-синтетической деятельностью высших отделов ЦНС. Исследования свидетельствуют, что состояние высшей интегративной функции ЦНС тесно связано с нейроэндокринной регуляцией метаболических процессов и в значительной степени характеризуется утратой управленческих способностей гомеостатической функции организма. Учитывая особую роль ЦНС в обеспечении адаптивных реакций, актуальным является вопрос о патогенетическом обосновании принципов ранней диагностики выявленных нарушений и внедрении в систему лечебных мероприятий коррекции структурно-метаболических нарушений в организме при субтоксическом действии олигоэфиров. Поэтому проведение мониторинга выявленных нарушений на разных уровнях организации организма и определение степени тяжести интоксикации олигоэфирами может быть очень важным инструментом для предотвращения развития необратимых патологических состояний. Однако тяжесть интоксикации в значительной мере определяется реактивностью организма [126]. В свою очередь, реактивность организма определяется

состоянием регуляторных систем – нервной, эндокринной, иммунной, физиологически-активных веществ-медиаторов, а при интоксикации большое значение имеют также функциональные возможности механизмов резистентности (систем эндогенной химической детоксикации). Изучение системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма в сыворотке крови крыс после подострого воздействия олигоэфиров и определение интенсивности СРП и ПОЛ по содержанию конечных и промежуточных продуктов окисления белков и липидов выявило стимуляцию олигоэфирами в организме СРП, ПОЛ, активности системы антирадикальной и антиперекисной защиты на фоне значительного напряжения адаптационных механизмов. При более высокой дозе – $1/10 LD_{50}$ – олигоэфиры ингибировали активность АОС и системы детоксикации ксенобиотиков в условиях активации СРП, ПОЛ, что свидетельствует о срыве адаптационных механизмов и дисфункции системно-антисистемных взаимодействий оксидантной и АОС.

Маркерными метаболическими показателями оксидантно-антиоксидантного гомеостаза, диагностики молекулярной патологии подопытных животных явились содержание в сыворотке крови белых крыс карбонилированных белков – 2,4-ДНФАГ, 2,4-ДНФКГ, флюоресцирующих продуктов типа шиффовых оснований; ДК; ТБК – активных продуктов; Г – SH; SH-групп; гаптоглобина; церулоплазмина, а также активности ферментов каталазы; СОД; ГП; ГТ; АсАТ и АлАТ, γ -ГТ.

Выявлено в сыворотке крови повышение содержания 2,4-ДНФАГ – на 42,64 %; 33,6 % и 23,4 %; 2,4-ДНФКГ – 52,26 %; 35,1 % и 41,6 %; шиффовых оснований – 21,4 %; 14,8 % и 22,2 %; ДК – 64,5 %; 41,4 % и 30,54 %; МДА – 145,9 %; 93,9 % и 136,4 %; Г – SH – 14,53 %; 19,2 % и 23,07 %; SH -групп – 19,43 %; 15,8 % и 27,5 %; гаптоглобина – 46,8 %; 52,02 % и 60,1 %; церулоплазмина – 44,2 %; 27,9 % и 33,02 %; активность каталазы повышалась – на 21,9 %; 24,6 % и 27,9 %, СОД – 36,9 %; 54,15 % и 47,02 %, ГП – 35,3 %; 54,6% и 47,4%: ГТ – 17,4%; 20,5% и 16,13%, АсАТ – 101,5%; 117,9% и 135,8%,

АлАТ – 118,5 %; 127,7 % и 150 % и γ - ГТ – 36 %; 39,4 % и 28,6 %, по сравнению с показателями референтной группы. Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне усиления свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов в организме подопытных животных активированы антиокислительные механизмы и система детоксикации ксенобиотиков под влиянием дозы 1/100 LD₅₀, в то время, как при дозе 1/10 LD₅₀ олигоэфиры вызывают ингибирование антиоксидантной и активацию прооксидантной систем. Все показатели имели тесную связь с дозой олигоэфиров.

Следует отметить, что, на фоне увеличения интенсивности БХЛ и фосфоресценции, отмечалось повышение содержания в сыворотке крови и печени МДА и ДК в подопытных группах животных, подвергавшихся воздействию олигоэфирами в дозе 1/100 LD₅₀. Эти данные подтверждают исследования о накоплении в организме подопытных животных АФК, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, которые способны ингибировать АОС и формировать развитие молекулярной мембранной патологии. Повышение интенсивности люминолзависимой хемилюминисценции, индуцированной H₂O₂ и FeCl₃, подтверждает цепной свободнорадикальный характер происходящих явлений в биологических системах, которые впоследствии активируют ПОЛ и окислительную модификацию белков, нуклеиновых кислот и др. Исследования показывают, что в условиях подострой интоксикации олигоэфирами образуется супероксидный анион радикал кислорода (O^{-•}) и гидроксильный радикал (ОН[•]), которые сопряжены с наличием высоких уровней возбужденных электронных состояний. Система высоких энергетических уровней триплетного состояния электронов в белках подтверждалась нами изучением фосфоресценции сыворотки крови опытных и контрольных животных, а многими авторами – методом электронного парамагнитного резонанса. Наличие высоких уровней триплетных возбужденных молекул, обусловленных неспаренными

электронами, может свидетельствовать об изменении конформации белковых молекул, присутствующих в сыворотке крови, связанном с окислительной их модификацией под влиянием ксенобиотиков. Изменение интенсивности фосфоресценции сыворотки крови опытных групп животных выявило существенные различия ее уровней при длинах волн возбуждения 297, 313, 334, 365, 404 и 434 нм. Особенно значимым было повышение интенсивности фосфоресценции в коротковолновой ($\lambda=313$ нм) области возбуждения. Результаты оценки интенсивности фосфоресценции сыворотки крови показывают, что при субхроническом воздействии на организм субтоксических доз ксенобиотиков отмечается увеличение в сыворотке крови количества молекул, находящихся в триплетном возбужденном состоянии, то есть молекул, имеющих два неспаренных электрона. Эти молекулы имеют большую продолжительность жизни и лишь по истечении сравнительно большого отрезка времени ($10^{-4} - 10^{-2}$) излучают свет и переходят на низкий невозбужденный синглетный уровень. Появление в длинноволновой области возбуждения повышенного количества молекул в триплетном состоянии может, по всей видимости, свидетельствовать о разобщении окислительного фосфорилирования и тканевого дыхания, которое сопровождается увеличением рассеивания тепла в организме экспериментальных животных под влиянием олигоэфиров в дозе $1/1000$ LD₅₀. Оценка структурно-метаболических показателей указывает на развитие свободнорадикальной патологии, активацию ПОЛ, ингибирование АОС. Нарушая структурно-функциональное состояние биологических мембран, внутриклеточного метаболизма и процессов биоэнергетики у животных, олигоэфиры являются патогенетической цепью потери управленческой функции интегративных систем контроля гомеостаза (нервная, эндокринная, иммунная) и, как следствие, действия на организм широкого спектра продуктов эндогенной интоксикации организма, способных вызвать повреждение и гибель клетки.

Одной из важнейших особенностей живых организмов является их способность приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды и сохранение своей стационарности с помощью механизмов саморегуляции. Проблема адаптации организма к меняющимся условиям среды обитания приобретает особое значение. Адаптация обеспечивается комплексом защитно-приспособительных реакций организма, в которых значительная роль, наряду с нервной, иммунной системой, принадлежит и эндокринной. Поэтому, адаптация организма к различным вредным воздействиям немыслима без соответствующих изменений метаболизма, ключевая роль в котором принадлежит гормонам. Следовательно, гормональную регуляцию всех сторон обмена веществ можно охарактеризовать как вынужденную перестройку метаболизма, адекватную изменениям внешней среды. Адаптационные реакции, в которых принимают участие интегративные системы контроля гомеостатической функции организма, могут быть специфическими в ответ на качественно определенные стимулы и неспецифическими, возникающими в ответ на любое воздействие, независимо от его природы. Совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием раздражителей самой разной природы, составляет стереотипный комплекс защитно-приспособительных реакций и характеризуется как состояние стресса. Гормональные защитные реакции синдрома адаптации представляют собой необходимые стандартные физиологические реакции на повреждающее воздействие, выработавшиеся в процессе эволюции и направленные на сохранение гомеостаза и повышение резистентности организма. Наиболее полная и устойчивая адаптация к вредным антропогенным воздействиям осуществляется благодаря взаимодействию целого ряда структурно-функциональных комплексов в нейроэндокринной системе. Необходимость комплексного изучения реакций организма на вредное воздействие факторов окружающей среды приобретает важное значение при обосновании механизмов развития патологических процессов. Первостепенная роль в этих

исследованиях отводится гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной и надпочечниковой эндокринной системе. Это объясняется не только ролью эффекторных гормонов (глюкокортикоидов и йодтиронина) в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности и управления срочными и долговременными адаптационными реакциями организма, но и сложным взаимодействием упомянутых систем на различных уровнях их организации в условиях, как нормы, так и патологии. В этом аспекте, анализ структурно-метаболического и функционального состояния центральных и периферических эндокринных желез при воздействии на организм субтоксических доз химических соединений является актуальной медицинской проблемой.

В связи с этим оценка гормонального статуса при длительном воздействии субтоксическими дозами олигоэфиров имеет ведущее значение. Значительная роль в этих процессах принадлежит нейроэндокринной системе. Комплексное изучение состояния центральных и периферических нейроэндокринных комплексов выявило дисфункции гипоталамуса, гипофиза, эпифиза, щитовидной железы и надпочечников. Изучение гормонального обмена у экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиром в дозах 1/100 и 1/1000 LD₅₀, выявило нарушения всех оценочных показателей эндокринной функции как у самок так и у самцов. Так, олигоэфиры снижали в сыворотке крови белых крыс (самцы) содержание ТТГ, инсулина, кальцитонина, СТГ, тестостерона и повышали уровни Т₃, Т₄, АКТГ, глюкагона, паратиринина. Эти изменения отмечались на фоне увеличения концентрации глюкозы в крови ($p < 0,05$). Анализ гормонального обмена свидетельствует, что исследуемые ксенобиотики в дозе 1/100 LD₅₀ при субтоксическом воздействии на организм экспериментальных животных способны оказывать влияние на энергетический, углеводный, белковый, липидный и минеральный обмен с преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами. Снижение уровней ТТГ и повышение концентраций Т₃ и Т₄ свидетельствует о напряжении энергетического обмена, возможном усилении теплопродукции,

повышении потребления кислорода и разобщении процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Повышение в сыворотке крови количества паратирина и снижение содержания кальцитонина может указывать на глубокие изменения фосфорно-кальциевого обмена, которые сопровождаются структурно-метаболической дезорганизацией костной ткани. Значительное увеличение уровней АКТГ в $1/100 LD_{50}$ и глюкагона дает основание судить об усилении катаболических процессов на фоне повышения секреции надпочечниками глюкокортикоидов, что может быть сопряжено с нарушением углеводного и многих других видов обмена веществ. Эти данные подтверждались увеличением уровней глюкозы в крови, как возможного результата активации глюконеогенеза, на фоне снижения содержания инсулина под влиянием дозы $1/100 LD_{50}$. В этой дозе олигоэфиры значительно ингибировали синтез СТГ и тестостерона, что указывает на подавление анаболических процессов и генеративной функции у экспериментальных животных.

Действие олигоэфиров на динамику обмена половых гормонов у самок приводило к снижению в сыворотке крови в среднем почти в 2 раза содержания ФСГ, ЛЛ, ЛТ, эстрадиола. Вещества в подостром опыте практически не влияли на обмен прогестерона и существенно увеличивали в крови концентрацию глюкозы ($p < 0,05$). Изучение обмена половых гормонов позволяет судить, что олигоэфиры в $1/100 LD_{50}$ подавляют генеративную функцию, как у самцов, так и у самок.

Оценка и динамическое сравнение показателей гормонального обмена обнаружили в наибольшей мере изменение в сыворотке крови содержания T_3 , АКТГ, паратирина и глюкагона. Олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ повышали уровень T_3 – на 103,7 % и 125,9 %, АКТГ – на 259,7 % и 291,7 %, глюкагона – на 75,9 % и 115,5 % и паратирина – на 198,2 % и 180,5 %. Такая динамика гормонов, накопление их в крови, указывает на неспецифическую стресс-реакцию, которая возникает под воздействием олигоэфиров на организм

экспериментальных животных. Вместе с тем, снижение уровней инсулина в 2, 5 раза, СТГ в 1,7 раза, кальцитонина в 1,6 раза свидетельствует об угнетении анаболических процессов и восстановительных синтезов.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ вызывают глубокие нарушения со стороны эндокринной системы на всех уровнях ее структурно-функциональной организации (гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа, -поджелудочная железа, -надпочечники, -яичники, -семенники), которые проявляются дисфункцией энергетического, белкового, углеводного, минерального, липидного видов обмена веществ с преобладанием катаболических процессов над анаболическими синтезами. Установленные нарушения эндокринной системы и динамика гистогормонов указывают, что олигоэфиры проявляют политропное действие на организм, которое может быть сопряжено с развитием мембранной патологии, и обязывают проводить диагностику всех функций гормонального обмена.

Результаты исследований свидетельствуют, что эндогенная интоксикация формируется в результате глубоких нарушений интегративных систем управления гомеостазом. Анализ показателей динамики гормонов указывает на нарушения всех видов обмена веществ и энергии, окислительно-восстановительных процессов, тканевого дыхания, кровообращения, терморегуляции, неспецифической иммунологической резистентности. У животных, которым вводили субтоксические дозы олигоэфиров, отмечается нарушение взаимодействия интегративных систем контроля гомеостаза (нервной, эндокринной и иммунной) и регуляторных систем тканеспецифического контроля метаболических процессов в органах и тканях. Регуляторные механизмы метаболических процессов тесно связаны с нейромедиаторными системами. Исследования показали нарушения адаптивных и защитно-приспособительных механизмов гомеостаза. Об этом свидетельствовало снижение в сыворотке крови количества возбуждающих нейротрансмиттеров (глутамат, аспартат) и повышение содержания таурина,

который обладает тормозными качествами. Изучение профиля белкового обмена и его метаболитов у белых крыс в экспериментальных условиях включало определение содержания общего белка; альбуминов; продуктов азотистого обмена – креатинина, мочевины, аммиака; острофазных белков – гаптоглобина, церулоплазмينا; аминокислот – глицина, ГАМК, таурина, аспартата, глутамата, цистеина, цистатионина, метионина, изолейцина, тирозина, лейцина, триптофана, лизина, фенилаланина, аланина, пролина, оксипролина, валина, гистидина, треонина, серина, аргинина, глутамина, орнитина, аспарагина, альфа-аминомасляной кислоты, - а также лактата и пирувата. Результаты исследования показателей обмена серусодержащих и глюкогенных аминокислот в плазме крови экспериментальных животных были следующими. Уровень цистеина снижался – на 37,97 %; метионина – на 31,78% при этом содержание таурина повышалось – на 43,16%; цистеиновой кислоты – на 102,3%; цистатионина – на 71,14 %. Снижение уровней цистеина и метионина было на фоне увеличения содержания их метаболитов таурина, цистеиновой кислоты и цистатионина. Установленная динамика обмена серусодержащих аминокислот может указывать на повышенную потребность в них для восстановительных синтезов, антирадикальной и антиперекисной защиты организма в условиях влияния олигоэфиров.

Исследование обмена глюкогенных аминокислот обнаружило снижение содержания треонина, серина, глицина, аланина. Эти аминокислоты метаболизируются через пировиноградную кислоту и могут быть источником для синтеза глюкозы, как в здоровом организме, так и при многих заболеваниях и патологических процессах, таких как сахарный диабет, тиреотоксикоз, стероидный диабет, эмоциогенный стресс, интоксикации, длительное голодание и др. Олигоэфиры снижали, соответственно, уровень треонина на 44,28 %; 35,88 % и 45,68, серина – 44,66 %; 41,38 % и 48,78 %, глицина – 26,44% 34,81 % и 23,95 %, аланина – 29,99 %; 27,07 % и 32,61 %, цистеина – 37,97 %; 32,88 % и 43,06 %. Оценка содержания глюкогенных аминокислот в

плазме крови на фоне увеличения в ней концентрации лактата и пирувата дает основание судить о том, что олигоэфиры активируют их распад и, возможно, ускоряют глюконеогенез. Нарушение динамики тормозных и возбуждающих медиаторов может быть связано с глубокой перестройкой метаболизма животных, под влиянием субтоксических доз олигоэфиров, развитием дефицита энергообеспечения тканей и является защитно-приспособительной реакцией на дисфункции эндокринной и иммунной систем. Следует полагать, что олигоэфиры активируют свободнорадикальные процессы и перекисное окисление липидов, которые истощают АОС, что приводит к снижению уровней серусодержащих аминокислот. Установленная динамика содержания глюкогенных аминокислот в плазме крови может свидетельствовать об усилении катаболических процессов, а также усиленном использовании данных аминокислот для синтеза глюкозы и восстановительных синтезов, т.е. как защитно-адаптационная реакция организма.

Исследование содержания кетогенных аминокислот, которые метаболизируются через ацетоацетил-КоА (фенилаланин, лейцин, тирозин, лизин) и аминокислот, которые превращаются в ацетил-КоА с последующим его участием в цикле Кребса (лейцин, фенилаланин, триптофан), обнаружило значительное его повышение в опытных группах по сравнению с интактными животными. Так, уровень фенилаланина повышался – на 63,10 %; 53,98 % и 34,63 %, лизина – 55,33 %; 28,45 % и 40,23 %, тирозина – 47,7 %; 36,03 % и 70,99 %, лейцина – 67,02 %; 43,08 % и 62,23 % и триптофана – 47,58 %; 66,22 % и 57,89 %. Динамика содержания кетогенных аминокислот может свидетельствовать как об усилении катаболизма белков, так и о снижении степени использования их для восстановительных синтезов. Следует отметить, что в таких метаболических условиях олигоэфиры могут индуцировать образование кетоновых тел и приводить к развитию кетоацидоза на фоне повышения концентрации лактата и пирувата.

Анализ содержания в плазме крови аминокислот, которые метаболизируются через α -КГ в цикл Кребса, обнаружил снижение уровней аргинина, гистидина, пролина, глутамата и глутамина. Так, концентрация аргинина снижалась – на 26,33 %; 23,39 % и 33,86 %, гистидина – 28,78 %; 39,04 % и 33,69 %, пролина – 24,14 %; 32,41 % и 37,77 %, глутамата – 38,07 %; 32,77 % и 41,07 %, глутамина – 28,32 %; 30,34 % и 36,30. Известно, что эти протеиногенные аминокислоты способны превращаться в α -КГ, которая в цикле Кребса окисляется с образованием CO_2 , сукцинил-КоА и НАД \cdot Н $_2$. Вместе с тем, α -КГ может превращаться в щавелево-уксусную кислоту и использоваться для синтеза глюкозы. Исследования показывают, что снижение содержания этих аминокислот в плазме крови может быть связано как с усилением синтеза глюкозы, использованием их для синтетических нужд, так и с ускорением катаболизма данных аминокислот в интегрированном цикле Кребса, что свидетельствует о напряжении адаптационных и защитно-приспособительных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза.

Изучение влияния олигоэфиров на обмен плазменных аминокислот, которые метаболизируются и поступают в цикл Кребса через сукцинил-КоА, выявило повышение содержания изолейцина, валина и снижение – метионина и треонина. Было установлено увеличение уровней изолейцина – на 58,17%; 46,38 % и 61,59 %, валина – 143,57 %; 107,69 % и 82,82 % на фоне снижения концентрации метионина – на 31,78 %; 26,46 % и 27,91%, треонина – 44,28 %; 35,08 % и 45,68 % по сравнению с контролем. Такая динамика содержания плазменных аминокислот может быть сопряжена как с усилением распада белков, так и с ингибированием процессов использования их для синтетических целей.

При определении содержания аминокислот, которые превращаются в оксалоацетат, выявлено снижение в плазме крови концентрации аспартата и аспарагина соответственно – на 40,1 %; 51,79 %; 43,8 4% и 39,47 %; 46,19 %; 40,28 %. Полученные результаты по аспартату и аспарагину могут указывать

как на усиление их катаболизма в цикле Кребса, так и на активацию процессов, связанных с синтезом глюкозы. При исследовании содержания метаболитов аминокислот, продуктов азотистого обмена и белков обнаружено повышение уровней мочевины, аммиака, лактата, пирувата, оксипролина, гаптоглобина, церулоплазмина и снижение – орнитина, альфа- и гамма-аминомасляной кислоты, креатинина, альбумина, общего белка. Было установлено увеличение концентрации мочевины – на 46,06 %; 49,78 % и 40,22 %, аммиака – 93,92 %; 102,16 % и 86,71 %, лактата – 94,6 %; 125,7 % и 130,5 %, пирувата – 107,6 %; 117,9 % и 138,15 %, оксипролина – 101,02 %; 114,23 % и 71,24 %, гаптоглобина – 250,7%; 268,65% и 282,08%, церулоплазмина – 112,78%; 109,48% и 107,6% на фоне снижения уровней орнитина – на 37,23%; 34,07% и 45,58%, альфа-аминомасляной кислоты – 45,18%; 51,19% и 46,64%, ГАМК– 55,62%; 50,17% и 44,20%, креатинина – 37,61%; 41,75% и 34,81%, альбумина – 40,55%; 35,31% и 44,54%, общего белка – 34,17 %; 41,69 % и 38,53 % по сравнению с контролем. Эти данные свидетельствуют, что олигоэфиры приводят к развитию в организме эндогенной интоксикации; ацидоза; нарушают функцию печени, поджелудочной железы, почек; вызывают структурные изменения в соединительной ткани, нарушение баланса заменимых, незаменимых и нейромедиаторных аминокислот; ингибируют процессы биоэнергетики, восстановительные синтезы, а также процессы обезвреживания продуктов азотистого обмена, на фоне развития острофазных воспалительных реакций, что указывает на дисфункцию метаболизма. Результаты проведенных исследований объективно свидетельствуют о нарушении в организме экспериментальных животных всех метаболических путей обмена аминокислот, структурно-метаболических процессов во внутренних органах и тканях, о развитии эндогенной интоксикации, усилении катаболических механизмов, связанных с распадом белков, аминокислот на фоне ингибирования восстановительных синтезов и активации острофазных воспалительных реакций. Действие данных ксенобиотиков приводит к

десинхронизации системно-антисистемных метаболических процессов в организме.

Прогностически значимым мониторинговым показателем обменных – триптофана – и нейромедиаторных – серотонина – расстройств может быть исследование обмена триптофана. Исследовали содержание в сыворотке крови опытных и контрольных животных L-триптофана и его метаболитов – серотонина, мелатонина, 5-ОИУК, животного индикана, – в печени – активность фермента ТДО. В сыворотке крови определяли также один из конечных продуктов окислительного дезаминирования аминокислот, биогенных аминов, пуриновых азотистых оснований и др. – аммиак (NH_3). О функциональном состоянии процессов превращения аминокислот в толстом кишечнике под влиянием микрофлоры и обезвреживающей функции печени судили по количеству конечного продукта обмена триптофана – животного индикана – в сыворотке крови. Известно, что L-триптофан является стабилизатором фермента ТДО. Способствуя образованию устойчивого конформационного состояния, ТДО печени обладает абсолютной субстратной специфичностью по отношению к L-триптофану и катализирует необратимую ключевую реакцию катаболизма аминокислоты по кинурениновому пути ее обмена с образованием N-формилкинуренина, а впоследствии – одного из ключевых конечных метаболитов – НАД⁺. Этот фермент ускоряет встраивание молекулярного кислорода непосредственно в молекулу L-триптофана, а катализируемая им реакция является скоростьюлимитирующей стадией превращения субстрата. Обнаруженные изменения в обмене L-триптофана и активности ТДО могут свидетельствовать о нарушении сопряженных метаболических процессов, связанных с анаболическими и катаболическими превращениями белков, нейромедиаторов, гормонов, индукторов дифференцировки и пролиферации, конечных метаболитов обмена и др. Значительная часть метаболита L-триптофана, биогенного амина – серотонина, подвергается окислительному дезаминированию с образованием аммиака,

H_2O_2 , альдегида, 5-ОИУК, при этом превращение триптофана может быть связано и с синтезом мелатонина, уровни которого были существенно ниже под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50} олигоэфиров. Серотонин занимает промежуточное положение между гормонами и нейромедиаторами. Этот медиатор суживает артериолы и повышает артериальное давление, усиливает перистальтику кишечника, оказывает антидиуретическое действие. Серотонин способен изменять активность гипоталамуса – центрального регулятора и переключателя нервных импульсов на гуморальные – и влиять на обмен периферических эндокринных желез через парагипофизарный путь, минуя гипоталамо-гипофизарное влияние. Результаты исследований свидетельствовали о повышении уровня серотонина в сыворотке крови при субтоксическом действии олигоэфиров по сравнению с контролем, что дает основание судить об особой роли серотонина в механизмах структурно-метаболических нарушений и формировании симптомов эндогенной интоксикации, и его патогенетической роли в формировании нейроэндокринной и метаболической дисфункции обмена веществ. Высокие уровни серотонина в сыворотке крови в сравнении с контролем позволяют использовать данный показатель как прогностический маркерный показатель эндогенной интоксикации организма. Повышение содержания серотонина 8,2 раза и снижение уровня мелатонина в 3,8 раза – взаимосвязанных метаболических систем – в условиях субтоксического длительного поступления в организм олигоэфиров указывает на глубокие расстройства гипоталамо-гипофизарно-эпифизарного нейроэндокринного комплекса и патогенетическую роль в механизмах развития интоксикации.

В центральной нервной системе серотонин выполняет функцию медиатора и является источником синтеза в эпифизе гормона мелатонина. Литературные источники свидетельствуют, что мелатонин в неонатальном периоде развития влияет на дифференциацию центров головного мозга, контролирующую функцию гонад и надпочечников в «критическом» периоде

развития. Он угнетает секрецию гонадотропинов в гипоталамусе и обуславливает антагонистические взаимоотношения между этим органом и половыми железами, являясь физиологическим ингибитором преждевременного полового созревания. Ему принадлежит важная роль в работе механизма «биологических часов», периодичности активации и ингибирования функций организма в разное время суток, сезонов года.

Около 95% серотонина взрослого человека вырабатывается в энтерохромафинных клетках кишечника. Остальная часть его находится в тучных клетках соединительной ткани кожи, селезенке, печени, почках, легких, эпифизе, коре головного мозга, гипоталамусе, тромбоцитах крови и др. . L-триптофан и непосредственный предшественник серотонин являются субстратами для синтеза гормона эпифиза, обеспечивающего циркадные ритмы метаболических процессов в организме, – мелатонина, который образуется путем N-ацетилирования и последующего метилирования 5-окситриптамина. Этот гормон регулирует половое созревание, теплообмен, дыхание, водно-солевой обмен, бодрствование, циркадную динамику обменных процессов в различных органах и тканях организма в зависимости от времени суток, сезонов года, является иммуномодулятором и активным субстратом, обладающим антирадикальными и антиперекисными свойствами и др. Вместе с тем, L- триптофан может превращаться в желудочно-кишечном тракте под влиянием микрофлоры толстого кишечника в индол, скатол, крезол и другие индольные производные. Конечным продуктом этих превращений, экскретируемым с мочой, является в основном 5-оксииндолацетат, который выступает сильным митогенным фактором дифференцировки и пролиферации быстро обновляющихся тканей. Эти нарушения характеризовались и существенным повышением продукта окислительного дезаминирования аминокислот, биогенных моноаминов – аммиака (NH_3), а также животного индикана. Известно, что главным, если не единственным механизмом, посредством которого активность ТДО влияет на синтез серотонина в

организме, служит изменению уровня свободного L-триптофана. Исследования обнаружили повышение активности ТДО и снижение содержания L-триптофана в сыворотке крови. В этих метаболических условиях открывается путь повышенного синтеза коферментных форм НАД⁺ и НАДФ, необходимых для усиления окислительно-восстановительных процессов, дифференцировки и пролиферации, как результат защитно-приспособительных реакций организма, которые направлены на активацию восстановительных синтезов в условиях субтоксического действия химических веществ.

Регуляция ТДО осуществляется по типу обратной связи конечными продуктами кинуренинового пути обмена L-триптофана – НАД⁺ и НАДФ⁺. Активация фермента сопряжена с повышением содержания субстрата окисления – L-триптофана. Положительными активаторами фермента ТДО являются ионы Cu^{2+} , гематин, ферригем и б-АЛК. Гемин, при этом, является коферментом ТДО. Существенное повышение активности ТДО позволяет судить о снижении белоксинтетической функции синтеза гемоглобина, в результате чего гем окисляется кислородом в гемин, являющийся коферментным активатором данного фермента, а с другой стороны – окисленная форма гема (гемин) тормозит активность митохондриального энзима б-аминолевуленатсинтазы, катализирующей первую реакцию синтеза гема из сукцинил~КоА из глицина – б-АЛК.

Изучение влияния ксенобиотиков в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ выявило снижение содержания в плазме крови мелатонина и триптофана на фоне повышения уровней серотонина, 5-ОИУК, индикана, аммиака и активности в печени фермента ТДО. Так, содержание L-триптофана снижалось – на 39,04% и 21,64 %, мелатонина – на 73,7 9% и 53,2 %, при этом уровень серотонина повышался – на 721,42 % и 560,71 %, 5-ОИУК – на 454,76 % и 326,19 %, индикана – на 269,56% и 179,13%, аммиака – на 128,34% и 92,3%. Известно, что триптофан является источником образования никотинамидных коферментных форм (НАД⁺ и НАДФ) витамина РР – ниацина, синтеза биогенного моноамина

– серотонина, гормона – мелатонина, индуктора клеточной дифференцировки и пролиферации – 5-оксииндолацетата, которые способны оказывать значительное влияние на обменные процессы в различных органах и тканях организма. Было убедительно показано влияние серотонина на медиаторные процессы в нервной системе, он выполняет роль местного регулятора функций периферических органов и тканей, является мощным сосудосуживающим агентом и стимулятором сокращения гладко-мышечных тканей.

Результаты исследования динамики серотонина и мелатонина указывают на серьёзную дисфункцию нейроэндокринной системы в регуляции структурно-метаболических процессов и механизмах развития патологических состояний. Уровень одного из конечных продуктов обмена L-триптофана – животного индикана – был значительно повышен под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ ксенобиотиков, что подтверждает увеличение образования конечного токсического продукта распада L-триптофана – индола. Эти данные свидетельствуют о нарушении процессов, связанных с перевариванием белков, на фоне возможного изменения микробиологического профиля кишечника, сопряженного с развитием гнилостных процессов и дисбактериозом. Вместе с тем, исследования указывают на активацию детоксикационной функции печени, что подтверждалось увеличением в сыворотке крови индола, связанного в виде эфирокислоты с калием или натрием (индикан). Анализ полученных результатов изучения обмена L-триптофана и усиление активности ТДО при действии олигоэфиров, показывает, что это способно вносить определенный вклад в условия формирования кооперативного взаимодействия оксидантно-антиоксидантного гомеостаза, который может быть сопряжен с усилением СРП, активацией ПОЛ, окислительной модификацией белков и развитием мембранной патологии. Таким образом, прогностически важным диагностическим критерием развития эндогенной окислительной патологии организма под влиянием олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ является изучение обмена L-триптофана, изменение динамики которого приводит к

глубокому нарушению белкового, нейромедиаторного, гормонального, кофакторного обмена, сопровождающихся эндотоксемией, которая подтверждалась увеличением в сыворотке крови содержания аммиака и производного индола – индикана, что является неблагоприятным показателем оценки состояния гомеостатической функции организма. Исследования показывают, что действие ксенобиотиков может сопровождаться политропными нарушениями со стороны различных органов, систем и функций, в основе которых лежит свободнорадикальная патология и оксидативный стресс.

Обоснование информативных показателей структурно-метаболического состояния дисфункции печени, как главной обезвреживающей лаборатории, обеспечивающей АОС и функцию детоксикации, позволило определить следующие маркерные показатели: активность глюкуронидной, глутатионовой, сульфатной и ацетильной конъюгации; исследование состояния системы оксидантно-антиоксидантного взаимодействия: по содержанию восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина, ДК, МДА; определение динамических нарушений белкового, углеводного, жирового, нуклеинового обмена в печени животных. Ингибирование процессов, связанных с глюкуронидной, сульфатной и глутатионовой конъюгацией, под влиянием ксенобиотиков в дозах $1/100 LD_{50}$, происходило при повышении в печени содержания ДК и МДА. В крови животных наблюдалось увеличение содержания креатинина, мочевины, свободных жирных кислот, кетоновых тел, холестерина и активности ферментов АлАТ и АсАТ. Установленное снижение в печени содержания гликогена в 4,7 раза, рибонуклеиновых кислот почти в 2 раза (1,96), глобулинов, гистонов в 1,8 раза и активности ферментов Г-6-Фазы в 2,8 раза и ТДО почти в 3 раза (3,16) ($p < 0,05$) указывает на ингибирование восстановительных синтезов, нарушение углеводного, нуклеинового и белкового обмена. Ингибирование в печени олигоэфирами (под влиянием $1/100 LD_{50}$) процессов глюкуронидной, глутатионовой и сульфатной конъюгации на

фоне активирования ацетилтрансферазных реакций указывает на серьёзную дисфункцию системы детоксикации ксенобиотиков. Наши исследования показывают, что олигоэфиры стимулируют ПОЛ и СРП, приводят к накоплению кетоновых тел, активируют распад белков и триацилглицеридов, что свидетельствует о преобладании катаболических процессов, над анаболическими синтезами, на фоне нарушения функции печени и почек. Обладая мембранотропным действием, олигоэфиры способны оказывать в первую очередь повреждающее действие на органы, которые играют ведущую роль в системе детоксикации ксенобиотиков – печень.

Изменение свойств и активности моноаминооксидаз обнаружено при многих патологических процессах и состояниях: облучении, злокачественном росте, гипервитаминозе Д, холодовом стрессе, гипоксии, гиперхолестеринемии, черепно-мозговой травме. Определение содержания в сыворотке крови биогенных моноаминов выявило снижение уровня дофамина, адреналина, норадреналина и их предшественника ДОФА на фоне повышения концентрации серотонина под влиянием изучаемых ксенобиотиков. Активность тромбоцитарной MAO-B была значительно повышена под влиянием ксенобиотика в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀, что указывает на усиление процессов окислительного дезаминирования в этих дозах. Олигоэфиры активируют процессы окислительного дезаминирования, на фоне ингибирования эрготропной функции, с усилением трофотропной функции организма, как защитно-приспособительной реакции, что направлено на обеспечение постоянства внутренней среды организма. Маркерными показателями интоксикации являются активность MAO и содержание некоторых биогенных моноаминов и их предшественников в различных органах и тканях. В печени, головном мозге и плазме крови оценивается содержание адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина, серотонина, триптофана. Патогенетическое значение имеют нарушения каталитической активности моноаминооксидаз, которые обеспечивают окислительное дезаминирование первичных, вторичных

и третичных моноаминов. Данные диагностические критерии формируются по определению активности тромбоцитарной MAO-B по скорости образования продукта реакции дезаминирования – бензальдегида. Необходимо отметить, по данным литературы, ведущую роль нарушений обмена биогенных моноаминов при формировании заболеваний ЦНС, сердечно-сосудистой системы, психических и онкологических заболеваний, и наличие прямой корреляционной связи между интенсивностью обмена биогенных аминов в клеточных структурах и степенью активности патологического процесса в различных органах. Таким образом, моноаминооксидазы поддерживают на определенном физиологическом уровне содержание катехоламинов, серотонина, гистамина, триптамина.

Маркерными показателями метаболического состояния обезвреживающей, антиоксидантной, биосинтетической и депонирующей функций печени, а также некоторыми показателями энергетического и углеводного обмена в условиях подострого эксперимента являются: оценка метаболического состояния митохондрий – полярографическим методом, определяя скорость потребления кислорода в безакцепторной среде (V_4), скорость потребления кислорода в присутствии акцептора (V_3), скорость потребления кислорода после исчерпания добавляемого АДФ (V_4), а также рассчитывая коэффициент фосфорилирования – отношение АДФ/ O_2 , сходное по своему значению с коэффициентом P/O и характеризующее сопряженность процессов окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи; дыхательный коэффициент (ДК) Ларди, т.е. отношение скорости поглощения кислорода в состоянии V_3 к скорости поглощения кислорода в состоянии V_4 (до ввода в ячейку АДФ); АТФ - активность гидролазных реакций как отношение V_4/V_4P , характеризующее скорость регенерации АДФ после его фосфорилирования. В печени определяется Mg^{2+} , Ca^{2+} -активируемая АТФ-аза митохондрий гепатоцитов, ГК, ФФК, альдолаза, Г-6-ФДГ, ЛДГ, КФК. Второй этап исследований предусматривает изучение состояния углеводного, белкового, липидного

обмена, антиоксидантной системы и процессов детоксикации ксенобиотиков. Определяется содержание кетоновых тел, неэстерифицированных свободных жирных кислот в крови белых крыс. В печени определяется гликоген, активность УДФ-глюкуронилтрансферазы микросомальной фракции печени. Уровень вторичных продуктов ПОЛ оценивается по накоплению МДА. Гидроперекиси ненасыщенных жирных кислот ДК определяются спектрофотометрическим методом. Определяется содержание в крови креатинина, мочевины, холестерина, глюкозы и активности ферментов – АлАТ и АсАТ, изучается активность Г-6 Фазы в печени. Известна тесная связь между состоянием углеводного обмена и процессами аэробного и анаэробного дыхания, которые сопряжены с генерацией АТФ. Изучение углеводного обмена в печени под воздействием олигоэфиров в субтоксических дозах обнаружило снижение активности ГК, альдолазы, ЛДГ, КФК и повышение – Г-6-ФДГ. Так, изучение влияния олигоэфиров на состояние углеводного обмена и анализ оценочных показателей выявили торможение процессов гликолитического расщепления глюкозы и анаэробного типа дыхания. Олигоэфиры в дозе 1/10 LD₅₀ в условиях подострого воздействия на организм подопытных животных приводят к разобщению процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, что свидетельствует о значительном напряжении защитно-компенсаторных механизмов и восстановительных синтезов. Эти нарушения способны формировать развитие мембранной патологии, энергетического голода и тканевой гипоксии, т.е. состояний, сопряженных с активацией СРП и ПОЛ.

Диагностически-маркерными показателями являются также показатели изучения влияния субтоксической дозы (1/100 LD₅₀) на белковый обмен у подопытных животных. Нами обнаружено повышение в сыворотке крови содержания креатинина – на 76,14 %; 64,0 5% и 65,03 %, мочевины – 155,1 %; 169,5 % и 124,3 % и активности ферментов АсАТ – 370,5 %; 317,6 % и 364,7 %, АлАТ – 442,6 %; 405,6 % и 425,9 %. Эти результаты могут свидетельствовать

об усилении обмена белков и превалировании катаболических процессов над анаболическими синтезами, а также о существенном напряжении функции печени, которое сопряжено со структурно-метаболическими нарушениями гепатоцитов. Существенное повышение мониторинговых органоспецифических показателей свидетельствует, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ нарушают белковый обмен и оказывают гепатотоксическое, а возможно и нефротическое действие, о чем свидетельствуют высокие уровни в крови мочевины и креатинина. Исследование липидного обмена у белых крыс обнаружило повышение в сыворотке крови содержания кетоновых тел, свободных жирных кислот, холестерина, а в печени – ДЖ и МДА, что свидетельствует об активации процессов катаболизма липидов, СРП и ПОЛ. Олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ активируют в печени распад белков, жиров и углеводов, оказывают гепатотоксическое действие, ускоряют СРП и ПОЛ на фоне ингибирования обезвреживающей, антиоксидантной, биосинтетической и депонирующей функций.

Наиболее значимые динамические нарушения функционального состояния NO-синтазной окислительной системы у крыс, подвергавшихся воздействию олигоэфиров, наблюдались под влиянием 1/10 LD₅₀ (увеличение содержания в сыворотке крови метаболитов обмена NO – нитритов, нитратов, S-нитрозотиолов – и активности эNOS и иNOS). Содержание NO₂ в сыворотке крови повышалось – на 110,2 %, 91,3 % и 124,4 %. Уровень NO₃ возрастал на 45,9 %, 34,4 % и 59,4 %. Активность эNOS увеличивалась на 64,9 %, 38,6 % и 59,6%, иNOS – на 123,1; 111,5 % и 138,5 %. Ксенобиотики в дозах 1/100 LD₅₀ оказывали менее значимое влияние на уровни исследуемых показателей. Так, содержание нитритов увеличивалось – на 84,2%, 62,9% и 93,7%, нитратов – на 34,04 %, 17,4 % и 42,5 %, S-нитрозотиолов – на 28,1 %, 18,7 % и 43,7 %. Активность эNOS повышалась – на 50,8 %, 28,1 % и 47,4 %, иNOS – на 100 %, 84,6 % и 115,4 %.

Высокие уровни в сыворотке крови нитритов, нитратов и активность эNOS и иNOS свидетельствовали о повышении продукции NO, которое имело тесную связь с дозой воздействия олигоэфиров. В наших исследованиях отмечается дозозависимость активации NO-синтазной окислительной системы исследуемых олигоэфиров: в минимальной изучаемой дозе (1/1000 LD₅₀) эффекта не наблюдается, бóльшие дозы (1/100 и 1/10 LD₅₀) вызывают достоверный эффект; с увеличением дозы активация системы усиливается.

Учитывая механизмы действия иNOS и эNOS, следует полагать, что данные ферменты катализируют образование существенного количества NO в ответ на химическую стимуляцию олигоэфирами. Механизм действия этих изоформ ферментов сходен и состоит в следующем: ионы Ca²⁺ под влиянием нейромедиаторных стимулов входят в клетку, где в цитозоле связываются в единый комплекс с кальцийсвязывающим белком кальмодулином. Комплекс Ca²⁺-кальмодулин выступает как кофактор и активирует NOS и продукцию NO. Последний, в свою очередь, активирует клеточный цитоплазматический фермент ГЦ, что приводит к образованию цГМФ, который опосредует все эффекты NO через сложную систему биохимических реакций, инициируя многочисленные биохимические процессы и развитие защитных реакций или патологических явлений. Существенное накопление NO в клетке приводит к его быстрому взаимодействию с молекулярным кислородом, супероксидным анион-радикалом, металлами гемсодержащих и негемовых белков и продукции реакционноспособных АФК, свободных радикалов, перекисей, гидроперекисей, обладающих мембраноповреждающим действием. Изучение функционального состояния NO-синтазной окислительной системы указывает на развитие патологических состояний. Продолжительное введение исследуемых олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводит к значительной активации этой системы и, по-видимому, накоплению оксида азота, свободных радикалов, АФК, перекисей, гидроперекисей, обладающих мембранотропным действием и формирующих развитие свободнорадикальных реакций. При этом доза 1/10

LD₅₀ вызывает более выраженный эффект, чем 1/100. В дозе 1/1000 LD₅₀ олигоэфир не оказывают влияния.

Комплексная оценка структурно-метаболических процессов в органах детоксикации ксенобиотиков диктует изучение влияния новых химических соединений на метаболические процессы, а именно, окислительно-восстановительные процессы и энергетику организма, для обоснования механизмов повреждающего действия и разработки методов патогенетической коррекции нарушения гомеостатической функции организма. Определяется состояние тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, содержание неорганического фосфора, АМФ, АДФ, АТФ, цАМФ, цГМФ, ДК, МДА и активности каталазы, СОД.

Адекватный количественный и качественный ответ организма на воздействие вредных источников – это основа физиологически полной и своевременной адаптации к изменениям, происходящим в среде обитания человека, что является залогом сохранения здоровья. Вместе с тем, длительное и отрицательное влияние на организм химических факторов в субтоксических дозах, способно привести к нарушению гомеостаза, срыву защитно-приспособительных механизмов, адаптации и развитию болезни. Поэтому показатели исследования окислительно-восстановительных и энергетических процессов являются прогностическими маркерными критериями. В ходе эксперимента было обнаружено существенное ингибирование тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования у группы животных, токсифицированных 1/100 LD₅₀. Исследуемые олигоэфир в дозе 1/100 LD₅₀ снижали дыхание митохондрий после добавления сукцината – на 30,34 % и 22,48 % (V4), после добавления АДФ (V3) – на 48,34 % и 49,13 %, при внесении разобщителя 2,4-ДНФ – на 46,01 % и 49,6 %. Дыхательный коэффициент у подопытных животных снижался по сравнению с контролем – на 25,57 % и 34,66 %, а коэффициент фосфорилирования – на 65,99 % и 52,12 %. Регенерация АДФ, при оценке АТФ-гидролазной реакции, заметно снижается в

опытных группах животных сравнительно с контролем. Значительное ингибирование дыхания в метаболическом состоянии V3 указывает на снижение интенсивности реакций окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ, что может быть связано с нарушением структуры мембран митохондрий и их фрагментацией. Эти данные подтверждались также снижением активности ферментов Ca^{2+} -АТФ-азы, Mg^{2+} -АТФ-азы, H^+ -АТФ-азы. Поскольку активность АТФ-аз митохондрий связывают с процессами окисления и фосфорилирования, то следует ожидать, что олигоэфиры являются разобщителями этих процессов. Снижение активности H^+ -АТФ-синтетазы, наблюдаемое при субтоксической интоксикации ксенобиотиками, является одними из ведущих звеньев в цепи разобщения окисления и фосфорилирования, а следовательно, уменьшения энергопродукции АТФ и восстановительных синтезов. Исследование содержания в печени макроэргических соединений и метаболитов энергетического обмена обнаружило снижение под влиянием 1/100 LD₅₀ олигоэфиров уровней АТФ, АДФ и повышение – АМФ и неорганического фосфата.

Состояние окислительно-антиоксидантного взаимодействия оценивали по содержанию в печени ДК, МДА и активности ферментов СОД, церулоплазмينا, каталазы в сыворотке крови. Изучение состояния окислительно-восстановительных процессов под влиянием 1/100 LD₅₀ обнаружило активацию окислительно-антиоксидантных процессов. Она проявлялась повышением уровней в печени МДА, ДК и активности ферментов СОД и каталазы. В сыворотке крови отмечалось также повышение содержания острофазового белка – церулоплазмينا. Эти данные убедительно свидетельствуют, что олигоэфиры в дозе 1/100 LD₅₀ стимулируют ПОЛ и СРП на фоне активации антирадикальной и антиперекисной защиты.

Анализ динамики внутриклеточных медиаторов выявил повышение уровня цАМФ и снижение – цГМФ. Содержание цАМФ в печени повышалось – на 38,68 % и 42,24, а цГМФ снижалось – на 38,67 % и 44,24 %. Эти

результаты свидетельствуют о возможном преобладании катаболических процессов, над анаболическими синтезами. Сумма адениловых нуклеотидов (АТФ+АДФ+АМФ) и содержание креатинфосфата существенно снижались в печени опытных групп животных сравнительно с контролем. Содержание адениннуклеотидов под влиянием 1/100 LD₅₀ снижалось в печени – на 35,54 % и 35,05%, а креатинфосфата – на 58,23 % и 54,79%. Подавление процессов биоэнергетики подтверждалось также снижением энергетического потенциала гепатоцитов, который ингибировался – на 44,70 % и 46,19 %.

Известно, что реализация энергетического метаболизма во многом осуществляется через систему вторичных медиаторов – цАМФ и цГМФ, которые определяют взаимосвязь анаболических и катаболических процессов. Исследования распределения циклических нуклеотидов и ПГ в различных областях головного мозга и их участия в ответных реакциях нервных структур на вредные раздражители подтвердили особую роль циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) и ПГ в функционировании ЦНС и механизмах нейротрансмиссии. Высокое содержание цАМФ и активность АЦ, ФДЭ служат доказательством напряженности обмена циклических нуклеотидов в ЦНС [].

Изучали параметры рецепторного связывания (серотониновых, дофаминовых, адреналиновых, глюкокортикоидных рецепторов) и циклазный медиаторный каскад (АЦ – цАМФ, ГЦ – цГМФ, ФДЭ), поглощение ионов ⁴⁵Са²⁺. Результаты наших исследований свидетельствуют, что олигоэфиры снижают в головном мозге содержание как цАМФ, так и ПГ Е, при этом наблюдается увеличение уровней цГМФ и простагландина F_{2α}. В этих условиях олигоэфиры, очевидно, являются фактором, стимулирующим синтез ПГF_{2α} и ингибирующим симпато-адреналовую систему. Олигоэфиры вызывают резкое увеличение содержания цГМФ, особенно в коре головного мозга, и приводят к развитию возбуждающих процессов, которые, очевидно, еще в большей степени усугубляются снижением в этих условиях концентрации цАМФ как тормозного фактора. Наблюдаемые нами уменьшение уровня цАМФ в

головном мозге и повышение – цГМФ свидетельствуют об активации адаптационно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма в условиях подострой токсификации исследуемыми ксенобиотиками.

Результаты изучения влияния ксенобиотиков на параметры рецепторного связывания в коре головного мозга, состояние параметров рецепторного связывания α_1 -адренорецепторов выявили повышение их равновесной константы диссоциации (K_d) и количества мест рецепторного связывания. Действие олигоэфиров на параметры рецепторного связывания β -адренорецепторов в коре головного мозга характеризовалось увеличением константы диссоциации и снижением количества мест рецепторного связывания. Параметры рецепторного связывания α_1 - и β -адренорецепторов в печени имели сходную динамику с таковой в коре головного мозга и характеризовались повышением равновесной константы диссоциации и количества мест рецепторного связывания α_1 -адренорецепторов, что свидетельствовало о снижении сродства рецепторов к радиолиганду. При этом в печени отмечалось снижение K_d и B_{max} β -адренорецепторов, что указывало на усиление сродства β -адренорецепторов к лиганду у групп животных, токсифицированных олигоэфирами.

Влияние олигоэфиров на параметры связывания α_2 -адренорецепторов в продолговатом мозге отражало иную динамику. Она заключалась в снижении равновесной константы диссоциации и количества мест связывания α_2 -адренорецепторов, что указывает на усиление сродства лиганда к α_2 -адренорецепторам. Из известных α_1 -адренергических механизмов деятельности ЦНС можно предположить, что в клетках головного мозга вследствие таких изменений должны наблюдаться нарушения обмена фосфолипидов и внутриклеточного уровня цАМФ. Определение в коре головного мозга параметров рецепторного связывания серотониновых рецепторов первого типа – S_1 – обнаружило снижение K_d и повышение количества мест рецепторного

связывания радиолиганда – ^3H -серотонина данными рецепторами, что свидетельствует о влиянии олигоэфиров на активацию серотонинергических рецепторов, связанных с C_1 -рецепторами. Действие на C_2 -рецепторы сопровождалось снижением равновесной константы диссоциации и количества мест радиолигандного связывания ^3H -спиперона C_2 -рецептрами, что указывает на повышение сродства олигоэфиров к данному типу рецепторов.

Важное место в регуляции метаболических процессов и поддержании гомеостаза организма принадлежит глюкокортикоидным рецепторам. Олигоэфиры существенно повышали количество глюкокортикоидных рецепторов в различных структурах головного мозга – коре, стволе, мозжечке и печени. Начальным этапом формирования физиологической реакции на клеточном, тканевом и организменном уровнях является возбуждение рецепторной молекулы при взаимодействии с нейромедиатором или гормоном. Это обеспечивает конформационную перестройку рецепторного аппарата. Наиболее распространенными путями нейромедиаторного контроля над внутриклеточным метаболизмом следует считать сопряжение работы соответствующих рецепторов с механизмами кальциевой проницаемости и регуляции АЦ и ГЦ. Практически все клетки организма содержат в составе плазматических мембран АЦ и ГЦ, катализирующие образование соответственно цАМФ и цГМФ. Возбуждение мембранных рецепторов приводит к изменению содержания в клетке вторичных посредников (цАМФ и цГМФ). Любой гормон или нейротрансмиттер воздействует на клетку через систему циклических нуклеотидов – универсальных регуляторов метаболизма, пролиферации и дифференцировки клеток. Результаты исследования показали, что олигоэфиры в дозе $1/100 \text{ LD}_{50}$ способны вызывать дисфункцию обмена циклических нуклеотидов. Внутриклеточные концентрации цАМФ и цГМФ претерпевали противоположно направленные изменения в ответ на токсификацию организма. Таким образом, анализ проведенных исследований позволяет судить, что олигоэфиры в дозе $1/100 \text{ LD}_{50}$ нарушают параметры

рецепторного связывания адреналиновых, дофаминовых, серотониновых, глюкокортикоидных рецепторов и внутриклеточный медиаторный циклазный каскад, что может быть сопряжено с развитием многих патологических состояний, которые формируются на фоне мембранной патологии. Олигоэфиры в дозе $1/10 LD_{50}$ оказывают активирующее влияние на систему «гуанилатциклаза-цГМФ» и ингибирующее действие на систему «аденилатциклаза-цАМФ», что сопряжено с уменьшением в структурах головного мозга содержания ПГЕ и повышением – ПГФ_{2α}. Данная ситуация обусловлена значительным напряжением защитно-компенсаторных механизмов, направленных на усиление восстановительных синтезов в поврежденных структурах головного мозга. Одним из ведущих механизмов в цепи развития структурно-метаболических нарушений может быть ингибирование энергетического обеспечения головного мозга, активация перекисного окисления липидов и развитие тканевой гипоксии, которые связаны с воздействием ксенобиотиков и изменением в системах регуляции внутриклеточного метаболизма.

Важным звеном в двухступенчатой передаче гормональных влияний на функцию клеток выступают ПГ, своеобразные гистогормоны, которые образуются различными клетками во всех органах и тканях. Установленные изменения динамики содержания ПГ и лейкотриенов свидетельствуют о возможной активации фосфолипазы А и монооксигеназы. Такого рода метаболические эффекты подтверждают мембранотропное действие изучаемых олигоэфиров и свидетельствуют о многообразии периферических проявлений, которые сопряжены с влиянием олигоэфиров. Они выполняют важную функцию в регуляции обмена цАМФ и цГМФ. ЦАМФ и цГМФ, выполняя функцию вторичных месенджеров, активируют цАМФ- и цГМФ-зависимые протеинкиназы, участвуют в синтезе и фосфорилировании белков, оказывая тем самым влияние на внутриклеточный обмен веществ и энергии, реализуют нейрогормональные эффекты на клетки. Основными биологическими

эффектами ПГ группы E являются расширение гладких мышц сосудов, бронхов, сокращение мышц матки, ингибирование желудочной секреции, гипотензивное действие, активация натрийуреза, воспалительные явления в тканях, подавление агрегации тромбоцитов, которые могут усиливаться и развиваться под влиянием олигоэфиров. Для ПГ группы F характерными являются такие их свойства как сужение сосудов, бронхов, сокращение матки, модуляция аденилатциклазной системы, антилиполиз. Повышение уровней ПГЕ₁ и ПГЕ₂, весьма часто подтверждает развитие онкологического процесса, а снижение содержания лейкотриенов В₄ свидетельствует о нарушении механизмов формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета.

Установленные нарушения динамики содержания ПГ и лейкотриенов свидетельствуют, что олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводят к развитию мембранной патологии и многообразию периферических проявлений, в основе которых лежит активация СРП и ПОЛ. ПГ играют роль местных регуляторов обменных процессов, однако они могут влиять и на соседние органы и ткани, а в некоторых случаях оказывать воздействие на весь организм, как классические гормоны, обладающие дистанционным действием. Существенное повышение содержания ПГ способно изменять внутриклеточный метаболизм, влиять на активность многих ферментов, нарушать баланс биологически активных соединений – циклических нуклеотидов, кофакторов, коферментов. Они непосредственно могут влиять на активность мембрано-структурированных ферментов – аденилат- и гуанилатциклазы, Na⁺, K⁺-зависимой АТФ-азы, НАД•Н-зависимых дегидрогеназ, ФДЭ, Ca²⁺, Mg²⁺-зависимой АТФ-азы. Влияние ПГ на метаболические процессы через внутриклеточный медиатор цАМФ захватывает большое количество ферментов, активность которых регулируется и зависит от этого внутриклеточного посредника. Изучение влияния олигоэфиров на содержание

ПГ группы F в сыворотке крови опытных животных выявило снижение уровня ПГF_{2α} и повышение – 6 кето-ПГF_{1α} под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Так, 1/10 LD₅₀ снижала содержание ПГF_{2α} – на 49,5 %; 39,32 % и 43,20 %, а 1/100 LD₅₀ – на 23,8 %; 28,15 % и 20,4 %. Вместе с тем, олигоэфиры в этих дозах повышали в сыворотке крови уровень простаглицлина (6 кето- ПГF_{1α}). При дозе 1/10 LD₅₀ отмечалось увеличение содержания 6 кето-ПГF_{1α} – на 142,8 %; 157,1 % и 133,3% и при дозе 1/100 LD₅₀ – на 98,4 %; 79,4 % и 55,6 %.

Анализ динамики лейкотриенов свидетельствует, что олигоэфиры способны нарушать механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета по сравнению с контролем. Исследование содержания лейкотриенов в сыворотке крови обнаружило увеличение уровня лейкотриена В₄ и снижение концентрации лейкотриена С₄ под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀ всех исследуемых веществ. Содержание лейкотриена В₄ повышалось под воздействием 1/10 LD₅₀ на 113,8 %; 119,4 % и 97,7 %, а при дозе 1/100 LD₅₀ – на 60,3 %; 50,1% и 42,3 %. Уровень лейкотриена С₄ в сыворотке крови снижался под влиянием 1/100 LD₅₀ – на 28,48 %; 30,14 % и 22,78 %, а при дозе 1/10 LD₅₀ наблюдалось более выраженное снижение этого показателя – на 65,15 %; 51,3 % и 56,3 %. Установленные нарушения содержания простаглицлинов и лейкотриенов свидетельствуют, что исследуемые олигоэфиры в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ изменяют местную регуляцию обменных процессов, нарушают механизмы формирования и развития реакций гиперчувствительности немедленного типа и кооперативное взаимодействие клеточного и гуморального иммунитета. Эти изменения могут привести к развитию мембранной патологии и многообразию периферических проявлений, в основе которых лежит активация свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов.

Диагностическими маркерными показателями структурно-метаболических нарушений организма являются показатели состояния

иммунологической реактивности. В ходе эксперимента на белых крысах установлено выраженное угнетение окислительно-восстановительных процессов. Изученные факторы снижают уровень биоэнергетического гомеостаза, что в свою очередь лежит в основе подавления клеточного и гуморального звеньев иммунитета организма крыс. В дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ олигоэфиры ингибируют функциональную активность клеточного звена иммунной системы, подавляют синтез регуляторных цитокинов (снижая содержание в сыворотке крови общую популяцию Т-лимфоцитов (CD3+), субпопуляций Т-лимфоцитов – Т-хелперов (CD 4+), Т-супрессоров (CD 8+) и β-лимфоцитов (CD19+) и медиаторов индукции острофазных реакций, что сопряжено с угнетением антителообразующей функции иммунокомпетентных клеток и нарушением кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета.

Содержание гликозаминогликанов, активность фермента эластазы и коллагенолитическая активность (КЛА) сыворотки крови способны дать ценную информацию о состоянии структурно-метаболических и обменных процессов в соединительной ткани. Изучение структурно-метаболического состояния соединительной ткани обнаружило высокую активность эластазы, КЛА плазмы крови и повышение содержания в сыворотке гликозаминогликанов при дозе 1/10 LD₅₀. Многие патологические процессы и заболевания сопровождаются структурно-метаболическими нарушениями со стороны соединительной ткани. К ним могут быть отнесены: атеросклероз, ревматоидный артрит, ревматизм, остеопороз, миодистрофии, системная склеродермия, дерматомиозит, хронические воспалительный заболевания внутренних органов и тканей др. Некоторые заболевания соединительной ткани связаны с наследственными нарушениями обмена коллагена и гликозаминогликанов. К ним могут быть отнесены несовершенный остеогенез, синдром Марфана (наследственное заболевание при котором наблюдаются аномалии коллагена α₂), синдром Элерса-Данлоса (общее название группы

нарушений обмена коллагена, которые сочетаются с дистрофией кожи, повышенной подвижностью суставов). При этом заболевании биохимические нарушения включают: дефицит коллагена типа II и лизилоксидазы, дефект фибронектина и нарушения проколлагена, аномальный обмен меди. Значительную группу наследственных заболеваний могут составлять мукополисахаридозы, при которых недостаточность лизосомальных ферментов приводит к накоплению гликозаминогликанов и возникновению различных клинических симптомов. Эти проявления связаны с малоподвижными суставами и низким ростом, кроме синдрома Маркио, который характеризуется повышенной подвижностью суставов и подвывихами первого и второго шейного позвонков. К заболеваниям соединительной ткани может быть отнесена болезнь Педжета, обусловленная формированием повышенного количества остеобластов, рахита, развивающегося в результате недостатка или нарушения обмена витамина D и т.д. Особую группу заболеваний соединительной ткани составляют опухоли костной ткани, легких, молочной железы, простаты и др. Вместе с тем, следует отметить, что в основе структурных нарушений соединительной ткани могут лежать различные вредные физические, химические и биологические факторы, которые формируют такие патологические состояния, как пневмофиброз, цирроз печени, дерматомиозит, вибрационная болезнь и др. Учитывая важную роль соединительной ткани в обеспечении целостности структурно-функциональных единиц организма, органов и тканей, исследовали влияние субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната на некоторые показатели обмена соединительной ткани в условиях подострого эксперимента. Показано повышение активности в сыворотке крови эластазы – на 419,7 % и 264,3 %, коллагенолитической активности – на 157,8 % и 67,79 % и содержания гликозаминогликанов – на 1029,7 % и 337,8 %, соответственно под воздействием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Результаты изучения субтоксического влияния олигоэфиров на белых крыс позволяют судить, что данные ксенобиотики способны в дозах 1/10 и 1/100

LD₅₀ вызывать структурно-метаболические нарушения в соединительной ткани, которая выполняет опорную, механическую, связующую, защитную, иммунологическую, дренажную, транспортную, пластическую и многие другие функции организма. Обнаруженные изменения мониторинговых показателей оценки состояния метаболической активности соединительной ткани позволяют судить о политропном действии олигоэфиров и многообразии патологических проявлений в условиях длительного субтоксического воздействия ксенобиотика на организм.

Маркерными диагностическими показателями оценки изменений, происходящих в организме животных и человека под воздействием олигоэфиров, являются микро- и макроэлементы. Изучение обмена ионов в органах и тканях животных, подвергавшихся воздействию 1/10 LD₅₀ олигоэфиров, показало, что содержание калия повышалось в сыворотке крови и снижалось в печени и семенниках. Уровни натрия снижались в сыворотке крови, печени и семенниках, что позволяет судить о развитии натрийурии. Содержание ионов кальция повышалось в сыворотке, печени и семенниках. Концентрации ионов магния, цинка, меди, железа, фосфора, марганца повышались в сыворотке крови и снижались в печени, семенниках. Такая динамика ионов металлов может свидетельствовать о выведении их из организма. Дефицит ионов металлов, а также их избыточное поступление в организм, приводит к нарушению обменных процессов и может явиться причиной развития патологических состояний. Вхождение их в основные биохимические метаболические системы – ферменты, гормоны, витамины, рецепторы, нуклеиновые кислоты, рибосомы, хроматиновый надмолекулярный комплекс – определяет их исключительную роль в обеспечении различных физиологических и биохимических процессов, транспорта аминокислот через мембраны, проведении нервного импульса и др. Ионы металлов выполняют широкий спектр различных функций организма – структурную, транспортную, гормональную, энерготрансформирующую, кофакторную, регуляторную,

детоксикационную, хемиосмотическую. Особая роль в этих процессах отводится ионам калия, натрия, магния, кальция, меди, цинка, железа, фосфора, марганца.

Регуляция микро- и макроэлементного обмена в организме осуществляется как нервной системой, так и железами внутренней секреции. Большинство авторов считают, что основным регуляторным механизмом обмена микроэлементов в организме является система гипофиз-кора надпочечников, функциональное состояние которой теснейшим образом зависит и связано с деятельностью центральной нервной системы. Именно эти системы в наибольшей мере подвержены изменениям при условии формирования патологических состояний. В связи с этим, можно судить, что дисбаланс ионов металлов в различных органах и тканях в условиях токсификации олигоэфирами сопряжен с нарушением кооперативного взаимодействия ЦНС и гипофизарно-надпочечниковой системы.

Установленная динамика обмена микро- и макроэлементов в организме экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиров, свидетельствует о них как о маркерных показателях структурно-метаболических нарушений, которые сопряжены с развитием дистрофических и деструктивных процессов. При таких условиях ионы металлов выходят из клетки, внутриклеточных структурно-функциональных единиц и поступают в межклеточное пространство и кровь. В этих условиях следует ожидать нарушения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, развития гипоксических процессов, нарушения энергетических и метаболических синтезов, что свидетельствует о срыве адаптационных и защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостатической функции организма, ведущая роль в которых принадлежит ЦНС и гипофизарно-надпочечниковой системе.

Диагностически значимым является влияние олигоэфиров в субтоксических дозах на содержание витамина Е (α - токоферола) в сыворотке

крови, витамина А и витамина С (аскорбиновой кислоты) в плазме крови. Следует отметить, что обмен таких витаминов как тиамин, рибофлавин, ниацин тесно связан с образованием коферментных форм этих витаминов (ТДФ, ФМН, ФАД⁺, НАД⁺, НАДФ⁺), которые обеспечивают активирующее влияние на окислительно-восстановительные процессы [19, 87, 256, 268]. Значительное снижение содержания этих витаминов под влиянием олигоэфиров указывает в первую очередь на ингибирование окислительно-восстановительного и биоэнергетического потенциала, что может быть сопряжено с нарушением обмена белков, углеводов, жиров, нуклеиновых кислот и преобладанием катаболических процессов, над анаболическими синтезами. Этим изменениям во многом может способствовать и дефицит витамина В₆ - пиридоксина, уровни которого также снижались в условиях воздействия на организм субтоксических доз ксенобиотика. Из всех исследуемых водорастворимых витаминов в наибольшей мере отмечалось снижение содержания в крови фолиевой кислоты – на 80,83 % и 55,48 %, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD₅₀. Известно, что коферментная форма фолиевой кислоты – тетрагидрофолиевая кислота – участвует в переносе одноуглеродных фрагментов. Она необходима для обеспечения нормального роста и кроветворения, играет исключительно важную роль в биосинтезе белков и нуклеиновых кислот. Вместе с тем, имеются данные, которые свидетельствуют, что гиповитаминоз фолиевой кислоты трудно вызвать даже без предварительного подавления в кишечнике роста микроорганизмов, синтезирующих ее в необходимых количествах для удовлетворения потребностей организма в этом витамине. Оценка динамики водорастворимых витаминов и, в первую очередь, фолиевой кислоты позволяет судить, что олигоэфиры при пероральном поступлении в организм снижают её уровень – на 80%, 55,5%, 5,5% соответственно в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 LD₅₀ и могут приводить к развитию дисбиоза желудочно-кишечного тракта, что в комплексе способно изменять метаболическую, иммунологическую, детоксикационную и

витаминовую функцию микрофлоры кишечника. Олигоэфиры при пероральном поступлении в организм в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ снижают содержание в организме ретинола – на 72,75 %, 16%, 2,76 % в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 LD₅₀; α-токоферола – на 73,68 %, 51,41 % в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀; аскорбиновой кислоты – на 79,6 %, 45 % и 2, 4% - в 1/10, 1/100 и 1/1000 LD₅₀, что может быть сопряжено с нарушением белкового, нуклеинового, жирового, углеводного, минерального обмена и биоэнергетических процессов, которые протекают на фоне развития дисбиоза, тканевой гипоксии и ингибирования системы антирадикальной, антиперекисной защиты организма. Исследования свидетельствуют, что длительное пероральное поступление в организм олигоэфирциклокарбоната в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ приводит к снижению антирадикальной и антиперекисной защиты. В связи с этим токсификация организма опытных животных может сопровождаться мышечной дистрофией, ингибированием иммунологического надзора, снижением стабильности цитоплазматических мембран, увеличением гемолиза эритроцитов и формированием гипохромной анемии. Эти патологические явления возможно корректировать добавлением в рацион животных специально разработанный витаминный комплекс, что и являлось целью диссертационного исследования.

Результаты свидетельствуют, что в условиях длительного воздействия на организм животных олигоэфиров развивается аутоинтоксикация организма, ведущими патогенетическими звеньями которой являются активация СРП, ПОЛ, белков, ингибция АОС, нарушение метаболического состояния мембран, внутриклеточного метаболизма, процессов биоэнергетики, которые формируют патогенез потери регулирующей функции интегративных систем контроля гомеостаза, как следствие действия на организм широкого спектра токсических продуктов, вызванных эндогенной интоксикацией и способных повреждать клетку. Анализ результатов позволил обосновать маркерные показатели оценки гомеостатической функции животных, под воздействием субтоксических доз олигоэфиров (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Маркерные диагностические показатели оценки гомеостатической функции организма животных, под воздействием субтоксических доз олигоэфиров в 1/10 и 1/100 LD₅₀

| Система – функция | Маркерные показатели |
|---|--|
| Оксидантно-антиоксидантная система и маркеры состояния интоксикации↑↓ | МДА↑↓, 2,4-ДНФАГ↑, 2,4-ДНФКГ↑, шиффовые основания↑; диеновые конъюгаты (ДК)↑; ТБК – активные продукты; восстановленный глутатион↓; сульфгидрильные группы [SH]↓; гаптоглобин↓; церулоплазмин↓, каталаза↓↑; супероксиддисмутаза (СОД)↓↑; глутатионпероксидаза (ГП)↓; глутатионтрансфераза (ГТ)↓; аспарагиновая (АсАТ)↑ и аланиновая аминотрансферазы (АлАТ)↑, гамма-глутаматтрансфераза (γ-ГТ)↑ |
| Структурно-метаболическая функция мембран↑ | СРО↑, ПОЛ↑, АОС↑ |
| Содержание фосфолипидов клеточных мембран ↑↓ | ФЭА↓, ФХ↑, СМ↓, ФС↓, ЛФЭА↓, ЛФХ↓, ФИ↓, КЛ↑ |
| Текущая мембран (коэффициент эксимеризации λ) лимфоциты, эритроциты↑ | Белок липидные контакты, липидный бислой лимфоциты↑, эритроциты↑ |
| Самопроизвольный и индуцированный валиномицином выход ионов K ⁺ из эритроцитов↑ | Скорость самопроизвольного выхода ионов K ⁺ и эритроцитов↑, скорость индуцированного валиномицином выхода K ⁺ ↑, суммарное количество K ⁺ ↑ |
| Гипоталамо-гипофизарно-эпифизарно- тиреоидный, надпочечниковый нейро-эндокринный комплекс↑↓ | АКТГ↑, кортизол, ТТГ↓, Т3↑, Т4↑, кальцитонин↓, паратирин↓, мелатонин↓, ГАМК↓, глутамат↓, серотонин↑ |
| Маркеры степени активности патологического процесса в различных органах↑ | Моноаминоксидазы, тромбоцитарная моноаминоксидаза (МАО-В)↑, дофамин↓, адреналин↓, норадреналин↓, ДОФА↓, серотонин↑ |
| Маркеры состояния обмена L-триптофана↑ | L-триптофан↓, серотонин↑, 5ОИУК↑, мелатонин↓, индикан↑, аммиак↑, ТДО↑ |
| Маркеры белкового обмена ↑ | Белок↓, альбумины↓, креатинин↑↓, мочевина↑, АсАТ↑, АлАТ↑ - сыворотка; глобулины - печень↓, гистоны - печень↓ триптофан 2,3-диоксигеназа↓ |

продолж. табл. 7.1

| | |
|--|--|
| Маркеры липидного обмена↑ | Кетоновые тела↑, свободные жирные кислоты↑, холестерин↑, МДА↑, ДК↑, ЛФХ↓, ФИ↓, КЛ↑ |
| Маркеры углеводного обмена↓ | Глюкоза↓, гликоген↓, глюкозо-6-фосфатаза↓ |
| Биоэнергетический гомеостаз – развитие мембранной патологии (активность свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов)↑, фосфоресценция ↑, энергетический потенциал↓ | Интенсивность спонтанной хемилюминисценции (СХЛ)↑ и индуцированной хемилюминисценции перекисью водорода (H ₂ O ₂ -ИХЛ)↑, хлорным железом (FeCl ₃ -ИХЛ)↑, люминол-зависимой H ₂ O ₂ -ИХЛ сыворотки крови↑, фосфоресценции↑, энергетический потенциал: АТФ+1/2АДФ и АТФ+АДФ+АМФ↓ |
| Состояние функции детоксикации↓↑ | УДФ-глюкуронилтрансфераза↓, общие и связанные глюкурониды↓, арилсульфотрансфераза↓, N-ацетилтрансфераза↑, КоА↑, глутатион-S-трансфераза↓, восстановленный глутатион↓, окисленный глутатион↑, цистеин↓, O-деметилазная активность микросом печени (O-деметилаза, НАДФ·Н и НАД·Н цитохром-C-редуктазы↑)↑ |
| Содержания ионов Me в сыворотке / печени | K ⁺ ↑/↓, Na ⁺ ↓/↓, Ca ²⁺ ↑/↑, Mg ²⁺ ↑/↓, Zn ²⁺ ↑/↓, Cu ²⁺ ↑/↓, Fe ²⁺ ↑/↓, P↑/↓, Mn↑/↓ |
| Маркеры коллагенолитической активности | Эластаза↑, гликозаминогликаны↑, коллагенолитическая активность сыворотки↑ |
| Специфический иммунитет, сопряженность взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета↓ | CD3↓, CD4↓, CD8↓, CD19↓, ФНО-α↓, IL-1B↓, IL-2↓, IL-4↓, IL-6↓ IL-↓ IgA↓, IgM↓, IgG↓, IgE↓, IgD↓ |
| Витаминный обмен↓ | Ретинол↓, α-токоферол↓, аскорбиновая кислота↓, В1 – тиамин↓, В2 – рибофлавин↓, витамин PP – никотинамид, никотиновая кислота↓, витамин В9 (фолиевая кислота)↓, пиридоксин – витамин В6↓ |

ГЛАВА 8

РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО- МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СУБТОКСИЧЕСКОМ ВЛИЯНИИ ОЛИГОЭФИРОВ

Одной из поставленных в диссертационном исследовании задач является изучение и обоснование чувствительности и информативности различных методов исследования, применимых для оценки структурно-метаболических нарушений организма животного при воздействии субтоксических доз олигоэфиров. Однако показатели оценки состояния функционирования биосистемы носят интегральный характер, а описанные в работе методы исследования, как правило, дают возможность охарактеризовать лишь отдельные параметры функционирования органов и систем. При разработке и обосновании принципов ранней диагностики организма и патогенетической коррекции структурно-метаболических нарушений при длительном субтоксическом влиянии олигоэфиров, выявили, что активными вредными факторами, воздействующими являются химические вещества в субтоксических дозах на основе окиси этилена и пропилена - Лапрол 501-2 - 100, Лапролат 803 (Лт - 803), Лапрол 1601-2 -50 «Р», Лапрол 1601-2-50 «Б», Лапрол 2501 -2-50. Для исследования структурно-метаболических нарушений в организме экспериментальных животных при их воздействии использованы интегральные биофизические методы – БХЛ, фосфоресценция и методы оценки состояния интегративных систем организма – нервной, гормональной, иммунной. Критериально-значимой особенностью оценки системы контроля гомеостаза служил метод биохемилюминисценции, который давал возможность сравнить непрерывное спонтанное свечение тканей и клеток организма с индивидуальной для каждой ткани и биологической жидкости интенсивностью без воздействия химического фактора и с воздействием указанных соединений.

Этот метод является прогностическим для оценки состояния здоровья организма в связи с возможностью судить о степени нарушения гомеостаза и давать заключение об отдаленных эффектах воздействия химических веществ. Следующей отличительной особенностью диагностики структурно-метаболических нарушений в диссертационной работе является закономерные изменения физиологических процессов и функционального состояния нервной системы, которая является координатором ответных реакций организма на воздействие любых агентов внешней среды. Характерной чертой длительного воздействия субтоксических доз олигоэфиров на раннем этапе воздействия является незначительность, нестойкость и обратимость вызываемых функциональных нарушений, которые мы рассматриваем как приспособительные реакции организма, а затем как дезадаптацию биосистемы. Важное значение, при диагностике структурно-метаболических нарушений, приводящих к изменению гомеостаза, уделяется адаптационной функции ЦНС. Ключевая позиция принадлежит аминокислотам-нейромедиаторам, обладающим возбуждающим действием – глутамату и аспартату и, обладающим тормозящим действием на ЦНС – это аминокислоты – нейромедиаторы ГАМК, лейцин, пролин, серин и таурин. Тесная связь существует и между интенсивностью гормонального сигнала, состоянием рецепторного звена и функции системы внутриклеточной медиации. При снижении уровня адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина в органах и тканях происходило уменьшение сродства к лигандам и мест связывания и соответственно к активации системы цАМФ – аденилатциклазы. Исследования показали, что гормональный сигнал не может реализовать функцию рецепторного звена клетки и соответственно приводит к существенным нарушениям внутриклеточного метаболизма. Активирующим фактором в образовании цАМФ и цГМФ выступает группа эйкозаноидов, которые необходимо перевести в активную форму активацией адреналина, норадреналина на рецепторное звено клетки (α - и β -рецепторы). Однако под воздействием олигоэфиров сродство к лигандам адренорецепторов снижается и

затрудняется стимулирующее влияние эйкозаноидов на цАМФ и цГМФ. Указанная динамика изменений является диагностически свойственной мембранотропному действию ксенобиотиков. К тому же накопление в организме под влиянием олигоэфиров перекисей, гидроперекисей, радикалов, малонового, уксусного альдегидов, ацетонов, спиртов приводит к истощению антиоксидантной системы. А именно снижается содержание SH-групп, гемоглобина, глутатиона, витамина С, гаптоглобина, адреналина, микроэлементов, а также ЛДГ, СДГ, МАО, КФК, ФФК, АсАТ, АлАТ, церулоплазмина, МДГ, АЦ, γ -ГТ, КФ, Г-6-ФДГ, альдолазы, холинэстеразы, Ca^{2+} - и Mg^{2+} -АТФ-аз. Диагностические показатели нарушения структуры мембран и структурно-функционального комплекса рецепторного аппарата клетки, появление дыр в гидрофобном слое мембран, снижение содержания микроэлементов и полимеризация белков ферментов (снижение активности маркерных ферментов плазматических мембран – Na^+ -, K^+ -АТФ-аз, АЦ; эндоплазматической сети – НАДФ·Н, Ca^{2+} - и Mg^{2+} -АТФ-аз; митохондрий – МАО, МДГ, СДГ; лизосом; пероксисом – каталазы, пероксидазы; синапсом – ацетилхолинэстеразы) блокировали нейрогуморальную регуляцию процессов внутриклеточного метаболизма, нарушали биоэнергетику, биосинтетические процессы, окислительное фосфорилирование, формируя свободнорадикальную патологию. Длительная активация свободнорадикального окисления в организме животных под субтоксическим влиянием олигоэфиров представляет собой концептуальную модель их биологического действия.

В связи с вышеизложенной концепцией нами было выбрано наиболее действующее в наших исследованиях на организм белых крыс химическое соединение – олигоэфир Л-501-2-100 в субтоксической дозе 1/100 LD₅₀. Из всех изучаемых химических соединений мы получили подтверждение в оценочных показателях о структурно-метаболических нарушениях при действии этого олигоэфира в указанной дозе на организм. Поиск способа ингибирования СРП, ПОЛ, механизмов развития мембранной патологии и коррекции

метаболических нарушений заключался в концепции системно-антисистемного взаимодействия. Для этого мы проанализировали возможное антисистемное воздействие на свободнорадикальную патологию и повреждение клеточных мембран, в том числе, удобный для применения в эксперименте на животных способ коорекции структурно-метаболических нарушений, вызванных олигоэфирами.

С целью подтверждения патогенетического значения установленных механизмов при действии изучаемых химических соединений, нами также исследованы данные механизмы в условиях применения антирадикального, антиоксидантного, витаминно-минерального комплекса.

Изучение состояния оксидантно-антиоксидантных процессов под влиянием олигоэфира Л-501-2-100 в субтоксической дозе $1/100 LD_{50}$ и в условиях использования мембранопротекторного комплекса, имеющего антирадикальную направленность, проводилось на основании анализа результатов исследования патофизиологических механизмов структурно-метаболических нарушений при действии на организм олигоэфиров.

Анализ проведенных исследований свидетельствует, что олигоэфиры в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ в условиях длительного поступления в организм пероральным путем способны вызывать развитие мембранной патологии. Диагностическими критериально-значимыми показателями её обнаружения являлись: активация СРП, ПОЛ, окислительной модификации белков, нарушение барьерных и матричных свойств мембран, активности мембраносвязанных ферментных комплексов. Эти показатели являются информативными и высокочувствительными при оценке степени тяжести морфофункциональных изменений. В основе развития мембранной патологии лежат оксидативный стресс, нарушение оксидантно-антиоксидантного взаимодействия, процессов биоэнергетики. Они позволили определить начальные и обратимые проявления мембранной патологии, степень интоксикации и стадию морфофункциональных нарушений в организме,

отражающую срыв защитно-компенсаторных механизмов обеспечения гомеостаза на основе селективной информативности исследуемых тестов. Установленные закономерности реакции организма на токсическое воздействие олигоэфиров послужили основой для разработки биохимических коррелят и диагностики преморбидных состояний. Олигоэфиры при длительном поступлении способны трансформировать физиологические реакции в патологические и формировать болезнь. Исследования показывают, что донозологическая диагностика преморбидных состояний основывается на динамических показателях структурно-функционального состояния биомембран, системно-антисистемном взаимодействии и динамическом изменении биохимических коррелят, которые имеют дозозависимый характер изменений и протекают на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях. Это дает возможность выявить наиболее повреждаемые системы и функции организма с позицией синдромального патогенетического подхода и определить концентрации веществ, безопасные для человека и окружающей среды. Следует подчеркнуть, что такой подход предусматривает глубокое изучение механизмов биологического действия ксенобиотиков, выявление специфических структурно-метаболических нарушений, наиболее чувствительных органов-мишеней, где ведущее звено в цепи развития дистрофических нарушений принадлежит мембранам. В связи с этим оценка состояния мембран по критериально-значимым показателям, характеризующим системно-антисистемное взаимодействие, в наибольшей мере отражает концепцию донозологической диагностики преморбидных состояний в условиях воздействия вредных химических факторов на организм.

Системно-антисистемное кооперативное взаимодействие может проявляться в виде синхронизации усиления функций двух систем, десинхронизации: усиление одной и ослабление другой, и синхронизации ослабления активности систем, что отражает соответственно повышение,

истощение и срыв защитно-приспособительных механизмов. Согласованность системно-антисистемных метаболических процессов обеспечивает высокую функциональную надежность биосистем и адаптацию организма к меняющимся условиям средовых факторов. Исследования показывают, что обратный принцип системно-антисистемных связей предусматривает не антагонистический, а содружественный характер отношений, которые стабилизируют и поддерживают гомеостаз. При патологических состояниях эти отношения превращаются в антагонистические и сопряжены со срывом защитно-приспособительных механизмов, ведущим к нарушению жизнедеятельности организма. Этот принцип присущий всем биологическим системам независимо от уровня их структурно-функциональной организации. Исследования, например, показывают, что активация оксидантной системы возбуждающими факторами сопряжена с индукцией антиоксидантной системы и формирует механизмы адаптации для обеспечения гомеостатической функции организма. Чрезмерное и длительное активирующее воздействие на прооксидантную систему приводит к изменению системно-антисистемных взаимодействий и дефициту антиоксидантной системы, что проявляется нарушением защитно-приспособительных механизмов, ведущую роль в которых играют интегративные системы контроля гомеостаза. Это приводит к образованию «порочного» круга, развитию заболевания и гибели биосистемы [160, 161, 162]. Результаты исследования показали, что олигоэфир Л-501-2-100 в субтоксической дозе 1/100 LD₅₀ повышал содержание в сыворотке крови МДА – на 37,5 %; 78,8 %; 118,4 % и 145,2 %, соответственно – на 15, 30, 45 и 60 сутки наблюдения (табл. 8.1). Содержание ДК имело сходную динамику и повышалось – на 57,0 1%; 90,52 %; 140,32 % и 182,9 % в указанные сроки наблюдения. Эти данные свидетельствуют о том, что олигоэфир способен стимулировать СРП и ПОЛ в условиях субтоксического воздействия олигоэфиров на организм 1/100 LD₅₀.

Таблица 8.1

Влияние олигоэфира Л-501-2-100 в субтоксической дозе 1/100 LD₅₀ на состояние оксидантно-антиоксидантных процессов

| Показатели | Динамика наблюдения (M±m), сутки | | | | |
|---|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| | Контроль n=15 | 15 n=15 | 30 n=15 | 45 n=15 | 60 n=15 |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 5,20±0,46 | 7,15±0,86* | 9,30±0,77* | 11,36±1,14* | 12,7±1,14* |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 24,8±1,35 | 38,9±2,45* | 47,25±2,68* | 59,60±3,84* | 70,16±3,85* |
| Каталаза (мкат/г Нв), гемолизат крови | 4,20±0,48 | 7,43±0,67* | 8,27±0,73* | 2,30±0,25* | 1,87±0,16* |
| ГПО (мкат/г Нв), гемолизат крови | 6,70±0,54 | 8,96±0,58* | 9,38±0,64* | 4,15±0,43* | 3,94±0,33* |
| СОД (ЕД/мл сыворотки · мин) | 1,52±0,16 | 2,84±0,32* | 3,56±0,27* | 3,88±0,32* | 4,40±0,37* |
| ЦП (мкмоль/л), сыворотка | 2,35±0,22 | 3,26±0,24* | 4,75±0,44* | 5,82±0,47* | 6,20±0,68* |
| Г – SH (ммоль/л), кровь | 2,14±0,18 | 1,65±0,19* | 1,34±0,23* | 0,77±0,08* | 0,67±0,07* |
| SH – группы (ммоль/л), кровь | 27,4±1,65 | 21,5±2,2* | 16,7±1,84* | 14,5±1,23* | 38,45±2,80* |
| H ₂ O ₂ – ИЛЗБХЛ (имп/с), сыворотка | 750,6±38,9 | 1687,4±45,7 * | 1795,3±60,2 * | 1630,4±32,5 * | 520,6±38,4* |

Примечание: * - различия достоверные, p<0,05

Вместе с тем следует отметить иную динамику активности фермента каталазы. Её активность значительно повышалась на 15-е и 30-е сутки подострого воздействия олигоэфира, а в последующие сроки, активность данного фермента снижалась. Так, на 15 и 30 сутки опыта её уровни увеличивались – на 76,9 % и 96,9 %, а на 45 и 60 сутки наблюдения снижались на 45,24 % и 55,48 %, что можно рассматривать как ингибирование антиперекисной защиты организма при длительном влиянии ксенобиотика.

Аналогичная динамика активности была выявлена и со стороны глутатионпероксидазы: на 15 и 30 сутки её значения повышались в крови – на 37,7 % и 40,0 %, тогда как на 45 и 60 сутки активность фермента падала – на 38,06% и 41,20%, что также убедительно подтверждает снижение антиперекисной защиты организма под воздействием испытуемой дозы олигоэфира. Активность СОД во все сроки наблюдения повышалась: на 15 сутки – на 86,8%; 30 сутки – на 134,2%, 45 сутки – на 185,26% и 60 сутки – на 189,47%, что указывает на активацию СРП и накопление АФК. При этом следует отметить и постепенное увеличение активности церулоплазмينا, которая повышалась – на 38,7 %; 102,12 %; 147,65 % и 68,70%, соответственно на 15, 30, 45 и 60 сутки опыта. Активность СОД и ЦП в комплексе обнаруженных изменений убедительно свидетельствует о стимуляции СРП, ПОЛ и накоплении значительного количества окислителей, обладающих мембраноповреждающим действием. Изучение содержания в крови Г – SH обнаружило снижение его уровня – на 22,9 %; 37,4 %, 64,02 % и 68,70 %, соответственно на 15, 30, 45 и 60 сутки эксперимента. Эти данные хорошо согласуются с активностью фермента ГП в указанные сроки наблюдения (табл. 8.1). Вместе с тем, следует отметить снижение содержания SH-групп на 15, 30, 45 сутки соответственно на 21,54 %; 39,06 % и 47,09 %, и значительное его повышение на – 40,32% - на 60 сутки подострого опыта.

Исследования многих авторов свидетельствуют, что такая динамика содержания SH-групп может быть связана с развитием мембранной патологии

и дистрофическими и деструктивными процессами, которые формируются в результате воспалительной реакции и гипоксии органов и тканей [3, 4, 5, 12, 14].

Анализ динамики интенсивности H_2O_2 -индуцированной люминол-зависимой биохемилюминисценции позволяет судить, что Л-501-2-100 в дозе 1/100 LD_{50} стимулирует СРП и ПОЛ, которые сопряжены с усилением интенсивности сверхслабого свечения – на 124,8%; 139,18% и 117,2% соответственно на 15, 30 и 45 сутки опыта. При этом интенсивность H_2O_2 -индуцированной люминол-зависимой БХЛ сыворотки крови на 60 сутки опыта снижалась на 30,65%, что может быть связано со значительным содержанием свободных SH-групп, которые являются гасителями электронных возбужденных состояний: свободных радикалов, АФК, перекисей и др.

Результаты оценки состояния оксидантно-антиоксидантных процессов у группы животных, которые дополнительно получали антирадикальный и антиперекисный комплекс, выявили существенное снижение в сыворотке крови по сравнению с первой группой наблюдения МДА, диенов и более продолжительную активацию ферментов антирадикальной защиты (табл. 8.2).

Так, у данной группы животных в более поздние сроки отмечалось увеличение МДА и ДК, хотя их уровни и повышались – на 32,5 %; 72,5 %; 71,9% и 43,5 %; 62,5%; 95,56%, соответственно на 30, 45, 60 сутки воздействия олигоэфирами. Активность каталазы повышалась – на 37,1 %; 49,5 % 71,42 % и снижалась – на 25 % в указанные сроки наблюдения (15, 30, 45 и 60 сутки). Вместе с тем, следует отметить, что на 60-е сутки опыта без использования нутритивного антирадикального комплекса активность каталазы снижалась более чем – на 55%. Глутатионпероксидазная активность повышалась – на 24,6 %; 33,4%; 30,5% и снижалась – на 28,96%, соответственно – на 15, 30, 45 и 60 сутки опыта.

Таблица 8.2

Влияние 1/100 LD₅₀ олигоэфира Л – 501 – 2 – 100 на состояние оксидантно-антиоксидантных процессов при использовании антрадикального и антиперекисного нутритивного комплекса

| Показатели | Динамика наблюдения (M±m), сутки | | | | |
|---|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Контроль n=15 | 15 n=15 | 30 n=15 | 45 n=15 | 60 n=15 |
| МДА (мкмоль/л), сыворотка | 5,20±0,46 | 5,76±0,54 | 6,89±0,62* | 8,99±0,47* | 8,94±0,67* |
| ДК (мкмоль/л), сыворотка | 24,8±1,35 | 28,2±2,77 | 35,6±2,54* | 40,3±3,15* | 48,5±3,58* |
| Каталаза (мкат/г Нв), гемолизат крови | 4,20±0,48 | 5,76±0,36* | 6,28±0,48* | 7,20±0,68* | 3,15±0,22* |
| ГПО (мкат/г Нв), гемолизат крови | 6,70±0,54 | 8,35±0,62* | 8,94±0,57* | 8,75±0,63* | 4,76±0,39* |
| СОД (ЕД/мл сыворотки · мин) | 1,52±0,16 | 2,40±0,18* | 2,57±0,26* | 2,73±0,19* | 2,84±0,23* |
| ЦП (мкмоль/л), сыворотка | 2,35±0,22 | 2,88±0,31* | 3,15±0,28* | 3,67±0,32* | 4,53±0,36* |
| Г – SH (ммоль/л), кровь | 2,14±0,18 | 2,05±0,20 | 1,97±0,23 | 1,35±0,08* | 1,24±0,12* |
| SH – группы (ммоль/л), кровь | 27,4±1,65 | 25,8±1,76 | 24,9±2,15 | 19,3±1,65* | 15,3±1,24* |
| H ₂ O ₂ – ИЛЗБХЛ (имп/с), сыворотка | 750,6±38,9 | 1050,4±45,3* | 1087,6±50,8* | 1263,4±48,2* | 1280,5±37,2* |

Примечание: * - различия достоверные, p<0,05

Супероксиддисмутазная активность во все сроки наблюдения увеличивалась: на 15 сутки – на 57,89 %, на 30 сутки – на 69,07%, на 45 сутки – на 79,6 % и на 60 сутки – на 86,84 %. Аналогичная динамика активности была присущая и церулоплазмину: на 15 сутки его активность повышалась на 22,55%, на 30 сутки – на 34,04 %, на 45 сутки – на 56,17 % и на 60 сутки – на 92,76 %. Содержание Г – SH практически не изменялось в крови на 15 и 30 сутки, тогда как на 45 и 60 сутки его уровни снижались – на 26,92 % и 42,06 %. Содержание SH-групп на 15 сутки в крови не изменялось, тогда как на 30, 45 и 60-е сутки их уровни снижались – на 9,13 %; 29,57 % и 44,17 % соответственно. Интенсивность индуцированной люминол-зависимой БХЛ увеличивалась – на 39,94%; 44,89%; 68,3% и 70,59%, в исследуемые сроки динамического наблюдения за состоянием СРП, ПОЛ и антиоксидантной активностью.

Выбор данного нутритивного комплекса (в качестве антирадикального комплекса дополнительно к рациону 1500 МЕ ретинола, 4,5 мг токоферола, по 15 мг метионина, глутаминовой, лимонной и аскорбиновой кислот, 15 мг зеленого чая и 75 мг фосфатидного концентрата в сутки на животное) был обоснован данными о влиянии его содержания на процессы метаболизма ксенобиотиков. А именно, его антиоксидантно стимулирующее действие на адапационно – компенсаторные процессы организма. Известно, что витамины – это коферменты белковых структур. Обладая коферментными свойствами, они участвуют в биосинтезе гема, цитохрома P₄₅₀, УДФ – глюкуроновой кислоты. Кроме того витамины участвуют в защитной антиоксидантной системе. Витамины – антиоксиданты: Е, С, А нейтрализуют активные формы кислорода СРО (особанно ПОЛ), предупреждая мутагенно-токсическое действие на геном клетки.

Витамин Е – сильнейший антиоксидант, способствующий сохранению и функции биологических мембран благодаря защите липидного слоя мембран от повреждения свободными радикалами, подавляет метаболизм арахидоновой кислоты, стимулирует клеточный иммунитет, регулирует дифференцировку и

останавливает активную пролиферацию клеток, стимулирует активность мембраносвязывающего фермента – цитохрома P₄₅₀, замедляет старение организма и предотвращает от развития рака кожи. Витамин Е способствует усилению активности ферментных антиоксидантных систем и активирует эпексидгидратацию в печени. Так, витамин А в микросомах влияет на концентарцию цитохрома P₄₅₀ и скорость метаболизма субстратов микросомального окисления, в печени изменяет процессы конъюгации чужеродных веществ, влияент на активность УДФ-глюкуранилтрансферазы, на донорский субстрат сульфоконъюгации фосфоаденозилфосфосульфата вследствие изменения АТФ-сульфуриказы. В легких этот витамин влияет на баланс активности монооксигеназной системы как механизм метаболической активации ксенобиотиков и активност процессов конъюгации. Также, что очень важно в качестве антиканцерогенного действия ретинола, его регулирующая роль в процессе дифференцировки клетки (особенно эпителиальных тканей), влияние его на активность противокислительного фермента – глутатиона, угнетением продуктов перекисного окисления липидов, усилением гуморального и особенно клеточного иммунитета.

Широко известна роль витамина С в неспецифическом повышении сопротивляемости организма к неблагоприятным факторам, его участие в регенерации витамина Е, биотрансформации ядов выступает в роли антиоксиданта, удерживая железо гидроксидирующего фермента в восстановленном (Fe²⁺), инактивирует свободные радикалы, метаболизм циклических нуклеотидов, ПГ и гистамина. Как антоксидант предохраняет мембраны клеток (лимфоцитов) от повреждающего действия ПОЛ – это основа его иммуностимулирующего эффекта, который проявляется в действии витамина С на гуморальтные и клеточные механизмы иммунитета, миграцию лимфоциты, хемотаксис, синтез и освобождение интерферона. Его недостаток в питании снижает концентрацию цитохрома P₄₅₀ в печени, надпочечниках и селезенке, активность НАДФН-цитохромредуктазы и скорость

гидрокислирования субстратов в микросомах печени. Все перечисленные антиоксидантные свойства витаминов убедительно свидетельствуют об их исключительной роли в процессах антирадикальной антиперекисной нутритивной защиты от длительного сутоксического влияния олигоэфиров.

Результаты исследования свидетельствуют, что олигоэфир Л-501-2-100 в дозе 1/100 ЛД₅₀ стимулирует СРП, ПОЛ, истощает систему антрадикальной и антперекисной защиты на фоне развития дистрофических и деструктивных процессов, в основе которых лежит молекулярная мембранная патология.

Использование нутритивного антирадикального, антиперекисного комплекса ингибирует СРП, ПОЛ, активирует АОС и повышает устойчивость биологических мембран к токсическому воздействию олигоэфиров, обладая мембранопротекторными и антигипоксическими свойствами, что позволяет рекомендовать его для рабочих производств олигоэфиров как фактор мембранопротекторного действия.

Таким образом, анализ динамических показателей системно-антисистемного взаимодействия позволяет судить о срыве адаптационных и защитно-приспособительных механизмов обеспечения гомеостаза у групп животных, подвергавшихся воздействию олигоэфиров в 1/100 LD₅₀, и о значительном повышении адаптационных возможностей организма при использовании дополнительно в рационе кормления животных антирадикального, антиперекисного нутритивного комплекса, повышающего уровень АОС и антирадикальной защиты.

ГЛАВА 9

АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из задач патологической физиологии является изучение патогенного действия химических факторов внешней среды на организм и разработка принципов и методов лечения вызываемого ими патологического процесса – интоксикации.

Дальнейший экономический прогресс и улучшение качества жизни людей возможны только с улучшением качества существования экосистемы, ключевой позицией которой являются воды источников, используемые человеком для производственных нужд, культурно-бытового и особенно питьевого водопользования. Современные научные исследования широко освещают проблему химического загрязнения окружающей среды и влияния его на экосистемы. Химические вещества в организме вызывают, прежде всего, изменения метаболизма, а также структуры и функции [63, 69, 70, 92, 139, 161, 220, 236, 258, 338].

Сегодня осуществляются мероприятия по охране окружающей среды. Разрабатываются и усовершенствуются методы очистки производственных выбросов химических веществ в атмосферный воздух, производственные и бытовые сточные воды, технологические процессы производства химикатов. Однако принимаемые меры не могут в полном объеме исключить или предотвратить воздействие химических веществ на биосистемы и организм в целом [25, 26, 32, 37, 333].

В настоящее время актуальным является определение тонких, молекулярных, механизмов развития экзогенной химической интоксикации вообще и эффектов и механизмов биологического действия новой группы олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена, в частности [236, 328]. Эти олигоэфиры нашли широкое использование для получения искусственной кожи, пенопластов, термопластов, пластмасс, эпоксидных смол, полиуретанов,

эмалей, лаков, гидравлических и тормозных жидкостей. Соответственно они характеризуются большими объемами производства, широким ассортиментом продукции на их основе, большим контактом населения с ними. С другой стороны, расширение масштабов химического производства способствует увеличению количества сточных вод, в том числе поддающихся «сомнительному» очищению. Химические токсические вещества могут активно вмешиваться в течение нормальных процессов жизнедеятельности организма, метаболизируя, они приобретают большую полярность и, как следствие, большую гидрофильность. Таким образом, изменение структуры влечет за собой изменение фармакодинамических свойств, а увеличение растворимости ускоряет экскрецию.

Проявления интоксикации, её механизмы чрезвычайно разнообразные, поскольку зависят от действия токсического вещества, его физико-химических свойств, сопряженности с определенными органами, физиологическими системами, тканями, субклеточными структурами, рецепторами, ферментами и т. д. [293, 294]. Большое значение при экзогенной интоксикации имеют доза (концентрация) токсического вещества, режим (кратность и длительность) действия [54, 55, 138, 171, 194, 202]. Изучение влияния олигоэфиров на биосистему проводилось в субтоксических дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 LD₅₀. Доза 1/1000 LD₅₀ оказалась не действующей, 1/100 LD₅₀ – активирующей процессы детоксикации организма, а 1/10 LD₅₀ – инактивирующей или вызывающей интоксикацию организма животного. Поэтому в работе были детально исследованы структурно-метаболические нарушения в организме при действии на организм в целом олигоэфиров, механизмы их влияния на уровне биомембран, внеклеточных и внутриклеточных медиаторов, высших регуляторных систем, активность систем детоксикации, и на этом основании предложено патогенетическое обоснование принципов ранней диагностики и коррекции выявленных нарушений. Эти нарушения отмечаются на разных уровнях организации организма (рис. 9.1).



Рис. 9.1. Схема нарушений под влиянием субтоксических доз олигоэстрогенов на разных уровнях организации организма.

Однако тяжесть интоксикации в значительной мере определяется реактивностью организма [126]. В свою очередь, реактивность организма определяется состоянием регуляторных систем – нервной, эндокринной, иммунной, физиологически активных веществ – медиаторов, – а при интоксикации большое значение имеют также функциональные возможности механизмов резистентности (систем эндогенной химической детоксикации). Отсюда возникает необходимость научного обоснования и разработки концепции ранней диагностики и коррекции структурно-метаболических нарушений, возникающих при действии на организм олигоэфиров.

В предыдущих наших научных работах, которые не вошли в объем данных исследовательских задач, мы изучали олигоэфиры разных марок, т. е. отличающиеся по физико-химическим свойствам. Как показали результаты, они вовлекают одни и те же механизмы повреждения и защиты, что говорит об общности механизма их действия. А именно: изучалась метаболическая активность митохондрий и микросом гепатоцитов; оценивались мониторинговые показатели белкового обмена в крови – мочевины, креатинина, общего белка и альбуминов; исследовалось состояние белкового, углеводного, липидного, минерального обмена и функция детоксикации печени; определялось состояние оксидантно-антиоксидантного гомеостаза, тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование, содержание АТФ, АДФ, АМФ, неорганического фосфата, цАМФ, цГМФ, МДА, ДК, активность каталазы, церулоплазмينا и СОД, исследовались показатели иммунитета организма животных.

Для реализации цели исследования нами были проведены эксперименты по обоснованию концепции нарушений структуры и метаболизма и их механизмов на разных уровнях организации организма – молекулярном, клеточном, органном, тканевом и организменном под влиянием олигоэфиров в условиях подострого эксперимента. Согласно цели и задач исследования определена методически обозначенная программа экспериментальных исследований с использованием адекватных высокоинформативных методов.

При планировании исследований и интерпретации полученных результатов учитывали строение и физико-химические свойства изучаемых олигоэфиров, а именно, наличие гидрофильных групп и гидрофобных радикалов придает этим веществам свойства поверхностно-активных веществ, способность к химическим превращениям с образованием биологически активных соединений. Получено непосредственное влияние олигоэфиров на биомембраны и опосредованное через продукты биотрансформации. В процессе биотрансформации олигоэфиров появляются более активные в токсическом отношении соединения, хотя преобладающее число метаболитов является менее биологически активным. Очевидно, что метаболизм олигоэфиров представляет собой важное звено в механизме биологического действия изучаемых групп соединений. Ведущая роль в биотрансформации химических веществ принадлежит ферментативной системе, которая способна увеличивать гидрофильность значительного числа субстратов. Большинство из химических соединений метаболизируется в печени, продукты биотрансформации поступают в желчь, кишечник и выводятся из организма, или поступают в почки и выводятся с мочой. Частично процесс дезорганизации веществ происходит в почках, легких, коже и других органах.

Первым и существенным разделом наших исследований были патофизиологические механизмы структурно-метаболических нарушений в организме при длительном субтоксическом влиянии олигоэфиров, где были изучены: состояние физико-химических и структурно-метаболических свойств биологических мембран в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров; влияние олигоэфиров на состояние системно-антисистемного взаимодействия СРП, ПОЛ, белков и АОС; состояние мониторинговых показателей белкового, углеводного, липидного, минерального и нуклеинового видов обмена в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров; влияние субтоксических доз олигоэфиров на гидроксимилирующую МОС микросом гепатоцитов, процессы дезаминирования; особенности метаболизма олигоэфиров в условиях длительного субтоксического влияния на

организм; состояние обезвреживающей функции печени экспериментальных животных в условиях длительного субтоксического воздействия олигоэфиров; состояние NO-синтазной окислительной системы и декарбоксилазной активности организма; содержание макроэргических соединений, дыхательная и фосфорилирующая функции митохондрий гепатоцитов под влиянием субтоксических доз олигоэфиров; особенности обмена L-триптофана; влияние субтоксических доз олигоэфиров на обмен витаминов и кофакторную функцию; состояние обмена соединительной ткани (рис. 9.2).

В соответствии с поставленными задачами нами были проведены исследования по выявлению ведущих звеньев механизма биологического действия олигоэфиров на теплокровный организм и дана патофизиологическая характеристика продуктов деструкции и биотрансформации. Учитывая химическое строение (наличие гидрофильных групп и гидрофобных радикалов) и липофильность олигоэфиров, механизмы структурно-метаболических нарушений представляют собой совокупность двух взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов. С одной стороны, это механизмы повреждающего действия олигоэфиров, а с другой – процессы, связанные с механизмами, компенсирующими повреждающее действие, направленными на поддержание гомеостаза. Последний охватывает цикличность и фазность течения биохимических реакций, процессы регуляции метаболизма, саморегуляцию физиологических функций, динамику кооперативных взаимодействий нервной, гуморальной и иммунной систем, в том числе механизмы защиты и восстановления нарушенных функций организма.

Учитывая, что олигоэфиры обладают выраженными свойствами биологически активных веществ, первоочередной задачей наших исследований явилось изучения состояния биологических мембран. Вопрос о том, какие компоненты мембраны наиболее чувствительные и при каких механизмах осуществляется их токсическое поражение, очень важен для понимания процессов механизма поломки структурных ее компонентов.

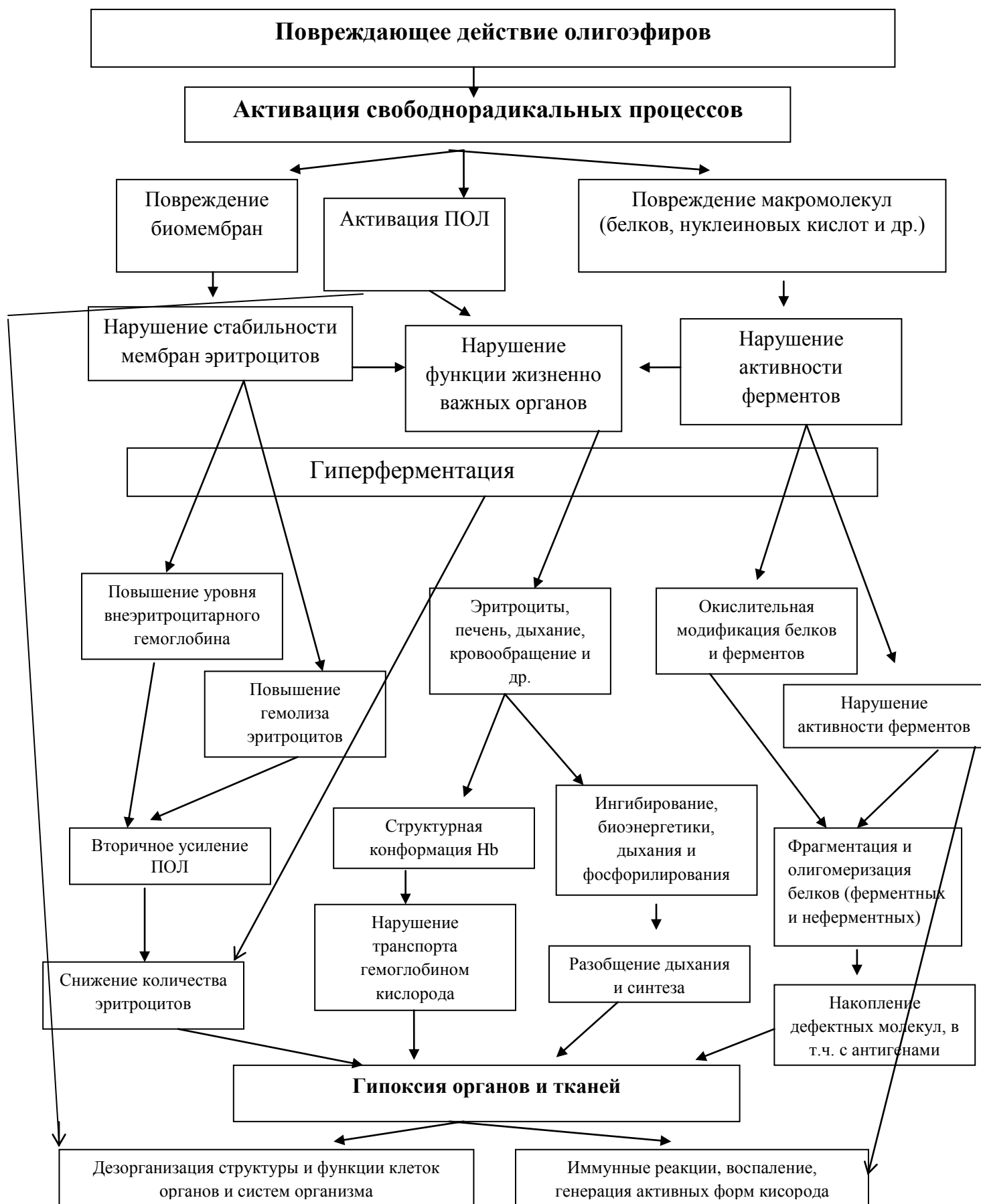


Рис. 9.2. Механизм формирования патологических процессов при повреждающем действии на организм олигоэфиров

Выявленные структурно-метаболические нарушения при действии на организм животных олигоэфиров в дозе 1/10 и 1/100 LD₅₀ реализуются в повреждающем мембранотропном действии по двум главным направлениям: нарушение барьерных свойств мембран и нарушение физико-химического состояния липидного бислоя мембран, которое приводит к нарушению кооперативного взаимодействия ядерно-цитоплазматических мембран, набуханию и деформации мембран, изменению заряда и накоплению воды в цитоплазматических мембранах, изменению проницаемости клеточных мембран, нарушению способности избирательно аккумулировать вещества, сохранять осмотическую стабильность и генерировать электрические потенциалы. Нарушение барьерных свойств мембран заключалось в остром повреждении олигоэфирами в 1/10 LD₅₀ структуры и функций мембран, что приводило к гибели клеток. Оно было обусловлено действием свободных радикалов и продуктов ПОЛ. Наиболее важным последствием ПОЛ при действии олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ в мембранах является повышение проницаемости их для протонов и ионов кальция, потеря мембранной электрической стабильности, которая проявляется снижением потенциала электрического пробоя мембран (рис. 9.3). Результаты опытов показали, что олигоэфиры в значительной степени изменяли структурное распределение фракций фосфолипидов в клетках печени и эритроцитах в испытанных условиях воздействия. Изменения структурного распределения фракций фосфолипидов в гепатоцитах и эритроцитах в 1/100 LD₅₀ свидетельствовали о повышении содержания лизоформ. Олигоэфиры повышали содержание лизофосфатидилхолина в эритроцитах. Сходные изменения обнаруживались и в клетках печени. Олигоэфиры приводили к накоплению в крови общих липидов. В сыворотке отмечалось увеличение количества кетоновых тел, свободных жирных кислот, холестерина под влиянием олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀. Данный факт свидетельствует о глубоких структурно-функциональных нарушениях целостности биологических мембран и поступлении липидов в кровь [184, 257, 262].



Рис. 9.3. Наиболее важные последствия ПОЛ при действии олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD_{50} в мембранах

Повышение уровня лизоформ свидетельствует об усилении процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов под влиянием олигоэфиров в испытуемых дозах, а повышение количества фракций, содержащих холин, указывает на снижение этих процессов в дыхании митохондрий. Указанные результаты позволили предположить возможную активацию процессов ПОЛ под воздействием олигоэфиров. Исследование скорости ПОЛ в митохондриях печени животных показало усиление потребления кислорода под воздействием олигоэфиров. Интенсивность БХЛ внутренних органов, сыворотки и цельной крови во всех случаях повышалась при действии на животных ксенобиотиков. Продукты СРО и ПОЛ, действуя на мембраны, изменяют вязкость липидного бислоя, приводят к появлению продуктов, которые тушат флуоресценцию, снижают электрическую стабильность, гидрофобный объем и нарушают ионную проницаемость мембран [35, 42, 59, 60, 61, 72, 114, 185, 216].

Действие олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ на организм животных выражалось в нарушении физико-химического состояния липидного бислоя биологических мембран, что, в свою очередь, приводило к набуханию и деформации мембран, изменению заряда и накоплению воды в цитоплазматических мембранах, изменению проницаемости клеточных мембран, нарушению способности избирательно аккумулировать вещества, сохранять осмотическую стабильность и генерировать электрические потенциалы. Нарушение физико-химического состояния липидного бислоя мембран при действии олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ проявлялось снижением микровязкости липидной фазы, микровязкости белок-липидных контактов, снижением текучести мембран лимфоцитов и эритроцитов – коэффициент эксимеризации пирена в лимфоцитах и эритроцитах снижался в 2 раза, значительным ростом – в 12 раз – скорости самопроизвольного выхода ионов K⁺ из эритроцитов, увеличением более чем в 2 раза скорости индуцированного валиномицином выхода ионов K⁺ из эритроцитов, увеличением в 5 раз

суммарного количества ионов K^+ . Это нарушение ведет к уменьшению гидрофобного объема и росту отрицательного заряда мембран.

Под влиянием олигоэфиров происходит инактивация ферментативной системы. Изучение структурно-метаболических нарушений при действии олигоэфиров показало, что обладая свойствами ПАВ, эти соединения изменяли качественный состав мембранных структур. В первую очередь шло накопление лизоформ, которые отражали усиление свободнорадикального ПОЛ, подтверждением этого явилось усиление скорости дыхания микросом, окисления НАДФ·Н, перекисного окисления и активация цитохрома P_{450} . Вместе с тем, олигоэфиры приводили к накоплению в печени и крови опытных животных ДК и МДА. Обнаруженные продукты представляют собой метаболиты окисления полиненасыщенных жирных кислот и подтверждают нарушение целостной структуры биологических мембран.

Исследованиями установлено, что олигоэфиры повышали активность НАДФ-связывающей системы с цитохромом P_{450} , скорость дыхания микросом, скорость окисления НАДФ·Н и ПОЛ. Микросомы же, в зависимости от дозы воздействия, приводили к накоплению в печени и крови ДК, МДА, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов. По данным многих авторов, увеличение в органах и тканях количества ДК, МДА, свободных радикалов вообще, альдегидов, кетонов приводит к изменению заряда на поверхности раздела мембран-раствор, изменению конформации мембранного липопротеинового комплекса, образованию молекул – переносчиков ионов, появлению гидрофильных включений в сплошном гидрофобном слое мембраны [67, 78, 86, 166].

Важнейшим условием функционирования восстановительных синтезов являются энергетические процессы и связанные с ними сопряженные системы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, которое сопровождается образованием из АДФ и неорганического фосфата макроэргического субстрата в виде АТФ. Исследования обнаружили снижение активности фермента СДГ в митохондриях подопытных животных, что подтверждалось

ингибированием дыхания после добавления субстрата окисления – сукцината. Учитывая тесную структурно-метаболическую связь этого фермента с внутренней мембраной митохондрий, можно судить, что олигоэфиры способны нарушать структурно-функциональное состояние митохондриальных мембран гепатоцитов.

Анализ метаболической активности митохондрий контрольной группы животных обнаружил достаточно высокий уровень их энергетического состояния. Так, добавление акцептора в состоянии V3 и дополнительно разобщителя 2,4-ДНФ в состоянии V4 обнаружило увеличение скорости дыхания в присутствии сукцината и АДФ, связанного со снижением мембранного потенциала в контрольной группе животных.

Олигоэфиры в дозе $1/100 LD_{50}$ подавляли дыхание митохондрий после внесения АДФ и разобщителя, а также снижали дыхательный коэффициент и коэффициент фосфорилирования. При этом дыхательный коэффициент в контрольной группе составлял $3,46 \pm 0,36$ отн. ед., что свидетельствовало о высоком уровне энергетического состояния митохондрий гепатоцитов животных, которые не подвергались воздействию олигоэфиром. Эти данные свидетельствуют о снижении сопряженного с дыханием окислительного фосфорилирования, в результате которого АДФ превращается в АТФ, на что указывает снижение АТФ-азной активности митохондрий внутренних органов. Олигоэфиры способны сами непосредственно изменять проницаемость митохондриальных, микросомальных и цитоплазматических мембран, вызывая тем самым разобщение окисления и фосфорилирования [217, 228, 239]. Нарушение энергетических процессов в клетке способствовало усилению трофотропной функции последней, что компенсирует развитие гипоксии под влиянием субтоксических доз олигоэфиров (рис. 9.4). Усиление трофотропной функции организма всегда сопровождалось усиленным потреблением кислорода в клетке, о чём свидетельствовали недоокисленные продукты обмена, обнаруженные в оценочных показателях эксперимента.



Рис. 9.4. Компенсированное развитие гипоксии под влиянием субтоксических доз олигоэфиров

Детализируя данные исследований, хочется подчеркнуть, что ключевая роль в процессах детоксикации организма принадлежит МОС гладкого эндоплазматического ретикулума и сопряженным с ней реакциям конъюгации. Биотрансформация олигоэфиров в организме происходит путём окисления, восстановления и метилирования: сначала вступают оксидазы смешанной функции (микросомальное НАДФ⁺ и НАДФН-зависимое окисление) – семейство цитохрома P₄₅₀ (N-гидроксилирование). Оценивались активность соответствующих ферментов и уровни окисленных продуктов: активность УДФ-глюкуронилтрансферазы и содержание глюкуронидов в печени, активность арилсульфотрансферазы в постмитохондриальной фракции и содержание сульфатов и КоА в печени, активность глутатион-S-трансферазы и содержание глутатиона и цистеина в постмитохондриальной фракции печени, активность глутатионпероксидазы, ГР, СОД, альдегиддегидрогеназы. Затем – активность гидропероксидаз – процессы восстановления H₂O₂ и её производных (соокисление), образование гидроперекисей жирных кислот (простагландинов) из арахидоновой кислоты и дальнейшее восстановление до спиртов; дегидрогеназ (НАД⁺ и НАДН-зависимое окисление). Флавопротеин-редуктазы при окислении образуют супероксиданионрадикалы и другие АФК, моноаминооксидазы участвуют в дезаминировании дофамина, норадреналина, серотонина, ГАМК с образованием альдегидов. В процессе СРО и прямого действия олигоэфиров вымываются и расходуются, прежде всего, менее вязкие ПНЖК, т. е. возникает своеобразный «порочный» круг и, возможно, возникает цепная реакция [165]. Интенсивность этой реакции зависит от состояния АОС, которая тормозит накопление перекисей.

Накопление промежуточных продуктов свободнорадикального ПОЛ ведет к ряду изменений клеточных мембран [61, 165, 328]: увеличивается проницаемость мембран, нарушается энергетическая стабильность липидного бислоя, возникает структурный и функциональный дисбаланс.

При обнаружении принципиального действия олигоэфиров на биомембраны следовало ожидать влияния метаболитов на клетку и ее структурные единицы, а также энзиматическую активность мембраносвязанных ферментов. Главную роль в защите от свободных радикалов, образующихся при восстановлении кислорода (супероксидный радикал, перекись водорода и гидроксильный радикал), играют ферменты, способные их каталитически обезвреживать [261, 355, 376]. К ним относятся каталаза, пероксидаза, церулоплазмин, ГП, СОД. Оценивались окислительно-восстановительные и энергетические процессы: состояние тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, содержание неорганического фосфора, АМФ, АДФ, АТФ, цАМФ, цГМФ, интенсивность дыхания митохондрий и окислительного фосфорилирования. В дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ дефицит богатых энергией фосфорных соединений (АТФ) обусловлен, в основном, снижением интенсивности окислительного ресинтеза АТФ в митохондриях. Снижение окислительного фосфорилирования происходит за счет потребления энергии транспорта электронов в дыхательной цепи на накопление Ca²⁺ митохондриями.

Таким образом исследовалась функция детоксикации, маркерами которой явились: активация ПОЛ, СРО – уровни ДК, МДА, свободных жирных кислот, гликогена, восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина, активности НАДФ·Н-редуктазы, НАД·Н-редуктазы, Г-6-Ф-азы, Г-6-ФДГ, каталазы, СОД, ГП, ГТ, АсАТ и АлАТ, γ-ГТ. Олигоэфиры вне зависимости от дозы воздействия приводили к накоплению в печени и крови ДК, МДА, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов. Эти данные хорошо согласуются с результатами по оценке фракций фосфолипидов эритроцитов и гепатоцитов, где отмечалось увеличение количества лизоформ при действии этих веществ.

В результате деструкции фосфолипидного слоя мембран и биотрансформации исследуемых соединений имеет место образование в организме радиомиметических продуктов. Образование перекисей липидов в больших количествах происходило в результате биодеструкции нежелательных

для организма соединений, чрезмерное их накопление приводило к нарушению жизненно важных функций клетки: набуханию мембран биологических структур, появлению дыр в гидрофобном барьере и разобщению окислительного фосфорилирования, инактивации ферментов и др. [36, 160].

Перекисям, гидроперекисям, свободным радикалам в организме противопоставлена система антиоксидантов. К ним относятся такие биологически активные соединения, как витамин С, SH-группы, гемоглобин, глутатион, адреналин, норадреналин, медь, железо, гаптоглобин. Между скоростью перекисного окисления, накоплением его продуктов и содержанием антиоксидантов имеется взаимная зависимость: антиоксиданты реагируют с радикалами, снижают скорость перекисного окисления. Ускорение перекисного окисления, приводящего к увеличению числа радикалов, снижает концентрацию антиоксидантов. Олигоэфиры действовали в подостром опыте в зависимости от дозы воздействия – в $1/100$ LD₅₀ активировали, а в $1/10$ LD₅₀ истощали АОС. Под влиянием изучаемых соединений отмечалось снижение в организме экспериментальных животных содержания гемоглобина, глутатиона, адреналина, норадреналина, лейкоцитов, однако следует отметить фазность динамических колебаний в уровнях SH-групп, витамина С, глутатиона. Уровни витамина С, SH-групп и глутатиона снижались. Снижение концентрации витамина С может характеризовать повышенное его использование в антиокислительных целях, а также восстановлении метгемоглобина в гемоглобин [60]. Содержание SH-групп у животных, которые подвергались воздействию соединений в дозах $1/10$ и $1/100$ ДЛ₅₀, было снижено.

В общем, результаты опытов показывают, что все изучаемые олигоэфиры снижают активность АОС. Это происходит в результате накопления в организме экспериментальных животных продуктов ПОЛ (перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов). Известно, что состояние окислительно-восстановительных процессов в организме поддерживается на известном уровне соотношением SH-групп и дисульфидных (S-S) групп в белках и,

особенно, ферментах. Со свободными SH-группами связаны каталитические свойства многих ферментов, таких как β -амилаза, карбоксилаза, холинэстераза, СДГ, лактат- и малатдегидрогеназа, моноаминоксидаза и др., а также процессы тканевого дыхания и детоксикации ядов. SH-группы служат активным началом Ко-А, участвующего во многих обменных процессах. Серосодержащие ферменты утрачивают каталитическую активность при блокировании SH-групп. Тиоловые группы легко присоединяются к реакционноспособным группам: альдегидам, кетонам, свободным радикалам, перекисям, гидроперекисям. Тиоловые группы легко соединяются с алканами, что приводит к алкилированию SH-групп. В литературе имеются сведения о взаимодействии соединений этилена, пропилена, полиэтиленгликолей, альдегидов с SH-группами белков и ферментов. Эти реакции приводят к избирательному блокированию SH-групп и превращению остатков цистеина в остатки S-(-оксиэтил)-цистеина [62, 100, 338]. SH-группы совместно с аскорбиновой кислотой являются сильными восстановителями двухвалентного железа. Отсюда понятно, что изменение в количестве аскорбата и SH-групп может определять скорость ПОЛ и накопление перекисей, гидроперекисей, ДК, МДА в органах и тканях. Снижение концентрации антиоксидантов проявляется после истощения защитных сил организма. Этому способствуют не только продукты перекисного окисления липидных структур, но и метаболиты биотрансформации, которые являются сильными окислителями не только SH-групп, глутатиона, витамина С, гаптоглобина, адреналина, но и многих других ферментных систем, на что указывают многие авторы [257, 266, 268]. Таким образом, накопившиеся под влиянием олигоэфиров продукты ПОЛ (ДК, МДА), а также метаболиты биотрансформации являются основной причиной снижения активности АОС, активности ферментов, нарушения окислительно-восстановительных процессов, биоэнергетики и фосфорилирования. В данном случае это не единственный путь инактивации ферментов, так как липидное окружение, в свою очередь, также влияет на активность энзимов, тем более что

в данных исследованиях наблюдается дезинтеграция фосфолипидных фракций. Образующиеся перекиси, гидроперекиси, МДА, а также продукты биотрансформации олигоэфиров способны приводить к разрыву двойных связей жирных кислот и разрушению мембран эритроцитов и других клеток [59]. По существующим в настоящее время представлениям, поддержание жизнедеятельности эритроцитов обеспечивается в значительной степени Г-SH, который, выполняя роль антиоксиданта, уменьшался в количестве, он катализирует разрушение перекиси за счет восстановления регенерирующего двухвалентного железа из малоактивного трехвалентного. Аналогично и аскорбиновая кислота восстанавливает активную форму железа. Резистентность эритроцитов во многом зависит от Г-SH, который стабилизирует мембрану. Достигается это превращением глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконат. Реакция катализируется Г-6-ФДГ, активность которой нарушается под влиянием олигоэфиров. Восстановленное состояние глутатиона отмечается при достаточном уровне активности фермента Г-6-ФДГ. У экспериментальных животных олигоэфиры снижали содержание биоантиоксислителers. Это ещё раз подтверждает то, что олигоэфиры обладают свойствами эмиттеров радиотоксинов.

Изменение структуры мембран при действии олигоэфиров, а именно фосфолипидов, не могло не сказываться на активности маркерных и других ферментов мембран различных структур клеточного аппарата. Изучение активности маркерных ферментов цитоплазматических мембран (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ -АТФ-аз, АЦ), эндоплазматического ретикулума (Г-6-ФДГ), цитохромоксидазы (цитохрома P_{450} , НАДФ·Н-дегидрогеназы), пероксином (каталазы, пероксидазы) и митохондрий (моноаминооксидазы, МДГ, СДГ, цитохром С-оксидазы) показало, что олигоэфиры к окончанию эксперимента приводили к снижению активности указанных ферментов. Все это свидетельствует о мембранотропном действии изучаемых химических веществ. Олигоэфиры изменяли динамику активности целого ряда ферментативных

систем. При воздействии олигоэфиров в дозе $1/100 LD_{50}$ они активировали эти процессы, при дозе $1/10 LD_{50}$ происходило их угнетение. Во внутренних органах нами отмечалось в преобладающем количестве снижение, а в крови повышение ферментативной активности. Следует отметить нарушение в органах и тканях активности следующих ферментов: Г-6-ФДГ, КФК, ФФК, МДГ, церулоплазмина, аланиновой и аспаргиновой трансаминаз, γ -ГТ, каталазы, пероксидазы, ГП, холинэстеразы, альдолазы, моноамнооксидазы, цитохромоксидазы. Олигоэфиры, обладая мембранотропным эффектом, оказывают политропное действие, в результате чего нарушаются биоэнергетика, окислительное фосфорилирование и окислительно-восстановительные процессы, формируется вторичная иммунная недостаточность у животных. Все оценочные показатели кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета при разных дозах олигоэфиров были снижены.

Важное место в нашем исследовании принадлежит исследованиям микроэлементного состава внутренних органов и тканей. Олигоэфиры приводили к снижению, увеличению и перераспределению содержания микроэлементов цинка, натрия, калия, кальция, меди, магния, железа в сердце, печени, почках, надпочечниках, селезенке, крови. Известно, что между содержанием микроэлементов в органах и тканях и активностью ферментов существует тесная взаимосвязь. Так, содержание меди и активность медьсодержащих белков-ферментов церулоплазмина, цитохромоксидазы, моноаминооксидазы, а также уровень железа и активность железосодержащих ферментов СДГ, пероксидазы, каталазы, ГП были снижены в органах и тканях. Северин С.Е., изучая воздействие перекисей ненасыщенных жирных кислот и активность МАО, установил, что наибольшей способностью тормозить активность митохондриальной моноаминооксидазы обладают перекиси ненасыщенных жирных кислот и ДК, в меньшей мере этим свойством обладают альдегиды, алкилирующие вещества, ионы тяжелых металлов [273].

Ингибирование ферментов в некоторой степени устраняется глутатионом, который защищает активные центры от действия перекисей и других соединений.

Снижение содержания меди в органах и тканях явилось одной из причин инактивации моноаминоксидазы, что в свою очередь, может привести к уменьшению инактивации протеиногенных аминов, нарушению процессов дыхания и окислительного фосфорилирования, а также нарушению обмена биогенных моноаминов, которые являются медиаторами действия регуляторных систем. При действии олигоэфиров снижалась активность и других медьсодержащих ферментов – церулоплазмина и цитохромоксидазы, которые играют роль в окислительно-восстановительных процессах в организме. Отмечено повышение содержания железа в сыворотке крови и повышение активности железосодержащих ферментов: пероксидазы, каталазы, СДГ, ГП. Многие авторы в своих исследованиях отмечали, что недостаток меди в организме вызывает развитие гипохромной анемии. Применение препаратов железа в таких случаях не восстанавливает прежний уровень гемоглобина, а введение препаратов меди в комбинации с железом усиливает эритропоэз и возвращает уровень гемоглобина к исходным цифрам [71, 76]. Необходимость наличия меди для процессов кроветворения показана в работах [140, 141, 180]. Так, при изучении влияния 11 микроэлементов на процессы кроветворения они показали, что ни один из взятых микроэлементов не способен заменить функцию меди в гемоглобинообразовании и увеличении числа эритроцитов. По данным [140, 141], медь необходима для синтеза гемоглобина в присутствии железа и стимулирующего её влияния на созревание ретикулоцитов. Роль меди состоит в том, чтобы мобилизовать депонированное железо и обеспечить переход минеральных форм железа в органические, тем самым способствуя синтезу гемоглобина [76, 94, 178, 324]. Механизм действия меди на кроветворение, по данным Ravin Н. связан с участием церулоплазмина [371]. Считается, что церулоплазмин – это ферроксидаза – фермент, окисляющий

двухвалентное железо в трехвалентное. Церулоплазмин, окисляя железо, способствует включению этого иона в белок трансферрин, который отдает свое железо клеткам костного мозга, где происходит синтез эритроцитов. Инактивация церулоплазмينا и снижение содержания меди в печени может нарушить включение железа в трансферрин. Следует отметить, что этот механизм мог быть одной из причин снижения содержания эритроцитов и гемоглобина в крови под воздействием олигоэфиров.

Ионы кальция и магния связываются исключительно с фосфатом АТФ [36]. Активность Ca^{2+} и Mg^{2+} -зависимых АТФ-аз митохондрий печени и сердца была снижена. Нормальное функционирование митохондриальной мембраны, прежде всего, зависит от структурной интеграции её надмолекулярных образований. Выполнение ими биологической функции сопровождается процессами, протекающими с изменением объема мембранных структур, в осуществлении которых значительная роль принадлежит осмотическим силам. Последние возникают в результате активного транспорта ионов через биологические мембраны. Миграция ионов через мембраны зависит от энергии гидролиза АТФ.

Известно, что из многих содержащихся в клетках катионов митохондрии наиболее аккумулируют ионы Ca^{2+} . Движущей силой транспорта Ca^{2+} и Mg^{2+} в митохондриях является гидролиз АТФ или перенос электронов в дыхательной цепи. Переносчиками ионов кальция и магния через митохондриальную мембрану служат Ca^{2+} и Mg^{2+} -зависимые АТФ-азы. Снижение их активности может привести к нарушению транспорта соответствующих ионов. Снижение активности Ca^{2+} и Mg^{2+} -зависимых АТФ-аз во внутренних органах под влиянием олигоэфиров согласуется с угнетением гликолиза, переносом электронов в дыхательной цепи и отражает разобщение процессов микросомального окисления и окислительного фосфорилирования. Повышение содержания Ca^{2+} в органах подтверждается нарушением включения данного элемента ($^{45}\text{Ca}^{2+}$) в мембранные структуры. Эти результаты свидетельствуют о

том, что основной причиной повышения его содержания является нарушение структурных единиц мембран системы, подтверждением чего является изменение фосфолипидного состава последней. Концентрация свободных ионов металлов в живых организмах контролируется очень тонко. Этот контроль осуществляется в основном определенными белками и гормонами. Естественно, при нарушении ионного баланса в системе наступают расстройства. С другой стороны, взаимоотношения между ионами металлов и связывающими их веществами настолько тесны, что заболевания, вызванные металлосвязывающими агентами, могут проявляться как в результате повышенного, так и пониженного их содержания.

По данным литературы, одной из причин снижения содержания микроэлементов в органах и тканях является изменение конформации белковых молекул под влиянием накопившихся перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов. При таких условиях ионы металлов не могут встроиться в активный центр и выводятся из организма. Имеются сведения о том, что перекисные соединения липидов образуют с ионами металлов достаточно прочные соединения. Они конкурируют за определенный микроэлемент в биологической системе с ферментом. Следует отметить, что продукты перекисного окисления липидов – альдегиды, кетоны, перекиси, гидроперекиси – действуют как хелатирующие агенты, а образовавшиеся комплексы с ионами металлов выводятся из организма. Это может быть общей причиной снижения содержания микроэлементов в органах и тканях и активности ферментов [160, 324].

Таким образом, перекиси, гидроперекиси, альдегиды, продукты биотрансформации олигоэфиров выступают конкурентами за ионы металлов с ферментами. Этот факт является еще одним из ведущих звеньев в понимании и раскрытии механизма биологического действия олигоэфиров.

В системе клеточной регуляции метаболизма важное место принадлежит рецепторной регуляции. Кроме функции узнавания, которая одна могла бы

определить их биологическую значимость, рецепторные структуры связывают гормон на время, необходимое для его взаимодействия с тем или иным посредником, через который реализуется гормональный ответ. Функция рецепторного звена определяется его специфичностью, высоким сродством к гормону и быстрой насыщаемостью. Нами изучалось состояние адренорецепторов (α_1 , α_2), дофаминовых (D_2), серотониновых (S_1 , S_2) и глюкокортикоидных рецепторов в различных структурах головного мозга и печени.

Результаты исследований показали, что олигоэфиры в $1/100 LD_{50}$ оказывали практически однотипное воздействие на рецепторы, отличия заключались только в степени выраженности. При действии на α_1 -адренорецепторы регистрировали увеличение сродства к лиганду (уменьшение Кд) и снижение количества рецепторов обоих пулов. Это свидетельствует о снижении активности α_1 -адренорецепторов под воздействием олигоэфиров. Действие олигоэфиров на адренорецепторы может привести к нарушению, а точнее снижению гликогеногенеза, деятельности ЦНС, сосудистой системы, секреции эндогенных желез, обмена фосфолипидов. Действие олигоэфиров на α_2 -адренорецепторы головного мозга и печени проявлялось в увеличении сродства к лиганду. Снижение активности рецепторов может приводить к уменьшению стероидогенеза, гликогеногенеза, функции щитовидной железы, липолиза и др.

Параметры S_1 -серотониновых рецепторов в коре головного мозга при действии олигоэфиров характеризовались увеличением сродства к лиганду и снижением мест связывания. Влияние на S_2 -рецепторы характеризовалось снижением сродства к лиганду в высокоафинном пуле и повышением его в низкоафинном, а также уменьшением количества мест связывания в обоих пулах.

Таким образом, олигоэфиры оказывают непосредственное действие на структуру плазматических мембран. Результаты опытов свидетельствуют, что мембрана является основным звеном в патогенезе токсического действия

олигоэфиров. В структуре плазматических мембран происходит глубокая перестройка рецепторного звена. Это приводит к метаболическим нарушениям функции клетки, разобщению окислительного фосфорилирования, инактивации ферментных систем и дезорганизации внутриклеточных структур. Большая роль в поддержании гомеостатической регуляции организма принадлежит глюкокортикоидам. Исследование рецепторного звена показало изменение количества рецепторов под воздействием олигоэфиров. Наблюдаемое количество рецепторов, по мнению многих авторов, связано с мощным эффектом ядерной транслокации глюкокортикоидных рецепторов типа II в комплексе со стероидами и отражает напряжение защитно-приспособительных механизмов организма экспериментальных животных в условиях токсического воздействия.

Исследование структурно-функционального состояния рецепторного аппарата цитоплазматических мембран показало, что олигоэфиры и их метаболиты, продукты биотрансформации, а также ПОЛ нарушают процессы передачи внеклеточных сигналов на внутриклеточные ультраструктурные единицы (ядро, митохондрии, эндоплазматическую сеть, лизосомы, аппарат Гольджи, микросомы) [117, 228, 281, 298].

Поскольку регулирующее действие внеклеточных сигналов на клетку опосредуется цАМФ при участии связанной с мембраной АЦ, то нарушение этой системы внутриклеточной передачи является показателем метаболических нарушений. Биологический смысл такой регуляции заключается в трансформации специфического мембранного стимула в реакции клеточного метаболизма и «гашение» этого сигнала по мере реализации клеточной функции. В свою очередь, увеличение и уменьшение содержания циклических нуклеотидов и концентрации ионов Ca^{2+} обеспечивается комплексом регуляторных белков. Взаимодействие гормона и рецептора вызывает активацию мембранных ферментов, в частности, АЦ с образованием функционального комплекса (гормон-рецептор и каталитическая единица, АЦ).

Специфический гормональный сигнал, воспринятый соответствующими рецепторами, трансформируется в неспецифический стимул клеточной активности, реализуемый за счет изменения уровня цАМФ. Так, в наших исследованиях воздействие олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ приводило к снижению активности АЦ более чем в 2 раза. Следует отметить, что изменение каталитической активности АЦ-системы соответствует кинетике α -адренорецепторов, что является следствием сопряженности этих систем. В тех случаях, где активность АЦ сильно падала, как правило, отсутствовала стимуляция через рецепторное звено. Содержание цАМФ и цГМФ в печени повышалось. Уровень цАМФ в сердце и коре головного мозга снижался, цГМФ – повышался.

Известно, что механизм регуляции кальция – один из наиболее важных факторов гомеостаза клетки. От уровня этого элемента зависит активность Ca²⁺ и Mg²⁺-АТФ-аз, фосфоэстеразы, циклических нуклеотидов, аденилатциклазы. Олигоэфиры снижали поглощение ⁴⁵Ca²⁺ мембранными фракциями печени и мозга, как базальное, так и K⁺-стимулированное в сравнении с контролем.

Снижение количества кальция в биологических мембранах, самым тесным образом, связано с нарушением структуры мембран, особенно с изменением фосфолипидных фракций. Все это указывает, что олигоэфиры приводят к глубоким внутриклеточным метаболическим нарушениям.

В аспекте влияния олигоэфиров на метаболизм биогенных моноаминов, нами изучено состояние катехоламин-, серотонин-, глутамат-, ГАМК-эргических систем. В результате анализа установлено, что нейромедиаторы активно вовлекаются в процессы адаптации при воздействии испытуемых олигоэфиров и играют существенную роль в генезе неспецифической реакции, в частности, активации симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-кортико-адреналовой системы. Катехоламины, как медиаторы симпатической нервной системы, передают регуляторное влияние центральных и периферических отделов нервной системы. Они связаны со всеми

гормональными системами организма, изменение их содержания под влиянием токсических факторов отражается на состоянии метаболических процессов. Являясь одним из активных факторов биосинтеза тканевых белков, биогенные моноамины регулируют окислительно-восстановительные и регенеративные процессы [83, 86]. При действии олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ в головном мозге снижалось содержание дофамина, норадреналина и повышалось – серотонина, в печени снижался уровень норадреналина и триптофана, и повышался – серотонина. Олигоэфиры практически не изменяли уровень ДОФА, адреналина в печени. Изменение уровня моноаминов, ответственных за поддержание необходимого фона секреторной активности желез внутренней секреции, вовлекаемых в систему, обеспечивает неспецифическое проявление адаптации. Реализация гормонального сигнала нейромедиаторов осуществляется через рецепторное звено. Олигоэфиры, обладая мембранотропным действием, изменяли активность этих структурных единиц, что приводило к изменениям гормонального ответа и нарушению метаболизма внутриклеточных единиц. Отмечается тесная связь между ионами Ca²⁺, активностью аденилатциклазной системы и содержанием биогенных нейромедиаторов в органах и тканях. Исключительную роль в стабилизации биологической активности этих структурных комплексов играет липидное окружение мембран, которое очень важно при регистрации гормонального сигнала, и превращение их в источник синтетических процессов внутриклеточных медиаторов. В этих условиях представляет большой интерес исследование механизмов, обеспечивающих уравнивание организма со средой. К ним, в частности относится система глутамат-ГАМК. Медиаторная роль глутамата обусловлена, прежде всего, его выраженной способностью вызывать возбуждающий эффект. При исследовании содержания глутаминовой и γ-аминомасляной кислот под влиянием всех олигоэфиров выявлена значительное снижение уровней глутамата и ГАМК, как в крови, так и в ЦНС. Поскольку глутамат и ГАМК связаны между собой как метаболическая

система, это указывает на преобладание тормозных процессов над возбуждением под влиянием олигоэфиров.

Блокирование стимулирующих сигналов в общем виде усиливало активацию тормозных медиаторов ГАМК, серотонина. Исследования показывают, что в значительной степени гормональный сигнал не может реализовать функцию на уровне рецепторного звена клетки, что приводит к существенным нарушениям внутриклеточного метаболизма. Активирующим фактором в образовании цАМФ и цГМФ выступает группа ПГ. Однако для перехода их в активную форму необходимо стимулирующее влияние адреналина, норадреналина на рецепторное звено клетки (α - и β -рецепторы). Эксперименты показывают, что сродство адренорецепторов к лигандам снижается. Это затрудняет проведение стимулирующего влияния ПГ на цАМФ и цГМФ. Олигоэфиры нарушали метаболизм этих соединений. В плазме крови наблюдалось повышение содержания ПГЕ₂ и ПГЕ₁. Такая динамика исследуемых веществ свойственна мембранотропному действию ксенобиотиков. Это ещё один из немногих фактов, подтверждающих данный эффект действия олигоэфиров. Сходную направленность изменений имел и уровень ПГФ_{1 α} . Отмечалось снижение уровня ПГФ₂ под действием 1/100 LD₅₀. Исследования показывают, что действие веществ направлено на блокирование эрготропных функций организма, то есть селективное снижение реактивной системы органов и организма в целом. Регуляция эрготропного обеспечения организма осуществляется, в основном, симпато-адреналовой системой и характеризуется содержанием адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина в печени, а также ионов Ca²⁺. Нарушение всех этих компонентов отражает существенное снижение энергообеспечения организма и защитно-компенсаторных механизмов поддержания гомеостаза.

Обнаруженные изменения в организме экспериментальных животных под действием олигоэфиров при концентрации 1/100 LD₅₀ ведут к дистрофическим и деструктивным изменениям в структурно-функциональных единицах

целостного организма. Вместе с тем, следует подчеркнуть усиление активности трофотропной функции экспериментальных животных, избирательно активирующей деятельность внутренних органов и систем, направленную на восстановление клетками и органами энергетических затрат, усиление ассимиляции. Центры этой системы, известной под названием вагоинсулярной, расположены преимущественно в передней доле гипоталамуса. Состояние трофотропных механизмов характеризовалось повышением содержания во внутренних органах и тканях серотонина и снижением ГАМК, инсулина. Полученные результаты исследований позволяют заключить, что дезинтеграция в органах и тканях трофотропных биологически активных соединений отражает существенное напряжение адаптационных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза. Научно-методическое обоснование мониторинга гомеостаза организма в условиях субтоксического воздействия олигоэфиров представлено на рис. 9.5.

Важная роль в поддержании постоянства внутренней среды организма принадлежит и аминокислотам – нейромедиаторам [199]. Условно принято относить аспартат и глутамат к возбуждающим нейромедиаторам, а ГАМК, лейцин, пролин, серин и таурин – к тормозящим. Исследования показали, что олигоэфиры оказывают, в большинстве случаев, сходное по динамике действие на медиаторные системы. Как указывалось выше, олигоэфиры приводят к снижению активности глутамат-ГАМК-эргической системы. Анализ динамики содержания аминокислот показал, что олигоэфиры повышали в плазме содержание мочевины, таурина, валина и снижали уровень аспарагиновой кислоты, треонина, серина, глутамина, пролина, глицина, α -аминомасляной кислоты, аланина, метионина и лизина; повышали уровень цистеиновой кислоты.

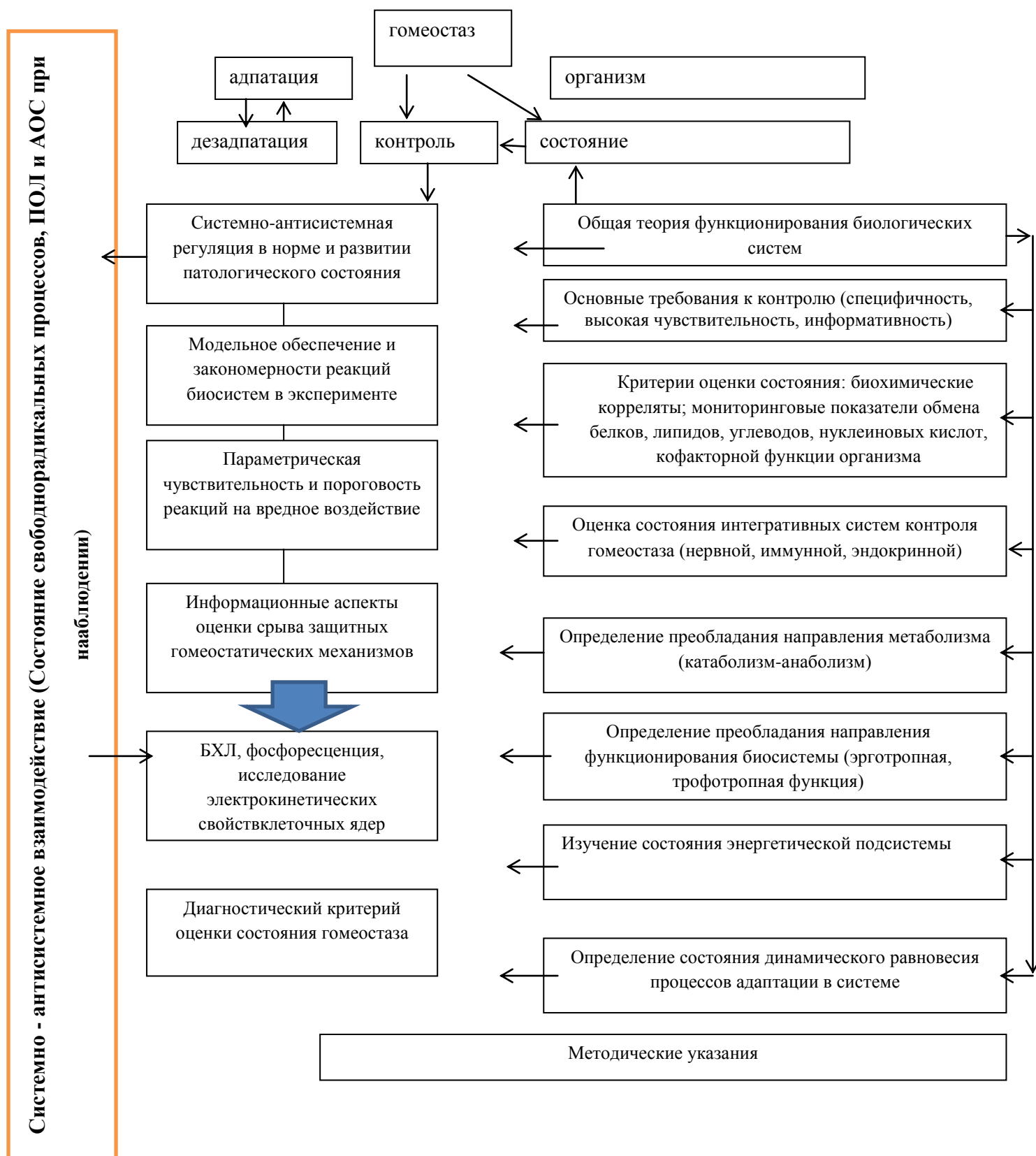


Рис. 9.5. Научно-методическое обоснование мониторинга гомеостаза организма в условиях субтоксического воздействия олигоэфиров

Известно, что ГАМК-эргические медиаторные системы обладают широким спектром биологического действия, участвуют в адаптации организма и регуляции физиологических функций. ГАМК способна влиять на другие медиаторные системы, участвует в формировании ряда поведенческих реакций. Существенную роль медиаторные аминокислоты играют в секреции гормонов, участвующих в реализации эффектов активации неспецифических механизмов адаптации, – АКТГ, гонадотропных гормонов ФСГ, ЛГ, лютеотропного (пролактина). Тормозные эффекты аминокислот – глицина, таурина, серина – проявляются в деятельности важнейших функций и систем организма: двигательной, дыхательной, эндокринной, сердечно-сосудистой [36, 67]. Большую роль в выполнении адаптационной функции ЦНС играют обладающие преимущественно возбуждающим действием нейромедиаторные аминокислоты – глутамат и аспарат, их уровень был снижен. Исходя из этого, следует отметить, что олигоэфиры оказывают возбуждающее действие на ЦНС и угнетающее – на деятельность дыхательной, сердечно-сосудистой, эндокринной и двигательной систем.

Олигоэфиры активируют тормозные процессы в организме. В основе нарушения метаболизма аминокислот может лежать нарушение оттока их из крови или внутренних органов, во-вторых – нарушение синтеза, что является более вероятным, так как олигоэфиры нарушают биоэнергетику и окислительное фосфорилирование.

Олигоэфиры снижают инкорпорацию ^3H -уридина, ^3H - гистидина и ^{14}C -лейцина. Эти данные свидетельствуют о том, что исследуемые вещества нарушают белоксинтетические процессы. Об этом свидетельствует и тот факт, что во внутренних органах наблюдалось снижение содержания РНК и белка. Результаты опытов показывают, что соединения при концентрации $1/100 \text{ LD}_{50}$ приводят к перестройке адрено-, серотонин-, дофамин-, глутамат- и ГАМК-эргических механизмов регуляции метаболических процессов, в которые активно вовлекаются нейромедиаторные аминокислоты. Все это позволяет утверждать о высоком адаптационном напряжении защитно-приспособите-

льных механизмов, которое в части структурных единиц приводит к деструкции и дистрофическим нарушениям внутриклеточных систем регуляции метаболических процессов. Исследованиями установлено, что олигоэферы в испытуемых дозах изменяли спектр свободных плазменных аминокислот. Они повышали уровень аланина и цистеиновой кислоты и снижали уровень таурина, лизина, мочевины, аспарагиновой кислоты, треонина, серина, глутаминовой кислоты. Нарушение спектра свободных плазменных аминокислот самым тесным образом связано с протеосинтезом и процессами окислительного фосфорилирования. Данные экспериментов свидетельствуют о том, что при воздействии олигоэфиров происходит перестройка азотистого обмена, проявляющаяся количественными и качественными сдвигами спектра свободных плазменных аминокислот.

Адаптация организма к действию различных факторов немислима без соответствующих изменений метаболизма, ключевую роль в котором играет эндокринная система. Исследования показали, что олигоэферы нарушали гормональный статус экспериментальных животных при концентрации 1/100 LD₅₀. Действие олигоэфиров проявлялось изменением содержания в организме СТГ, СТГ, АКТГ, фоллитропина, лютропина, прогестерона, Т₃, Т₄, тестостерона, пролактина, инсулина, кальцитонина, глюкогона. Колебания уровней гормонов зависели во многом от пола животных. Наиболее значительные изменения проявлялись со стороны АКТГ, Т₃, Т₄ – повышение оценочных показателей, кальцитонина, инсулина – снижение, а также уровня глюкозы – увеличение. Олигоэферы снижали содержание СТГ, ФСГ, ЛГ. Уровень АКТГ у всех экспериментальных животных был увеличен, кальцитонина – снижен, изменения концентраций инсулина и глюкозы имели разную направленность. Обнаруженные изменения гормонального статуса отражают существенное напряжение защитно-компенсаторных приспособительных механизмов при действии на организм олигоэфиров. Механизм биологического действия химических соединений на организм теплокровных животных имеет много общего в развитии дистрофических и деструктивных изменений во внутренних органах (рис. 9.6).

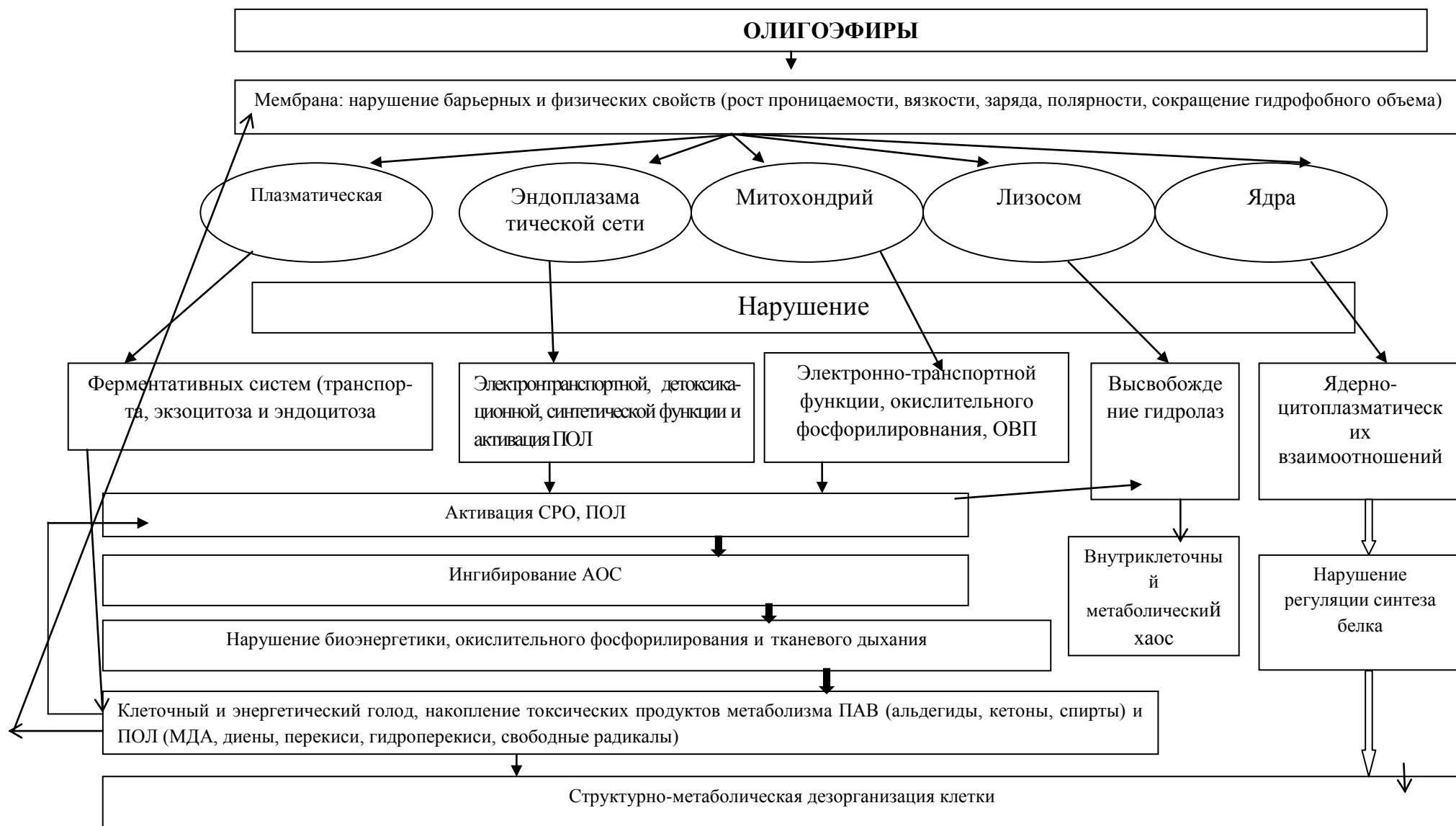


Рис. 9.6. Модель структурно-метаболических механизмов формирования нарушений при действии на организм олигоэфиров.

Динамика метаболических сдвигов четко отражалась на состоянии внутриклеточных структурных единиц. Полученные результаты биологического действия олигоэфиров на организм белых крыс позволили выявить общность в развитии патологических явлений интоксикации. При обосновании механизма биологического действия нами были учтены биотрансформации олигоэфиров. В основе патологических изменений, обнаруженных при действии олигоэфиров на организм лабораторных животных, лежит следующий механизм. Обладая свойствами биологически активных соединений, олигоэфиры стимулируют процессы окисления липидов, вызывая при этом, накопление перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, ДК, МДА. Длительная активация СРО в тканях организма крыс под воздействием олигоэфиров в разных дозах, подобно радиомиметическому эффекту, привела к характерным изменениям, которые представляют собой свободнорадикальную патологию. Основными проявлениями её являются: накопление в организме свободных радикалов, промежуточных продуктов – ДК и конечных – МДА, активация ПОЛ: увеличение содержания свободных жирных кислот, кетоновых тел, снижение уровня гликогена, цистеина, восстановленного глутатиона, повышение содержания окисленного глутатиона, активности НАДФ·Н редуктазы, НАД·Н редуктазы, снижение активности Г-6-Ф-азы, Г-6-ФДГ, увеличение активности каталазы, СОД, ГП, ГТ, АсАТ и АлАТ, γ-ГТ. Под влиянием олигоэфиров в печени снижалась активность соответствующих ферментов и содержание продуктов, участвующих в окислении: активность УДФ-глюкуронилтрансферазы и содержание глюкуронидов, активность арилсульфотрансферазы в постмитохондриальной фракции и содержание общих и связанных сульфатов, активность глутатион- S-трансферазы и содержание глутатиона и цистеина в постмитохондриальной фракции, активность ГП, ГР, СОД, альдегиддегидрогеназы. Повышалось содержание свободных сульфатов, активность N- ацетилтрансферазы и КоА.

При действии олигоэфиров в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ наблюдалось нарушение одного из способов контроля функции белков в клетке – регуляции

активности белков нитрозилированием. Установлено увеличение содержания в сыворотке крови метаболитов обмена оксида азота – нитритов, нитратов, S-нитрозотиолов и активности эндотелиальной и индуцибельной NOS. Наиболее значимые динамические нарушения функции данной системы наблюдались под влиянием $1/10 LD_{50}$. В электронно-транспортных цепях МОС микросом гепатоцитов окислительная биотрансформация олигоэфиров при дозе $1/100 LD_{50}$ сопровождается образованием АФК и индукцией ПОЛ, усилением функциональной активности микросомальных монооксигеназ, увеличением скорости образования супероксидного радикала в НАДФН- цитохром P_{450} - зависимой системе гидроксилирования, при дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ – увеличением O-деметиلاзной активности микросом печени. Этот комплекс обнаруженных изменений свидетельствует об усилении СРО липидов под влиянием олигоэфиров.

Увеличение скорости потребления кислорода микросомами печени свидетельствует о повышении скорости старения организма, а именно: в дозе $1/100 LD_{50}$ олигоэфиры в 3 раза увеличивают скорость эндогенного дыхания в организме животных, почти в 2 раза – скорость окисления НАДФ·Н и скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА, в 5 раз – скорость окисления липидов. Избыточные количества АФК при действии олигоэфиров на организм в дозе $1/10 LD_{50}$ снижали содержание суммарных, негистоновых белков, гистонов – в 2-3 раза, в дозе $1/100 LD_{50}$ усиливали окислительную модификацию белков, ДНК, РНК, что представляет собой ведущий патогенетический механизм в развитии вторичных структурно-метаболических нарушений.

Исследование обмена веществ и энергии по метаболическим мониторинговым показателям различных видов обмена свидетельствовало о дезинтеграции белкового обмена (снижении содержания аминокислот, уменьшении уровня общего белка при дозе $1/10 LD_{50}$ и повышении при $1/100 LD_{50}$); понижении содержания нейрогенных возбуждающих аминокислот – глицина, ГАМК, глутамата и аспартата; снижении углеводного обмена

(содержания глюкозы); повышении липидного обмена (уровня общего холестерина, триацилглицеринов, кетоновых тел); изменении показателей минерального обмена (кальция↑, натрия↓, калия↓, фосфора↓) в сыворотке крови, печени, семенниках, нарушающем основные биохимические метаболические системы (ферменты, гормоны, витамины, рецепторы, нуклеиновые кислоты, рибосомы); нарушении нуклеинового обмена в печени (цАМФ↑, цГМФ↓) и головном мозге (цАМФ↓, цГМФ↑); снижении более чем в 2 раза уровня витамина С, тиамин, рибофлавина, ниацин-никотинамида, пиридоксина, фолиевой кислоты в сыворотке крови; повышении более чем в 3 раза активности эластазы, уровня гликозаминогликанов и коллагенолитической активности сыворотки.

Структурно-функциональная организация метаболических процессов поддерживается интегративными системами контроля гомеостаза, и направлены они, прежде всего, на ограничение, предупреждение и нормализацию нарушений, которые возникают под влиянием различных внешних (физических, химических, биологических) и внутренних (метаболитов) факторов. При действии олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ установлено уменьшение содержания нейrogenных возбуждающих аминокислот – глицина, глутамата и аспартата – в крови, снижение уровня тормозящих ЦНС аминокислот – нейромедиаторов – ГАМК, пролина, серина и повышение таурина и лейцина; снижение содержания дофамина, адреналина, норадреналина в сердце, надпочечниках и головном мозге; уменьшение уровней СТГ, ТТГ, кальцитонина, инсулина, тестостерона и свидетельствующее о гипоксии увеличение концентраций АКТГ, паратирина, глюкагона в крови; снижение параметров рецепторного связывания адренорецепторов, дофаминовых, серотониновых и глюкокортикоидных рецепторов головного мозга (С₁ – повышение, С₂ – снижение), соответственно, затрудняется стимулирующее влияние эйкозаноидов на цАМФ и цГМФ; повышение в печени почти в 2 раза параметров сродства α₂- адренорецепторов; угнетение

кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета при дозах олигоэфиров 1/10 и 1/100 LD₅₀.

Коррекция выявленных структурно-метаболических нарушений при действии на организм олигоэфиров в разных дозах осуществлялась нутритивным антирадикальным, антиперекисным комплексом, содержащим зеленый чай и витамины. Состав нутритивного комплекса: 1500 ИЕ ретинола, 4,5 мг α -токоферола, по 15 мг – метионина, глутаминовой, лимонной и аскорбиновой кислот, 15 мг зеленого чая и 75 мг фосфатидного концентрата в сутки на 1 животное в течение 60 дней. Он ингибирует свободнорадикальные процессы, ПОЛ, активирует антиоксидантную систему и повышает устойчивость биологических мембран к длительному воздействию олигоэфиров, обладая мембранопротекторными и антигипоксическими свойствами, что позволяет рекомендовать его для рабочих производств олигоэфиров как фактор мембранопротекторного действия.

Способ мембранопротекторной и антигипоксической коррекции нутритивным комплексом подвижного физиологического баланса материальных, энергетических и информационных потоков при выявленных структурно-метаболических нарушениях под длительным субтоксическим влиянием олигоэфиров в разных дозах позволяет поддерживать относительное динамическое постоянство, направленное на поддержание гомеостаза.

В результате анализа и обобщения экспериментальных исследований на животных о структурно-метаболических нарушениях и их механизмах при длительном субтоксическом влиянии олигоэфиров в разных дозах в наибольшей мере прослеживается концепция развития мембранной патологии. На первый план выступали: непосредственное воздействие химических веществ на биомембраны, оксидативный стресс, нарушение оксидантно-антиоксидантного взаимодействия, процессов биоэнергетики, которые усугубляли развитие мембранной патологии и позволили определить ее начальные и обратимые проявления, степень интоксикации, отражающую срыв

защитно-компенсаторных механизмов обеспечения гомеостаза, на основе селективной информативности исследуемых тестов. Очевидной и основной причиной нарушения гомеостаза служила структурно-метаболическая дезорганизация мембран и, как следствие – изменения материального (субстратного), энергетического и информационного баланса клетки, которые лежат в основе формирования патологии. Поэтому в донозологической диагностике важным оказалось изучение обмена веществ и энергии по метаболическим мониторинговым показателям различных видов обмена: белкового (спектр аминокислот, общий белок), углеводного (глюкоза), липидного (общий холестерин, триацилглицерины, кетоновые тела), минерального (ионы кальция, натрия, калия, фосфора и анионы хлора), нуклеинового (цАМФ, цГМФ) на фоне исследования функционального состояния интегративных систем, обеспечивающих контроль за материальными, энергетическими и информационными потоками метаболических процессов.

ВЫВОДЫ

В диссертационной работе представлено теоретическое обобщение и решение актуальной научной медицинской проблемы – структурно-метаболических нарушений и их механизмов при действии олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена на организм и патогенетического обоснования принципов ранней диагностики и коррекции выявленных изменений.

Установлен ряд биохимических и клеточных механизмов действия олигоэфиров с обоснованием концептуальной модели патогенеза структурно-метаболических нарушений. Показана дозозависимость реакций организма на действие олигоэфиров. Установлены информативные показатели выявленных изменений, позволяющие осуществлять их раннюю диагностику. Показана эффективность определенного комплекса антиоксидантов в коррекции выявленных изменений.

1. Олигоэфиры в дозах $1/10$ и $1/100$ LD_{50} нарушают барьерные свойства мембран клеток, приводя к повышению проницаемости их для протонов и ионов кальция, потере мембранной электрической стабильности, что проявляется снижением потенциала электрического пробоя мембран. Установлены изменения структурного распределения фракций фосфолипидов в гепатоцитах и эритроцитах при дозе олигоэфиров $1/100$ LD_{50} , свидетельствующие о повышении в 2,5-3,5 раза содержания лизоформ.

2. Действие олигоэфиров в дозах $1/10$ и $1/100$ LD_{50} выражается также в нарушении физико-химического состояния липидного бислоя биологических мембран, что проявляется снижением микровязкости липидной фазы, микровязкости белок-липидных контактов, снижением текучести мембран лимфоцитов и эритроцитов – коэффициент эксимеризации пирена в лимфоцитах и эритроцитах снижается в 2 раза, значительным ростом – в 12 раз

– скорости самопроизвольного выхода ионов K^+ из эритроцитов, увеличением более чем в 2 раза скорости индуцированного валиномицином выхода ионов K^+ из эритроцитов, увеличением в 5 раз суммарного количества ионов K^+ . Это ведет к уменьшению гидрофобного объема и росту отрицательного заряда мембран.

3. Олигоэфиры выступают в роли ускорителей СРП, ПОЛ о чём свидетельствует интенсивность БХЛ, как в дозе $1/100 LD_{50}$, так и $1/1000 LD_{50}$. Продукты СРП и ПОЛ – АФК, перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы – ингибируют АОС и формируют молекулярную мембранную патологию. Чрезмерная некомпенсированная активация ПОЛ усугубляет вышеуказанные нарушения структуры и функций мембран клеток, вызванные непосредственным действием химических агентов на биомембраны. Сочетание усиления ПОЛ, интенсивности флуоресценции сыворотки крови (появление в длинноволновой области возбуждения повышенного количества молекул в триплетном состоянии) позволяет судить о стойко развившихся патологических нарушениях и может быть использовано как мониторинговые данные при оценке влияния факторов окружающей среды на организм.

4. Установлено, что в условиях тканевого поражения олигоэфирами в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ дефицит богатых энергией фосфорных соединений (АТФ) обусловлен, в основном, снижением интенсивности окислительного ресинтеза АТФ в митохондриях. Выявлено разобщение процессов тканевого дыхания митохондрий гепатоцитов – уменьшение дыхательного коэффициента V_3/V_4 , снижение в 2 раза коэффициента окислительного фосфорилирования $АДФ/O_2$, активности ферментов – Mg^{2+} -, Ca^{2+} - и H^+ -зависимых АТФ-аз в митохондриях различных тканей, которое сопровождается уменьшением накопления в них ионов кальция и магния, под действием олигоэфиров в дозе $1/100 LD_{50}$. Снижение окислительного фосфорилирования происходит за счет потребления энергии транспорта электронов в дыхательной цепи на накопление Ca^{2+} митохондриями.

5. Выраженность процесса окислительного фосфорилирования в клетке определяет скорость протекания процессов гликолиза – снижение при дозе $1/10 LD_{50}$ и повышение при $1/100 LD_{50}$ активности ферментов гликолиза – гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы. При действии олигоэфиров в дозе $1/100 LD_{50}$ отмечается увеличение активности фосфоорилазы А – фермента процессов гликогенолиза, являющихся поставщиками АТФ.

6. При действии олигоэфиров в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ выявлено нарушение одного из способов контроля функции белков в клетке – регуляции активности белков нитрозилированием. Установлено увеличение более чем 2 раза содержания в сыворотке крови метаболитов обмена оксида азота – нитритов, нитратов, S-нитрозотиолов – и активности эндотелиальной и индуцибельной NOS. Наиболее значимые нарушения наблюдались под влиянием дозы $1/10 LD_{50}$. При дозе $1/10 LD_{50}$ снижается содержание суммарных, негистоновых белков, гистонов в 2 – 3 раза, при дозе $1/100 LD_{50}$ усиливается окислительная модификация белков, ДНК, РНК, что представляет собой ведущий патогенетический механизм в развитии вторичных структурно-метаболических нарушений.

7. В электронно-транспортных цепях МОС микросом гепатоцитов окислительная биотрансформация олигоэфиров при дозе $1/100 LD_{50}$ сопровождается образованием АФК и индукцией ПОЛ, повышением активности микросомальных монооксигеназ, увеличением скорости образования супероксидного радикала в НАДФН-цитохром Р450-зависимой системе гидроксилирования, при дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ увеличением более чем в 2 раза O-деметилазной активности микросом печени. Этот комплекс изменений свидетельствует об усилении СРО липидов под влиянием олигоэфиров. При дозе $1/100 LD_{50}$ олигоэфиры в 3 раза увеличивают скорость эндогенного дыхания в микросомах печени, почти в 2 раза повышают скорость окисления НАДФ·Н и скорость окисления НАДФ·Н в присутствии ЭДТА, в 5 раз – скорость окисления липидов.

8. При исследовании обмена веществ установлены уменьшение содержания аминокислот в крови, снижение количества белка при дозе 1/10 LD₅₀ и повышение – при дозе 1/100 LD₅₀, уменьшение концентрации глюкозы, увеличение уровней холестерина, триацилглицеринов и кетонных тел. Наблюдаются повышение содержания ионов кальция и снижение – ионов натрия, калия и фосфора в сыворотке крови, печени и семенниках. Изменяются концентрации циклических нуклеотидов в печени (цАМФ↑, цГМФ↓) и головном мозге (цАМФ↓, цГМФ↑). Снижаются более чем в 2 раза уровни витамина С, тиамин, рибофлавин, ниацин-никотинамида, пиридоксин, фолиевой кислоты в сыворотке крови. Повышаются более чем в 3 раза активность эластазы, содержание гликозаминогликанов и коллагенолитическая активность сыворотки крови.

9. При действии олигоэфиров в дозе 1/100 LD₅₀ уменьшается содержание в крови возбуждающих ЦНС аминокислот – глицина, глутамата, аспартата, а также тормозных аминокислот – ГАМК, пролина, серина, и повышается количество таурина и лейцина. Снижается содержание дофамина, адреналина и норадреналина в сердце, надпочечниках и головном мозге. Уменьшаются уровни СТГ, ТТГ, кальцитонина, инсулина, тестостерона и увеличиваются концентрации АКТГ, паратирин, глюкагона в крови. Снижаются параметры рецепторного связывания адренорецепторов, дофаминовых и глюкокортикоидных рецепторов головного мозга, изменяются параметры серотониновых рецепторов (C₁ – повышение, C₂ - снижение). Соответственно затрудняется стимулирующее влияние эйкозаноидов на цАМФ и цГМФ. В печени повышается почти в 2 раза параметры сродства α₂-адренорецепторов. При дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ происходит угнетение иммунной системы.

10. Применение определенного нутритивного антиоксидантного комплекса, содержащего зеленый чай и витамины, ингибирует ПОЛ и активизирует АОС при наиболее действующем на организм животных

олигоэфире – Л-501-2-100, что позволяет рекомендовать этот комплекс для рабочих производств олигоэфиров как фактор мембранопротекторного действия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки состояния биомембран при действии на организм олигоэфиров в разных дозах целесообразно использовать такие интегральные показатели, как интенсивность биохемилюминисценции и флуоресценции сыворотки крови. Структурно-функциональное состояние клеточных мембран может быть также диагностировано по структурным изменениям мембранных липидов (изменение липидного состава мембран, соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, развитие перекисного окисления липидов) и мембранных белков (гликирование, карбонилирование).

2. Для оценки действия на организм олигоэфиров в разных дозах целесообразно использовать показатели состояния процессов ПОЛ по количеству свободных радикалов, АФК и других реакционноспособных молекул – альдегидов, кетонов, эпоксидов, которые могут ковалентно взаимодействовать с отдельными функциональными группами белков и нуклеиновых кислот. Это способно приводить к их полимеризации, разрушению, модификации, изменению активности, конформационных свойств, что неизбежно формирует метаболические нарушения. Окислительный стресс, нарушения углеводного, липидного, белкового обмена и молекулярно-мембранная патология способны окислять гемоглобин в метгемоглобин, нарушать барьерные и матричные функции биомембран, усиливать окислительную модификацию белков, ДНК, РНК, что представляет собой ведущий патогенетический механизм в развитии вторичных структурно-метаболических нарушений.

3. Определение эрготропной и трофотропной функций организма, провоспалительных и противовоспалительных факторов, тормозной и возбудимой систем ЦНС, стимуляторов и ингибиторов иммунной системы, активаторов и ингибиторов анаболических и катаболических процессов,

сопряженных с синтезом и использованием макроэргических соединений, является важным при обосновании патохимических механизмов повреждающего действия ксенобиотиков.

4. Для оценки механизмов регуляции жизнедеятельности органов-мишеней при действии олигоэфиров на организм целесообразно исследование изменения активности гормональных и нейромедиаторных систем, особенно системы биогенных моноаминов, которые выполняют гормональную, нейромедиаторную, трансммиттерную, антиоксидантную функцию, принимают участие и играют важную роль в стабилизации клеточных мембран. Эти системы оказывают влияние на разные звенья обмена веществ и энергии, играют важную роль в формировании ответных реакций на стрессовые токсические раздражители, обеспечивая адаптивные процессы в организме и защитно-приспособительные реакции.

5. Патогенетически обоснованным принципом коррекции структурно-метаболических нарушений, вызванных воздействием химических веществ на основе окиси этилена и пропилена – олигоэфиров, является применение антиоксидантов. Нами в рационе кормления животных дополнительно применялся комплекс, снижавший выраженность перекисного окисления липидов и повышавший активность антиоксидантной системы: 1500 ИЕ ретинола, 4,5 мг α -токоферола, по 15 мг – метионина, глутаминовой, лимонной и аскорбиновой кислот, 15 мг зеленого чая и 75 мг фосфатидного концентрата в сутки на 1 животное в течение 60 дней.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества. Свойства и применение / А.А.Амбранзон // Ленинград: Химия, 1988. – 304 с.
2. Абрамченко В.В. Простагландины и репродуктивная система женщин/ В.В. Абрамченко, Н.Г. Богдашкин // Киев, «Здоров`я». – 1988. – 164 с.
3. Аверьянов А.В. Роль нейтрофильной эластазы в патогенезе хронической обструктивной болезни легких/ А.В.Аверьянов // Цитокины и воспаление, 2007. – № 4. – С.28-32.
4. Авцын А.П. Микроэлементозы человека/ А.П. Авцын, А.А. Риш, М.А Жаворонков // М.: Медицина. – 1991. – 496 с.
5. Адо А.Д. Патологическая физиология /Адо А.Д., Новицкий В.// Томск, 2000. – 540 с.
6. Агаджанян Н.А. Основы физиологии человека/ Агаджанян Н.А., Власова И.Г., Ермакова Н.В., Торшин В.И //М., РУДН. – 2003. – 408 с.
7. Агаджанян Н. А. Проблемы адаптации и учение о здоровье / Н. А. Агаджанян, Р. М. Баевский, А. П. Берсеньева. – М.: Изд-во РУДН, 2006. – 284 с.
8. Аكوпова А.В. Обратимость энергозависимого накопления кальция в митохондрии / А.В. Аكوпова // Украинский биохимический журнал. – 2008. – Т. 80.- № 2. – С. 82–89.
9. Активация свободноадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов [под ред. Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова] - Саратов: Изд - во Саратов. мед. ун-та, 2006. – 177 с.
10. Алексеева О.Г. Аллергия к промышленным химическим соединениям/ О.Г.Алексеева // М.: Медицина, 1978. – 272с.
11. Аликбаева Л.А. Токсичность и опасность отходов очистных сооружений урбанизированных территорий/ Л.А. Аликбаева, Г.И.Сидорин, Л.В.Луковникова //Казанский медицинский журнал – 2009. – Том 90. – № 4 . – С.509–514.
12. Амиров Н.Х. Оценка состояния здоровья работников нефтехимической промышленности / Н.Х. Амиров, З.М. Берхеева // Профессия и здоровье: матер. V Всероссийского конгресса. – Москва, 2006. – С. 66 – 68.
13. Анисимов В.Н. Мелатонин в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта/ В.Н. Анисимов, И.М.Кветной, Ф.И. Комаров [и др] / М.: Советский спорт, 2000. – 184 с.
14. Анохин П. К. Очерки по физиологии функциональных систем/ П.К.Анохин // М.: Медицина, 1974. – 446 с.
15. Антонов В.Ф. Биофизика мембран / Антонов В.Ф., А.М.Черныш // М.: Владос,1999. – 288.

16. Аржевицкая И.А. Основы физиологии обмена веществ и эндокринной системы/ И.А. Аржевицкая // Высшая школа, М.: – 1983. – 271 с.
17. Ахвледиани К.С. Краткий курс ферментологии/К.С. Ахвледиани // Тбилиси, Изд-во Тбил. ун-та. – 1980.– 283 с.
18. Ашмарина И.П. Нейрохимия/ И.П. Ашмарина, П.В. Ступалова// Москва, 1996. – 427 с.
19. Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях / Г.О. Бабенко. – К.: Здоров'я, 1968.– 136с.
20. Багмут И.Ю. Влияние полиоксипропилена М.м. 200 и полиоксипропилена М.м. 400 на иммунологическую реактивность в подостром опыте/ Багмут И.Ю. // Вісник проблем біології та медицини.- Полтава. - 2009 . - Випуск 2. – С. 44–45.
21. Багмут И.Ю. Влияние полиоксипропиленполиола с м.м. 600 на иммунобиологическую реактивность теплокровных животных в эксперименте/ И.Ю. Багмут // Досягнення біології та медицини. – 2010. – № 1.– С.21–25.
22. Багмут И.Ю. Вплив поліоксіпропіленполіолу М.м. 500 на клітинний і гуморальний імунітет у під гострому досліді/ Багмут И.Ю. //Одеський медичний журнал.– 2010. – Вип. 1 (117). – С. 16–19.
23. Багмут И.Ю. Изучение влияния полиоксипропилендиолов на иммунологическую реактивность животных в подостром опыте и обоснование наиболее чувствительных показателей диагностики иммунологических нарушений / Багмут И.Ю. // Вісник проблем біології і медицини. –2010. – № 2. – С.24–25.
24. Багмут И.Ю. Влияние полиэтиленгликолей на иммунитет теплокровных животных в эксперименте/ Багмут И.Ю., Жуков В.И. // «Veda a vznik – 2009/2010». Praha – Publishing House «Education and Science» s.r.o – 2009/2010. – С. 36–40.
25. Бадамшина Г.Г. Влияние условий труда на состояние здоровья работников производства полиэфирных смол/ Бадамшина Г.Г., Каримова Л.К., Бакирова А.Э.// Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – №5. – Вып.5. – С. 79–82.
26. Бадамшина Г.Г. Комбинированное воздействие вредных веществ на работников производства полиэфирных смол: дисс. канд.мед.н. , спец. 14.02.04 – медицина труда/Бадамшина Гульнара Галимяновна, Москва, 2011. – 146 с.
27. Бажева Р.Ч. Ароматические олигоэфиры и сополиэфиры, содержащие дихлорэтиленовые, кетонные и другие группы в основной цепи: дисс.д.хим.н.: спец. 02.00.06 / Бажева Рима Чамаловна.- 2010. – 340 с.
28. Бакиров А.Б. Токсикология продуктов нефтехимической промышленности. Ароматические углеводороды/ А.Б. Бакиров, О.М. Дубинина, Н.Ю. Хунсутдинова// Уфа, 2010. – Ч.2. –52 с.
29. Бандман А.Л. Вредные химические вещества/ Бандман А.Л., Гудзовский Г.А //Ленинград, 1988. – 156 с.

30. Барабан О.В. Структурно-метаболические нарушения в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс при 20-суточном подпеченочном холестазае и их коррекция урсофальком/ Барабан О.В. Емельянчик С.В. Зиматкин С.М // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2004. – Вып. № 1 (17) . – С. 104–106.

31. Баранцева М.Ю. Сочетанное воздействие химического и радиационного факторов низкой интенсивности на цитогенетические и биохимические реакции организма экспериментальных животных: дис. канд. мед. наук, спец.14.00.32 - авиационная, космическая и морская медицина/Баранцева Мария Юрьевна. – 2007. – 127 с.

32. Баренбойм Г. Оценка биологической опасности органических ксенобиотиков при мониторинге водных объектов (методические проблемы и некоторые пути их решения)/ Баренбойм Г.М., Чиганова М.А., Поройков В.В. // Управление развитием крупномасштабных систем (MLSD'2010): труды Четвертой международной конференции (4-6 октября 2010 г., Москва, Россия). – 2010. –С. 298–309

33. Баренбойм Г.М. Оценка биологической опасности органических ксенобиотиков /Баренбойм Г.М., Чиганова М.А., Аксенов А.В. // Методы оценки соответствия. –2011. – №7. – С. 28–33.

34. Баренбойм Г.М. Загрязнение поверхностных и сточных вод лекарственными препаратами / Баренбойм Г.М., Чиганова М.А. // Вода: химия и экология. –2012. – №10. – С.40–46.

35. Безрукавникова, Л. М. Влияние промышленных аэрозолей на процессы перекисного выделения липидов и антиоксидантной защиты в организме: дис. . канд. мед. наук. М., 1987. – 24 с.

36. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин// М.: Медицина, 2004. – 610с.

37. Беспамятное Г.П. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде/ Беспамятное Г.П., Кротов Ю.А. //Ленинград: Химия.- 1985. –528 с.

38. Биологические мембраны. Двенадцать очерков о структуре, свойствах и функциях мембран [под ред. Д. Парсона]. – М.: Атомиздат, 1978.

39. Биохимические анализы в клинике [под ред. В.М. Лифшица, В.И. Сидельниковой]// М.: МИА, 1998. - 302 с.

40. Биоэлементология: основные понятия и термины: терминологический словарь / А.В. Скальный, И.А. Рудаков, С.В. Нотова[и др.]// Оренбург: ГОУ ОГУ, 2005. – 50 с.

41. Боев В. М. Методология комплексной оценки антропогенных и социально-экономических факторов в формировании риска для здоровья населения/ В.М.Боев // Гигиена и санитария. 2009. – №4. – С. 4–9.

42. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов/ А.А. Болдырев// М: Изд-во МГУ, 1985. – 208 с.

43. Бондарева Л.А. Метод контроля малых количеств этилена и способ его реализации: дисс. канд. тех. наук: специальность 05.11.13./ Л.А.Бондарева.- 2000. – 185 с.
44. Бондаренко В.А. Динамика вмісту іонів натрію та калію в крові та органах тварин в умовах стресорного впливу ксенобіотиків/ Бондаренко В.А., Зовський В.Н., Наконечная С.А., Багмут І.Ю., Коба Л.В. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.- Харків, 2009. – № 878. – Серія: біологія. – Випуск 10. – С. 98–101.
45. Бондаренко В.А. Изменение фонда ионов железа в организме крыс при воздействии ксенобиотиков и его влияние на антиоксидантные ферменты/ Бондаренко В.А., Зовський В.Н., Наконечная С.А., Багмут І.Ю., Коба Л.В. // Экспериментальна і клінічна медицина.– 2010. – №1. – С. 98–104.
46. Болотина Л.М. Развитие исследований в области химии и технологии ароматических полисульфонов/ Болотина Л.М., Чеботарев В.П. // Пластмассы. – 2003. – №11. – С. 3–7.
47. Бородин Ю.И. Роль лимфатической системы в поддержании механизма окислительного гомеостаза в норме, при моделировании атеросклероза и его энтеральной коррекции сорбентом силал/ Бородин Ю.И., Асташова Т.А., Асташов В.В // Боллетень СО РАМН. – 2006. – № 2/120. – С.73 – 79.
48. Борткевич В.С. Принципы и подходы к оптимизации противоэпидемической защиты персонала лабораторных и клинических учреждений от профессионального поражения ксенобиотиками/ В.С. Борткевич, Т.Н. Лапушкина, А.Г. Мороз, Г.Н. Чистенко// Медицинские новости. – 2005. – №11. – С. 47–49.
49. Бочков Н.П. Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки/ Бочков Н.П., Шрам Р.Я., Кулешов Н.П. // Генетика, 1975. – Т. 2 – № 10. – С. 156 –169.
50. Буравлёв Е.В. Потенциальные физиологически активные вещества аминотерпенофенолы и пренилированные фенолы/ Буравлёв Е.В., Чукичева И.Ю., Кучин А.В. // Химия и медицина: тез. докл.: V Всероссийский научный семинар и молодежная научная школа. –Уфа. – 2005. – С.22–23.
51. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте./ Бурлакова Е.Б., Алексеенко А.В., Молочкина Е.М.//М.: «Наука», 1975. – 286 с.
52. Бурнусус З.И. Определение АТФ в сыворотке крови / З.И. Бурнусус, П.Ф. Сурай, К.Г. Бурнусус // Лабораторное дело. – 1999. – №4 – С. 49–51.
53. Бурчинский С.Г. Моноаминоксидаза мозга и ее ингибиторы в геронтологии/ Бурчинский С.Г., Кузнецов С.М.// Вопросы мед химии, 1988. – №4. – С. 2–9.

54. Валеева Э.Т. Анализ профессиональной заболеваемости работающих на нефтехимических производствах / Э.Т. Валеева, Л.К. Каримова // III Всерос. съезда врачей-профпатологов: материалы. – Новосибирск, 2008. – С. 165–166.
55. Валеева Э.Т. Факторы риска и особенности формирования профессиональной заболеваемости у работающих нефтехимической промышленности / Э.Т. Валеева, Л.К. Каримова, Л.Б. Бакиров [и др.]// Бюллетень восточно-сибирского научного центра СО РАМН. – 2009. – №1(65). – С. 59-63.
56. Васильев А.Г. Руководство по иммунологии и иммунопатологии./ Васильев А.Г., Чурилов Л.П.// СПб. – 2002. – 401 с.
57. Ващук Н.А. Влияние полиолов марок Л-803 и Л-655-2-100 на состояние иммунной системы в подостром опыте/ Ващук Н.А., Зайцева О.В., Маракушин Д.И., Телегин В.А. и др.// Медицина сьогодні і завтра. Харків. – 2007. №2. – с.56–58.
58. Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение [под ред. А.М. Вейна]/М.: ООО «Медицинское Информационное Агентство», 2003.
59. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия/ Вергейчик Т.Х. // М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.
60. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1975. – 236 с.
61. Владимиров Ю.А. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю.А. Владимиров, Г.Е. Добрецов// М: Наука, 1980. – 320 с.
62. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и хемилюминесценция в липидах биологических мембран / Владимиров Ю.А., Оленов В.И., Гаврилов В.Б // Свободноради-кальное окисление липидов в норме и патологии. Москва. – 1976. – С. 30–31.
63. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд. 7-е, Том 1. Органические вещества[Под ред. Н. В. Лазарева и Э. Н. Левиной] // Л., «Химия», 1976. – 592 с.
64. Волкова С.А. Показатели гемограммы у взрослого работающего населения / С. А. Волкова, Н. А. Маянский, Н. Н. Боровков и др. // Гематология и трансфузиология. 2008. - Т.53, №1. - С. 21 - 27.
65. Володин А.С. Медико-экологические и гигиенические аспекты чрезвычайных ситуаций. Защита здоровья человека от воздействия вредных факторов/ Володин А.С., Шапошников А.А., Баранов В.И. // М.: Гигиена, 2008. – 384с.
66. Волошина О.Н. Способ определения моноаминоксидазной активности тромбоцитов/ Волошина О.Н., Москвитина Т.А. // Лабораторное дело. 1985. – №5. – С. 289.

67. Воронина Л.Н. Руководство к лабораторным и семинарским занятиям по биологической химии./ Воронина Л.Н., Десенко В.Ф., Кравченко В.Н. //Харьков. - «Основа», – 1996. – 430 с.
68. Гаврилов Б.В. СФ – метрическое определение содержания ГПЛ в плазме крови./ Гаврилов Б.В., Мишкорудная М.И //Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 36.
69. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I-IV групп / А.Л. Бандман, Г.А. Гудзиловский, Л.С. Дубейковская и др. // Л.: Химия, 1988. – 512 с.
70. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V-VIII групп / А.Л. Бандман, Г.А. Гудзиловский, Л.С. Дубейковская и др. // Л.: Химия, 1989. – 592 с.
71. Гаврилов О.К. Депрессии кроветворения/ Гаврилов О.К., Файнштейн Ф.Э, Турбина Н.С.// М., Медицина, 1987. – 256 с.
72. Гадаскина И.Д. Превращение и определение промышленных органических ядов в организме/ Гадаскина И. Д., Филов В. А. //М., «Медицина», 1971. – 303 с.
73. Галактионов В.Т. Иммунология/ Галактионов В.Т. М.: МГУ, 1998. – 480 с.
74. Гаппаров М.М. Обновление организма и потребность в эссенциальных пищевых веществах / Гаппаров М.М. // Оптимальное питание и здоровье нации» (к 75-летию ГУНИИ питания РАМН): Мат. VIII Всероссийского конгресса «– М., 2005. – С.57.
75. Гелинг Н. Г. Простагландины, циклические нуклеотиды и адаптация сердца к острой и хронической перегрузке давлением / Н. Г. Гелинг, В. Д. Помойнецкий, В. М. Санфирова // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 1979. – № 11. – С. 525–528.
76. Гематология [под общ. ред. К. М. Абдулкадырова]. - СПб.: Изд-во Сова, 2004. – 928 с.
77. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функция/ Геннис Р.// М.: Мир, 1997. – 624с.
78. Георгиев Г.П. Информационная и рибосомальная рибонуклеиновые кислоты хромосомно-ядрышкового аппарата, методы разделения нуклеиновых кислот/ Георгиев Г.П., Мантьева В.П. // Биохимия. – 1962. – Т. 27. – С. 949–957.
79. Германчук В.Г. Анализ современных методов и средств экспрессной индикации токсинов / В.Г.Германчук, Уткин Д.В., Щербакова С.А.//Проблемы особо опасных инфекций. – 2012. – №2(112). – С.51–54.
80. Гигиена и токсикология пластмасс. Сборник научных трудов Киевского медицинского института. Киев. 1983.- С. 174 – 180.
81. Гизатуллина Д.Ф. Влияние условий труда на формирование патологии костно-мышечной системы у слесарей по ремонту оборудования на

современных нефтехимических предприятиях/ Гизатуллина Д.Ф., Каримова Л.К., Яхина Р.Р. //Медицина труда и пром. экология. – 2009. – №11 – С. 13–16.

82. Гизатуллина Д.Ф. Условия труда состояние здоровья ремонтных рабочих современных нефтехимических производств: автореф дис. канд. мед. наук/ Д.Ф. Гизатуллина. – М., 2010. – 23с.

83. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение/ Глик Б., Пастернак Дж. // М.: Мир, 2002. – 589 с.

84. Глушков С.И. Нарушение системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2006. – 44с.

85. Гольдфарб Ю.С. Неотложная терапия острых отравлений и эндотоксикозов / Гольдфарб Ю.С., Казачков В.И., Мусселиус С.Г. //М.: Медицина, 2001. – 304 с.

86. Гонський Я.І. Біохімія людини: // Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук //Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 697 с.

87. Горбачев В.В. Витамины, микро- и макроэлементы/ Горбачев В.В., Горбачева В.Н.//Минск: Интерпрессервис: Вышэйшая школа: Книжный дом, 2002. – 544с.

88. Горкин В.З Аминооксидазы и их значение в медицине. / В.З.Горкин //Москва. – 1981. – 334 с.

89. Готовский Ю.В. Свободнорадикальные процессы, обмен веществ и энергия/ Готовский Ю.В., Петров Ю.Ф., Овсянян А.А. // М.: Имедис, 2004. – 80с.

90. Грек О.Р. Гипобарическая гипоксия и метаболизм ксенобиотиков/ Грек О.Р., Ефремов А.В., Шарапов В.И.// М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 120 с.

91. Григоров Б.И. Гигиеническая характеристика продуктов гидролитической деструкции олигоэфиров на основе гликолей в связи с проблемой санитарной охраны водоемов / Б.И. Григоров, Р.И. Кратенко, О.В. Зайцева //Медицинская экология. Гигиена окружаающей и производственной среды. –1999 . – С. 32 – 36.

92. Григорьев А.И. Экология человека / Григорьев А.И.// М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 240 с.

93. Гришова И.Б. Гигиеническая характеристика условий труда и прогнозирование профессионального риска у работников газокompрессорных станций :автореф. дисс. канд.мед.наук.- Волгоград. – 2006. – 21с.

94. Гроздова М.Д. Особенности обмена веществ мышцы сердца/ Гроздова М.Д. // Вопросы мед. химии. – 1976. – С. 563–573.

95. Гроздова М.Д. Транспорт кальция в клетках миокарда кроликов при экспериментальных повреждениях сердца/ Гроздова М.Д., Шарлова И.Л., Старостина Л.К. //Вопр. мед. химии. – 1977. – №6. – С. 735–741.

96. Губский Ю.И. Перекисное окисление мембранных липидов и его регуляция при химическом поражении печени / Губский Ю.И. // Киев: здоровья – 1989. – С. 93–113.

97. Гудков С.В. Биоантиоксиданты / С.В.Гудков, В.И.Брусков, А.В.Куликов // Альманах клинической медицины. – 2014. – № 31. – С.61–65.
98. Гурвич Г.А. К методике цитосерологического исследования лимфоидной ткани./ Гурвич Г.А.// Проблемы инфекции иммунитета и аллергии. – 1969.- С. 322 – 327.
99. Гуревич В.С. Сравнительный анализ двух методов определения активности СОД / Гуревич В.С., Конторщиков К.Н., Шатилина Л.В. // Лабораторное дело. – 1990. – №4. – с. 44–47.
100. Гуревич К.Г. Оксид азота: биосинтез, механизмы действия, функция/ Гуревич К.Г., Шимановский Н.Л. // Вопросы биологии, медицины и фармацевтической химии. – 2000. – № 4. – С. 16-21.
101. Дакиева К.Ж. Ферменты крови рабочих титано магниевого комбината / К.Ж. Дакиева, Г.А.Кулкыбаев, Д.М. Джангозина // Медицина труда и промышленная экология. - 2006. - № 4. -С. 45-47.
102. Данилова Л.А. Влияние криоконсервирования на гемотрансплантационную активность лимфоцитов/ Данилова Л.А., Федотенков А.Г // Проблемы гематологии и переливания крови.- 1978; № 23(12). – С. 21–25.
103. Данилов-Данильян В.И.. Определение новых типов ксенобиотиков с лекарственной активностью в источниках водоснабжения города Москвы/ Данилов-Данильян В.И., Поройков В.В., Чиганова М.А., Козлов М.Н., Филимонов Д.А., Баренбойм Г.М. // Водоснабжение и санитарная техника.- 2013.- № 10.- С. 17–25.
104. Даценко І.І. Профілактична медицина: загальна гігієна з основами екології./ Даценко І.І., Габович Р.Д.// Київ: Здоров'я, 2004. – 692.
105. Дворник А.С. Антимутагенез як система захисту організму від ушкоджуючих факторі ендogenous та екзогенного походження / Дворник А.С., Перерва Т.П., Кунах В.А. // Цитология и генетика. – 2004. – №5. – С.62–71.
106. Дегтярева Т.Д. Экспериментально-теоретическое обоснование биологической профилактики хронической интоксикации неорганическими соединениями: автореф. дисс. канд. мед наук. М. – 2002. – 24 с.
107. Дорофеев Г. И. Циклические нуклеотиды и адаптация организма / Г. И. Дорофеев, Л. А. Кожемякин, В. Т. Ивашкин// Л.: Наука, 1978. – 189 с.
108. Дубовая А.В. Экзогенная и эндогенная интоксикация. функциональная система детоксикации. Методы активной детоксикации/ А.В.Дубовая // Здоровье ребенка, 2011. – №5(11). – С.34-43.
109. Дубинина Е.А. Методы определения активности каталазы/ Дубинина Е.А., Ефимова Л.С., Сафронова Л.Н. // Лабораторное дело. – 1988. – №8. – С.16–19.
110. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белка. Методы ее определения/ Дубинина Е.Е., Бурмистрова Р.О. // Вопросы мед. химии. – 1996 - Т.41, Вып. 1. – С. 24–26.

111. Дурнев А.Д. Мутагены и антмутагены в продуктах питания/ Дурнев А.Д. // Генетика. 1997. – Т. 33. - № 2. – С. 165–176.
112. Дуева Л.А. Иммунный статус работающих в контакте с аэрозолями никеля в условиях гальванического производств/ Дуева Л.А., Сивочалова О.В., Цидильковская Э.С., Макарова-Землянская Е.Н. // Медицина труда и промышленная экология. – 2006. - №7. – С.16–22.
113. Дуева Л.А. Иммунологические критерии диагностики и эффективности иммунокорректирующей терапии в системе профилактики и реабилитации профессиональных заболеваний органов дыхания/ Дуева Л.А., Цидильковская Э.С., Хабусова Л.В. //Актуальные проблемы медицины труда . – М., 2009. – С.80–91.
114. Дымент О. Н. Гликоли и другие производные окисей этилена и пропилена / Дымент О.Н.// М.: Химия, 1976. – 376 с.
115. Дядюша Г.Ф. Система соединительной ткани и злокачественные опухоли / Г.Ф. Дядюша, Э.П. Булкина //Киев: Наукова думка, 1978. – 310 с.
116. Елизарова О.Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении/ Елизарова О.Н. // Москва: Медицина, 1971 – 173 с.
117. Жмылев П.Ю. Эволюция жизненных форм растений: суждения и предположения/ П.Ю.Жмылев // Журнал общей биологии. – 2004. – Т. 65. – №3. – С.232–249.
118. Жуков В.И. Гигиеническая характеристика макроциклических эфиров и их предшественников простых полиэфиров в связи с проблемой санитарной охраны водоёмов: автореф. дисс. докт. мед. наук.: спец.: 14.00.07: ЛСГМИ. -Ленинград, 1991. –58 с.
119. Жуков В. И. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / В. И. Жуков, Л. Д. Попова, О. В. Зайцева [и др.]// Харьков: Торнадо, 2000. – 435 с.
120. Жуков В.И. Детергенты – модуляторы радиомиметических эффектов/ Жуков В.И., Мясоедов В.В., Козин Ю.И. [и др.] // Белгород, 2000. – 376 с.
121. Жуков В.И. Биологическая активность детергентов – производных нонилбензолов в связи с проблемой охраны водных объектов/ Жуков В.И., Бондаренко Л.А., Зайцева О.В.// Белгород: «Белвитамины», 2000. – 180 с.
122. Жуков В. И. Фториды: биологическая роль и механизм действия / В. И. Жуков, О. В. Зайцева, В. И. Пивень [и др.]. – Белгород: Белвитамины.- 2006. – 220 с.
123. Жуков В.И. Изучение влияния простых полиэфиров П-373 – 2 – 20, П – 5003 АЦ и П-294 – 2 – 35 на реализацию нейромедиаторных эффектов в условиях токсикологического опыта/ Жуков В.И., Телегин В.А., Зайцева О.В., Мещерякова О.П. и // Теоретична і експериментальна медицина. – 2008. - № 1. – с.37-42.
124. Жуков В.И. Исследования профиля микробиоценоза кишечника у больных колоректальным раком / В.И. Жуков, С.В. Перепадя, О.В. Зайцева,

А.С. Моисеенко // Проблемы экологии и медицины.- 2010. – Т. 14.- №1–2. – С. 8–11.

125. Жуков В. И. Роль регуляторных механизмов в развитии поврежденной миокарда и головного мозга/ Жуков В. И., Клименко Н. А., Багмут И. Ю. – Проект № 11511, ISBN: 978-3-659-66772-5. – 120 С.

126. Жумабекова, Б.К. Биохимические показатели в оценке функционального состояния печени у рабочих резино-технического производства /Б.К. Жумабекова, А.М. Байманова, А.М. Рахметова //Медицина труда и промэкология.- 2005. – №2. – С.24–28.

127. Журихина И.А. Влияние условий труда на заболеваемость работников производства синтетического каучука / И.А. Журихина // Здравоохранение Российской Федерации. - 2009. - № 2. - С. 40-41.

128. Забродский П.Ф Иммунотоксикология ксенобиотиков/ Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. // Саратов:СВИБХЗ, 2007. – 420с.

129. Загальна гігієна та екологія людини [за ред. В.Г. Бардова]// Вінниця: Нова книга, 2002. – 213 с.

130. Зайко Н.Н., Патологическая физиология/ Зайко Н.Н., Быця Ю.В. // М.: Медпресс-информ, 2002. – С. 426–447.

131. Зайчик А.Ш. Общая патофизиология /А. Ш. Зайчика и Л. П. Чурилова // Изд. 2-е, Спб: ЭлБи, 2001. – 624 с.

132. Зайчик А.Ш. Основы патохимии/ Зайчик А.Ш. // Спб: ЭлБи, 2001.- Изд. 3-е. – Т.2. – 688 с.

133. Зайчик А.Ш. Механизмы развития болезней и синдромов/ Зайчик А.Ш. //ЭлБи, 2002. Изд. 1-е, Т.3–507 с.

134. Зайцева О.В. Действие оксиэтилированного ксилита марки Л-655 на рецепторный аппарат и систему медиаторной регуляции внутриклеточного метаболизма/ Зайцева О.В., Жуков В.И., Ващук Н.А., Резуненко Ю.К.// Теоретична і експериментальна медицина. – 2006. – № 3. – с.66–69.

135. Закон України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення». Затверджений Постановою Верховної Ради України №4004-12.- – Київ. – 2011(чинний)

136. Заугольников С.Д. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ/ Заугольников С.Д., Качанов М.М., Лойт А.О. //Л.-Медицина. 1988. – С. 180–184.

137. Збарский Б.И. Новые данные по функционированию клеточных ядер печени крыс и химическому составу ядерных структур/ Збарский Б.И., Георгиев Г.П // Биохимия. – 1959. – Т. 24, Вып. 2. – с. 192–199.

138. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты/ Зенков Н.К., Лапкин В.З., Меньшикова Е.Б.// М.: Наука, Интерпериодика, 2001. – 343с.

139. Зербино Д.Д. Экологическая патология и экологическая нозология: новое направление в медицине / Зербино Д.Д. // Мистецтво лікування. — 2009. — № 8. — С. 37–41.

140. Зовский В.Н. Комплексная токсиколого-гигиеническая характеристика олигоэфиров на основе окиси этилена и пропилена в связи с проблемой санитарной охраны водоемов: дисс. .мед.н.: спец. 14.00.07 – гигиена /Зовский, Вячеслав Николаевич.- 2003, Москва, – 314 с.
141. Зовский В.Н. Действие оксиэтилированных алкил- и изононилфенолов/ В.Н.Зовский, В.А.Бондаренко, С.А.Наконечная, В.В.Мартыненко // Вісник Харківського національного університету. – Харків : Серія: Біологія. Вип.9. – 2009. – С.156–161.
142. Зотова Т.М. Оценка и управление профессиональными рисками нарушения здоровья работающих в производствах органического синтеза: автореф. дис. .канд. биол. наук. -М., 2008. -23 с.
143. Зуева Л.П. Эпидемиология / Зуева Л.П., Яфаев Р.Х.// СПб.: Фолиант, 2005. – 96 с.
144. Иванов К.П. Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты/ Иванов К.П. //СПб.: Наука, 2001. – 278с.
145. Иванов А.А. Сочетанное влияние производственных химических факторов и напряженности труда на липидный спектр крови у разных категорий работников нефтеперерабатывающего предприятия / А.А. Иванов, В.Г. Бовтюшко, В.А. Чепурнов // Современные проблемы военной и экстремальной терапии: Матер. Российской научно-практической конференции с международным участием// Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2005. – № 1 (14). – С. 286 –289.
146. Иванов А.А. Влияние химических факторов нефтеперерабатывающего предприятия и напряженности трудового процесса на показатели состояния здоровья персонала: автореф. канд.мед.н.: спец 14.00.20, 2009.
147. Иванов И.И. Биохимия мышц/ Иванов И.И., Коровкин Е.Ф., Пинаев Г.Н. // М: Медицина, 1977. – 343 С.
148. Иванская Т.И. Влияние комплекса химических веществ на иммунологическую реактивность организма пожарных в условиях чрезвычайной ситуации... дис.. канд. биол. наук: спец.14.00.07- гигиена / Иванская Татьяна Ивановна, 2002.- 119с.
149. Иежица И.Н. Калий-магниевый гомеостаз: физиология, патофизиология, клинические последствия дефицита и особенности фармакологической коррекции/ Иежица И.Н., Спасов А.А. // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 39, № 1. – С. 23-41.
150. Истомин А. Г. Современные методы и аппаратно-программные комплексы для оценки адаптационных возможностей и уровня здоровья организма человека / А. Г. Истомин, Г. В. Ткаченко // Актуальні проблеми медико-біологічного забезпечення фізичної культури та спорту : збірник статей науково-практичної інтернет-конференції, Харків, 24 квітня 2014 р. / за ред. О. В. Пешкової [та ін.] ; Харківська державна академія фізичної культури. – Харків, 2014. – С. 43–49.

151. Калиева К. Д. Обмен липидов, статус перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы на фоне острой гипоксии при введении ноотропов: дисс. д. биолог. наук. : спец. 03.00.04- биохимия/ Калиева, Кунсулу Дальтоновна , Актобе, – 417 с
152. Калетина Н.И. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов / Калетина Н.И.// ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016с.
153. Канунго М. Биохимия старения / М. Канунго . – М.: Мир, 1982. – 238 с.
154. Карамова Л.М. Клинико-гемодинамические, метаболические и нейрогуморальные эффекты лизиноприла при артериальной гипертензии: дис.канд.мед.н.; спец. 14.00.06 – кардиология /Карамова Лилиана Марсовна Уфа, 2004. – 113 с.
155. Каримова Л.К. Факторы риска в производствах органического синтеза / Л.К. Каримова, Т.М. Зотова, Л.Н. Маврина [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2009. - № 1. - С. 34 - 38.
156. Каримова Л.К. Профессиональные риски нарушения здоровья работающих при переработке нефти/ Каримова Л.К., Гимранова Г.Г., Зотова Т.М. // Медицина труда и пром.экология. –2009. – №11. – с. 9–13.
157. Карузина И.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем/ Карузина И.И. Арчаков А.И. // М.: Медицина, 1977. – с. 49–62.
158. Касаткина Н.И. Токсикологическая химия метаболизма и анализ токсикантов/ Касаткина Н.И. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 10–16с.
159. Кеннел Д. Методы определения радиоактивности РНК, ДНК, белка. Методы исследования нуклеиновых кислот/ Кеннел Д. //М.: 1970. – С. 138–144.
160. Кейтс М. Техника липидологии /М. Кейтс// Москва, Издательство: Мир, 1975. – 322 с.
161. Клейн С.В. Анализ многосредового риска и ущерба здоровью населения при воздействии химических факторов среды обитания / Клейн Светлана Владиславовна// Пермь, 2010, – 162 с.
162. Клименко Н.А. Состояние функции детоксикации и основных видов обмена веществ у животных, подвергавшихся пероральному субтоксическому влиянию лапроксидами/ Н.А. Клименко, М.А. Кучерявченко, И.Ю. Багмут, В.И. Жуков //Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 3, том 2 (111). – С. 138–144.
163. Клименко Н.А. Влияние лапроксидов на развитие нарушения энергетического обмена в субтоксических дозах при длительном поступлении в организм теплокровных животных/ .А. Клименко, М.А. Кучерявченко, И.Ю. Багмут, В.И. Жуков // Одеський медичний журнал. –2014. –№5. – С. 5–10.
164. Клименко Н.А. Длительное субтоксическое влияние лапроксидов на метаболическую активность монооксигеназной системы гепатоцитов в подостром опыте/ Клименко Н.А., Кучерявченко М.А., Багмут И.Ю., Жуков

В.//Проблеми безперервної медичної освіти та науки. -2014.– 4 [16]. – С. – 57 – 60.

165. Козуля Т.В. Корпоративна основа нормування якості навколишнього середовища, еколого-гігієнічна оцінка ризику здоров'ю населення/ Т.В. Козуля, Н.В. Шаронова// Системний аналіз та інформаційні технології: матер. XII Міжнародн. науково- практ. конф. 25-29.05.2010р. – Київ, 2010. – С. 100–101.

166. Колб В.Г. Справочник по клинической биохимии/ Колб В.Г., Камышников В.С.// Изд-во: Беларусь, Минск. – 1982. – 366 с.

167. Коляскина М.М. Роль генов системы биотрансформации ксенобиотиков в механизмах формирования и развития профессиональных аллергических дерматозов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2011. – 24с.

168. Коляскина М.М. Разработка методов определения полиморфизмов гена цитохрома р-450 1а1 у больных профессиональными аллергодерматозами с применением реакции пироксвенирования / Коляскина М.М., Кузьмина Л.П., Шипулин Г.А. [и др.] // Молекулярная диагностика – 2010: матер. VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – М., 2010. – Т.4. – С.264–266.

169. Косова Л.Н. Профессиональный риск и состояние здоровья работников производства изделий из полиэтилена низкого давления : дис. канд.мед.н.: спец. 14.02.01 – гигиена /Косова Любовь Николаевна.- Оренбург,2011. –118 с.

170. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцитина/ Костюк В.А. //Вопросы мед. химии. – 1990, – Т. 36, – № 2. – С. 28 –35.

171. Копылова Т.В. Механизмы эндогенной интоксикации и детоксикации организма в норме и при морфо-функциональных изменениях в коже: дис. д.биол.н.: спец. –биохимия / Копылова Т.В.- Н.Новгород, 2007. – 337 с.

172. Коркач В.И. Роль АКТГ и глюкокортикоидов в регуляции энергетического обмена/ Коркач В.И. //Киев ,«Здоров`я», 1979. – 137с.

173. Косова Л.Н. Профессиональный риск и состояние здоровья работников производства изделий из полиэтилена низкого давления: дисс.канд.мед.н.: спец. 14.02.01- гигиена / Косова Л.Н., 2011. – 134 с.

174. Кочетов Т.А. Практическое руководство по энзимологии/ Кочетов Т.А. // Москва, 1988. – 217 с.

175. Кратенко Р.И. Биологическая активность краун-эфиров в связи с проблемой охраны водных объектов/ Кратенко Р.И. // Харьков, ХГМУ, 2001. – 205 с.

176. Кривонос М.В. Гигиеническое обоснование профилактической направленности питания при профессиональном контакте с анионными

детергентами: автореф. дисс. на соискание ученой степени доктора мед. наук. – Харьков, 1990. – 48 с.

177. Кудалева И.В. Влияние химических веществ различной природы на показатели окислительного стресса / И.В. Кудалева, Л.Б. Маснабиева // Медицина труда и промышленная экология.- 2008. - № 1.-С. 17-24.

178. Кудрин А.В. Микроэлементы и кальций в регуляции апоптоз/ Кудрин А.В. // УСБ. – 1998. - №5. – С. 17–21.

179. Кузьмина Л.П. Состояние гипоталамо-гипофизарнотиреоидной системы у больных с профессиональными аллергическими дерматозами (диагностика, риск развития, прогноз, профилактика) / Кузьмина Л.П., Измерова Н.И., Пилат Т.Л. //Москва, 2009. – 27с.

180. Кузьмина Л.П. Биохимические и молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к развитию профаллергодерматозов:/ Кузьмина Л.П., Коляскина М.М., Измерова Н.И., Лазарашвили Н.А., Безрукавников // Москва, 2011. – 45с.

181. Кулинский В. И. Обезвреживание ксенобиотиков/ В.И.Кулинский // ИркГМУ, 2010. – 24 с.

182. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология/ Кульберг А.Я. // Высшая школа, 1985. – 287 с.

183. Кучеренко Н.Е. Молекулярные механизмы гормональной регуляции обмена веществ/ Кучеренко Н.Е., Германюк Я.Л., Васильев А.Н. // Киев: Вища школа, 1986. – 248с.

184. Кучерявченко М. А. Влияние лапроксидов на состояние оксидантно-антиоксидантного взаимодействия под воздействием субтоксических доз в подостром опыте/ Кучерявченко М. А // Вісник проблем біології і медицини – 2014 – Вип. 3, Том 2(111). – С.154–157.

185. Кучерявченко М.А. Структурно-метаболическое состояние клеточных мембран при длительном субтоксическом воздействии лапроксидов/ М. А. Кучерявченко, В. И. Жуков // Фундаментальна та клінічна медицина: матеріали наукової конференції, присвяченої 90-річчю з дня народження К.С. Кабака, Київ, 29-30 травня 2014р. – Київ, 2014. – С. 33–36.

186. Лабораторные методы исследования в клинике [под ред. проф. В.В. Меншикова] // М.: Медицина, 1987. – 368 с.

187. Левковтис И. Иммунологические методы исследований/ Левковтис И. Пернис Б. // Москва, 1988. – 530 с.

188. Лефковитс И. Методы исследований в иммунологии / Лефковитс И., Пернис Б М.// Мир, 1983. – 350 с.

189. Леденцова Е.Е. Гигиеническая оценка нарушения здоровья при воздействии производственных и внешнесредовых химических факторов нефтеперерабатывающих предприятий: автореф. канд.мед.н.: спец 14.00.07/ Леденцова Е.Е. - 2003.

190. Ли Г. Новые линейные полимеры/ Ли Г., Стоффи Д. Невилл К. М.// Химия, 1972.- 280 с.

191. Лихтенштейн И.Е. Матералы к изучению обмена углеводов при инфаркте миокарда.: автореф. дис. канд. биол. наук/ Лихтенштейн И.Е. – Донецк, 1967. – 25 с.

192. Лойко Е.А. Спектрохимическое определение микроэлементов в сыворотке и моче. / Е.А. Лойко // Лабораторное дело. – 1967. - № 7. – С. 403–406.

193. Лотков В.С. Клинико-патогенетические особенности хронического воздействия хлорированных углеводов на органы дыхания и другие системы организма (Экспериментально-клиническое исследование): автореф. дисс. докт. мед. наук. – Самара. – 2000. – 38 с.

194. Лошадкин Н.А. Классификация токсичных веществ, вызывающих различные типы гипоксии на начальных стадиях интоксикации / Лошадкин Н.А., Абнизов С.С // Токсикологический вестник. – 1995. – №3. – С.25–27.

195. Лошинский А.В. Определение активности ферментов фибринолитической системы с использованием фибриногена, конъюгированного с пероксидазой/ Лошинский А.В., Афанасенко Г.А., Гудкова Е.В. // Лабораторное дело. – 1991. - №11. – с. 27–31.

196. Лубяко А.А. Регуляция клеточного гомеостаза/ Лубяко А.А. // Л., 1990. – 66 с.

197. Лукьянчук В.Д. Акрилаты: токсикология, терапия и профилактика отравлений / Лукьянчук В.Д., В.Н.Радионов // Современные проблемы токсикологи.- 2003. – № 2. – С. 26–34.

198. Ляхович В.В. Активизированные кислородные метаболизмы в монооксигеназных реакциях/ Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – №4(118). – С.7–12.

199. Макарченко А.Ф. Роль нейрогуморальных систем гипоталамуса в физиологии и патологии/ Макарченко А.Ф., Динабург А.Д., Лаута А.Д. // Киев: Наукова думка, 1978. – 216 с.

200. Максименко В.А. Реактивность и резистентность организма, значение реактивности в патологии. Патогенное действие факторов окружающей среды на организм / В.А.Максименко // Благовещенск, 2011. – 12с.

201. Маколкин В.И. Внутренние болезни / В.И.Маколкин, С.И.Овчаренко, В.А.Сулимов // М:ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 768 с.

202. Малахома М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме/ Малахома М.Я. // Эфферентная терапия. – 2000. - №4. – С.3–14.

203. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма/ Малышев И.Ю.// Рос. журнал Гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1977. –№1. – С. 49–55.

204. Маракүшин Д.И. Влияние «неонолов» марок АФ9-12 и АФС9-6 КМ на состояние иммунологической реактивности в подостром

- токсикологическом опыте/Маракушин Д.И., О.А. Наконечная, С.А. Стеценко// Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т.1. – №2 (100). – С.175–179.
205. Матлина Э.Ш. Методы исследования некоторых гормонов и медиаторов/ Матлина Э.Ш. // Москва. – 1965. – 205 с.
206. Махамбетов К.О. Изучение иммунного статуса у работников химической промышленности в связи с особенностями факторов окружающей среды: автореф. дис. канд. мед. наук/ Махамбетов К.О. – М., 1992. – 23с.
207. Медведев А.Е. Роль моноаминоксидаз в регуляции энергетических функций митохондрий / Медведев А.Е., Горкин В.З. // Вопросы мед химии, 1991. – Т. 37. - № 5. – С. 2–6.
208. Медведев А.Е. Окислительная модификация моноаминоксидаз/ Медведев А.Е., Типтон К.Ф. // Вопросы мед химии, 1997. – Т.43. – №6. – С. 417–418.
209. Меин М.В. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Меин М.В. // Лабораторное дело. – 1986. - №12. – С. 724–727.
210. Мерков А.М. Санитарная статистика: Пособие для врачей / А.М. Мерков, Л.Е. Поляков// Ленинград, 1974. - 384 с.
211. Меркурьева Р.В. Методические рекомендации биохимические методы определения активности ферментов и фермент-субстратных систем различной клеточной локализации / Р.В. Меркурьева, Г.Л.Блич, Р.П. Нарциссов //М., 1982. - С. 19 - 21
212. Метаболизм и определение токсикантов различных химических групп в биосубстратах человека // Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов// Москва, 2008. – С. 697–712.
213. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, Н.И. Соловьева и др. //Лабораторное дело. – 1987. – №5. – С. 330–332.
214. Методические указания по изучению аллергенного воздействия при обосновании предельно-допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов// Москва, МЗ СССР.- 1984; 2185-80
215. Методические указания по изучению влияния факторов окружающей среды на иммунобиологическую реактивность. К.: МЗ УССР, 1986;2185-80.
216. Механизмы гомеостаза Начала физиология [учебник для вузов / под редакцией акад. А.Д. Ноздрачева]. – СПб. «Высшая школа», 1991. Т.1. – 512 с.
217. Мешкова Н.П. Практикум по биохимии/ Мешкова Н.П., Северин С.Е.// Москва: МГУ, 1979. – 428 с.
218. Мишишен І. Ф. Простагландини / І. Ф. Мишишен, В. П. Пішак, Н. П. Григор'єва// Чернівці, 1997. – 69 с.
219. Михайлов В.В. Основы патологической физиологии:/В.В.Михайлов // М.: Медицина, 2001. –704 с.

220. Можаяев Е.А. Загрязнение водоемов поверхностно-активными веществами / Можаяев Е.А. // М.: Медицина, 1976. – 93 с.

221. Морфофункциональная характеристика почек крыс с учётом уровня общей неспецифической реактивности организма при остром отравлении этанолом, этиленгликолем и уксусной кислотой / Меденцов А.А. // мат. VI съезда судебных медиков.- М.-Тюмень, 2005. - №. - С. 38–45.

222. Московченко О. Н. Комплексное исследование и коррекция адаптивных возможностей, здоровья индивида с помощью автоматизированной интегральной системы : автореф. дис. на соиск. науч. степени доктора биол. наук : спец. 03.00.13 - физиология человека и животных / О. Н. Московченко. – Ростов-на-Дону, 2003 – 36 с.

223. Мошков С.А. Определение ферментативной активности и иммунореактивности церулоплазмينا в сыворотке крови человека/ Мошков С.А. // Лабораторное дело. – 1985. - № 7. – С. 390–395.

224. Мурзенко В. О влиянии пластика на организм человека/ И.Мурзенко // gazeta.bytdobru.info.-№ 11(47)

225. Мусийчук Ю.И. Хронические отравления химическими веществами/ Мусийчук Ю.И., Широков А.Ю., Рева В.Д., Мерзлякин Л.А//Москва, 2011. – 260 с.

226. Мухальська Є.Б. Стан антиоксидантної системи за токсичного ураження важкими металами та фосфорорганічними сполуками / Є.Б. Мухальська, Я.І. Гонський // Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової науково-практичної конференції – Тернопіль, 2012. – 246 с.

227. Мухин Н.А. Клиническое значение дисбаланса микроэлементов/ Мухин Н.А., Козловская Л.В., Барашков Г.К. [и др.] // Микроэлементы в медицине. – 2005. – Т.6, – Вып. 1 . – С. 42–45.

228. Мушкамбаров Н.Н. Молекулярная биология/ Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л.// ООО «Медицинское Информационное Агентство», 2003. – 536 с.

229. Мышкин А.В. Окислительный стресс и повреждения печени при химических воздействиях / А.В. Мышкин, А.Б. Бакиров. – Уфа, 2010. – 176 с.

230. Насобина С.А. Изучение токсичности простых полиэфиров / Насобина С.А., Сорокин М.В., Горбунова В.Д. // Отчет. – М.: ЦОЛИУВ, 1977. – 126 с.

231. Науменко Е.В. Сератонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы/ Науменко Е.В., Попова Н.К.// -Новосибирск, «Наука» 1975. – 213 с.

232. Невзорова В.А Роль матриксных металлопротеиназ в формировани морфофункционального дисбаланса воздухоносных путей при хронической обструктивной болезни легких/ Невзорова В.А, Т.В. Тилик, Е.А. Гилицанов, Е.А. Панченко, С.Е. Вахрушева, В.В. Тилик // Тихоокеанский медицинский журнал.- 2011.- №2.- С.10–14.

233. Неврология / под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, А.Б. Гехт//М: ГЭОТАР -Медиа. – 2010. – 1040 с.
234. Николаев С.Б. Состояние энергетического гомеостаза гепатоцитов в условиях острой ишемии печени/ Николаев С.Б., Быстрова Н.А., Николаева О.Б. // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 2 – С. 109–109.
235. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса/ Никулин Б.А.// М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 376с.
236. Окись этилена. Часть I. Строение и свойства окиси этилена. Особенности реакционной способности окиси этилена и строение её молекулы // Под ред. проф. П. В. Зимакова и к. т. н. О. Н. Дымента. - М.: Химия, 1967. – С. 15–17.
237. Оковитый С.В. Гепатопротекторы / Оковитый С.В., Безбородкина Н.Н., Углейчик С.Г., Шуленин С.Н.// М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
238. Олейник С.Ф. Биология канцерогенеза / С.Ф. Олейник, М.В. Панчишин // Львов, Вища школа. – 1987.– 177 с.
239. Омельченко С.И. Сложные олигоэфиры и полимеры на их основе/ С.И.Омельченко // Киев, Наукова думка. –1976. – 217 с.
240. Онищенко Г.Г. Специфическая индикация патогенных биологических агентов/ Онищенко Г.Г. // М.: МП Гигиена, 2006. – 288 с.
241. Определение коллагенлитической активности плазмы крови / П,Н, Шараев, В.Н. Пишков, Н.Г. Зворыгина [и др.]// Лабораторное дело. – 1987. – №1 . – с. 60-62.
242. Орлов Р.С. Нормальная физиология / Р.С. Орлов, А.Д. Ноздрачева.// М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 696 с.
243. Основи законодавства України про охорону здоров'я. Затверджені Постановою Верховної Ради України № 2801-12, остання редакція від 12.06.2011. – Київ, – 2011.
244. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду/ [Онищенко Г.Г., Новиков С.М., Рахманин Ю.А. и др.]// М.: НИИ ЭЧ и ГОС, 2002. – 408с.
245. Ошлянська О.А. Роль неспецифічної клітинної імунної відповіді у формуванні ауто імунітету / О.А. Ошлянська, Л.І. Омельченко, В.П. Чернишов, Л.В. Галазюк // Перинатологія і педіатрія. – 2008. – № 3. – С. 83–85.
246. Парантайнен Д. О роли катехоламинов в регуляции образования простагландинов и лейкотриенов/ Парантайнен Д. // НИИ фармакологии АМН СССР. – М., 1990. – С. 245–259.
247. Патогенное действие факторов внешней среды [учебник для студентов мед. вузов] Н. Н. Зайко, Ю. В. Быць, А. В. Атаман [и др.]// К.: "Логос", 1996.
248. Патофизиология. Основные понятия [под ред. А.Е.Ефремова] //2010. –256 с.

249. Передерий В.Г. Иммуный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В.Г. Передерий, А.М. Земсков, Н.Г. Бычкова, В.М. Земсков//К.: Здоров'я, 1995, – 211 с.

250. Петров Р.В. Иммунология/ Петров Р.В.// М.: Медицина, 1983. – 21 с.

251. Пивень В.И. Эколого-гигиенические основы прогнозирования потенциальной опасности новых групп ксенобиотиков, продуктов их деструкции и биотрансформации в связи с проблемой санитарной охраны водоемов: дис. д.мед.н.: спец. 14.00.07 - гигиена / Пивень Валерий Игнатьевич// Ростов-на-Дону. – 387 с.

252. Пилат Т.Л. Детоксикационное питание/ Пилат Т.Л., Кузьмина Л.П., Измерова Н.И. // М.: «ГЭОТАР-Медиа». – 2012. – 685 с.

253. Пискарева, Е.И. Сравнительная характеристика изменений в тканях легких при воздействии малых доз токсических веществ / Е.И. Пискарева, О.В. Здорнова, Г.Л. Радцева // Вопросы морфологии XXI века: сб. науч. трудов, посвященный 100-летию каф. мед. биол. СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2008. - Вып.1. – С. 242–244.

254. Плещитый К.Д. Витамины и иммунитет/ Плещитый К.Д. // Вопросы питания.-1997. - №4. – С. 9–11.

255. Подильчак М.Д. Клиническая энзимология. Определение церулоплазмينا в сыворотке крови по Равину/ Подильчак М.Д. // Киев, 1967. – С. 85 – 87.

256. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике/ Покровский А.А. // М: Медицина, 1969. – 652 с.

257. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты и предрасположенность к хронической обструктивной болезни легких / Д.Г. Янбаева [и др.] // Молекулярная медицина. – 2005. – №2. – С. 58–63.

258. Попова Л.Д. Олигоэфиры – модуляторы радиомиметических эффектов / Попова Л.Д., Жуков В.И., Мясоедов В.В // Медицина сегодня и завтра. ХГМУ. – 2004. – №4. – С.51–59.

259. Попова Т.Н. Свободнорадикальные процессы в биосистемах/ Попова Т.Н., Пашков А.Н., Семенихина А.В. // Старый Оскол, 2008. – 192с.

260. Попова Л.Д. Функциональная биохимия печени/ Попова Л.Д., Давыдов В.В., Жуков В.И. //Харьков, 2009. – 115 с.

261. Практикум по биохимии [под ред. С.Е. Северина, Т.А. Соловьевой]//М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.

262. Прокопьева В.Д. Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов на клеточные мембраны *in vitro* и *in vivo*: автореф. д. биол. наук: спец. 03.00.13, 03.00.04 / Прокопьева В.Д. -2004.

263. Протасова О.В. Исследование взаимосвязи между дисбалансом содержания макро- и микроэлементов в организме и развитием морфологических дезинтеграций в биологических жидкостях и тканях/

Протасова О.В., Максимова И.А., Ботвин М.А. // Физиология человека. – 2007. – Т. 33, №2. – С. 104–109.

264. Рафф, Г. Секреты физиологии / Г. Рафф ; пер. Д. Абдурахманова [и др.] // М. – СПб. : БИНОМ – Невский диалект, 2001. – 448 с.

265. Резуненко Ю.К. Гигиеническое обоснование прогноза потенциальной опасности полиолов на основе глицерина, ксилита, этилен- и пропиленгликоля в связи с проблемой санитарной охраны водных экосистем: дис. д.м.н.: спец. 14.02.01 - гигиена и профессиональная патология / Резуненко Юрий Константинович, Харьков 2013. – 248 с

266. Робу А.И. Стресс и гипоталамические гормоны/ Робу А.И// Кишнев: «Штиинца», 1989. – 220 с.

267. Роуз М.Дж. Эритроциты. Тромбоциты. Гемостаз и тромбоз / М.Дж. Роуз // Патофизиология крови ; пер. Н.Б. Серебряной, В.И. Соловьева / Н. Берлинер [под ред. Ф.Дж. Шиффман] // М. – СПб. : БИНОМ – Невский диалект, 2000. – 448 с.

268. Руководство к лабораторным работам по биологической химии [под ред. Т.Т. Березова.] // М.: Медицина, 1976. – 256 с.

269. Руководство по гематологии [под ред. А.И. Воробьева]// М.: Ньюдиамед, 2005.- 3-е издание. – 416 с.

270. Рыбальченко В.К., Кочанов М.М. Структура и функции мембран/ Рыбальченко В.К., Кочанов М.М. // Киев, «Вища школа», 1988. – 311 с.

271. Савлуков А.И. Метаболические процессы в организме при воздействии химических загрязнителей / А.И. Савлуков, Р.Ф. Камилев, В.М. Самсонов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – №7. – С. 33–39.

272. Саркисова Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Саркисова Д.С. // Москва: Медицина, 1987. – 343 с.

273. Северин С.Е. Практикум по биохимии / Северин С.Е., Соловьева Т.А. // М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 160 – 161.

274. Серебров В.Ю. Трудные вопросы биохимии (избранные лекции по общей и частной биохимии)/ Серебров В.Ю., Федорова Т.С., Канская Н.В. [и др.]// Томск, 2006. – 317 с.

275. Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер // М.: Медицина, 1981. – 312 с.

276. Синтез и исследование гипополипидемических свойств некоторых 8α -аналогов стероидных эстрогенов / Е. В. Гриненко, И. Ю. Каменева, Ш. Н. Абусалимов // Вестн. С.-Петерб. ун-та. – 2007. – Сер. 4, Вып. 3. – С. 111–119.

277. Сеницына О.О. Научные основы системы регионального нормирования химических веществ в окружающей среде с учетом комплексного действия на организм: дисс доктор мед. наук: спец. 14.00.07-гигиена / Сеницына Оксана Олеговна, Москва, 2004. – 394 с.

278. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине/ Скальный А.В., Рудаков И.А. // М.: ОНИКС 21 век, изд-во «Мир». – 2004. – 216 с.

279. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / Скальный А.В.// М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 216 с.
280. Скрининговые методы для выявления групп повышенного риска среди рабочих, контактирующих с токсичными химическими элементами /Сост. Любченко П.Н., Ревич Б.А., Ревченко Н.А.// М. –1989. – С. 32–35.
281. Скулачев В.П. Аккумуляция энергии в клетке/ Скулачев В.П.//М.: Изд-во «Наука», 1969. – 408 с.
282. Скурихин И.М. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / И.М. Скурихин, В.А. Тутельян //М.: Медицина. – 1998. – С. 128–130.
283. Смагулов Н.К. Актуальные проблемы комплексной оценки риска для здоровья городского населения факторов окружающей среды/ Смагулов Н.К., Ажиметова Г.Н., Цой В.А.// Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 10 – С. 267–270.
284. Смоляр В.И. Ионизирующая радиация и питание/ Смоляр В.И. // Киев: «Здоровья», 1992. – 176 с.
285. Справочник по гигиене применения полимеров [под ред. К.И. Стенкевича] //Киев. Здоровье. – 1984. – С. 31–43.
286. Стожаров А.Н. Медицинская экология / Стожаров А.Н.//Минск : Выш. шк., 2008. – 368 с.
287. Строев Е.А. Биологическая химия / Строев Е.А. // М.: Высшая школа. 1986. – 470 с.
288. Судаков К.В. Общая теория функциональных систем / Судаков К. В.// Медицина, 1984. – 224 с.
289. Сыч В.Ф. Введение в нанобиологию и нанобиотехнологии/Сыч В.Ф., Дрождина Е.П., Санжапова А.Ф. // С–Петербург, 2012. – 256 с.
290. Тимашева Г.В. Диагностическая значимость биохимических и гематологических изменений у работников нефтехимической промышленности/ Тимашева Г.В., Валеева О.В. // Медицина труда и пром.экология. – 2009. –№11. –С. 20–23.
291. Тимерзянов М. И. Условия труда, состояние здоровья рабочих, занятых на производствах оксида этилена и синтетического каучука: дисс. канд.мед.н.; спец. 14.00.07- гигиена/Тимерзянов Марат Исмагилович, 2000. – 206 с.
292. Типтон К.Ф. Ингибиторы МАО и прессорный ответ на пищевые амины/ Типтон К.Ф. // Вопросы мед химии. 1997. – Т.43. – №6. – С. 494–498.
293. Ткачева Т.А. Оценка потенциального риска развития вредных эффектов при воздействии химического фактора на основе различных токсикологических параметров/ Ткачева Т.А. // Меди труда и промышленная экология. -2008. №6.-С. 69-73.

294. Токсикология продуктов нефтехимической промышленности. Ароматические углеводороды. / А.Б. Бакиров, О.М. Дубинина, Н.Ю. Хунсутдинов // Уфа, 2010. – 52 с.
295. Токсикология и санитарная химия полимеризационных пластмасс. Сборник научных трудов [под ред. Б.Ю. Калинина] // Ленинград, 1984.- С. 384–386.
296. Уровни организации биологических систем [отв. ред. А. М. Молчанов] // М. : Наука, 1980. –105 с.
297. Ушаков И. Б. Адаптационный потенциал человека / И. Б. Ушаков, О. Г. Сорокин // Вестник РАМН. – 2004. – №3. – С. 8–13.
298. Фаллер Д.М. Молекулярная биология клетки./ Фаллер Д.М., Шиллерс Д. [пер. с англ.] //М.: БИНОМ–Пресс, 2003. – 268 с.
299. Федосеева Т.А. Гигиеническое обоснование прогнозирующей способности альтернативного метода при оценке опасности моющих и чистящих средств: автореф. дис. канд.биолог. н.: спец. 14.00.07 -гигиена /Федосеева Татьяна Александровна. – Москва, 2007–127 с.
300. Федорова Т. К. Реакция с ТБК для определения МДА крови методом флюориметрии/ Федорова Т. К., Коршунова Т.С., Ларская Э.Т. //Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 25 – 28.
301. Федтке М. Химические реакции полимеров/ Федтке М. // Москва. Химия. 1990. – С. 58 – 65.
302. Физиология. Основы и функциональные системы [под ред. акад. К.В.Судакова.] // М: Медицина, 2000. – 224 с.
303. Физиология центральной нервной системы / Т.В.Алейникова, В.Н.Думбай // Ростов-на-Дону: Феникс, 2000. – 224с.
304. Финдлей Д. Биологические мембраны. Методы. / Дж. Финдлей, Б. Эванз У. // Из-во Мир, 1990. – 424 с.
305. Филатов А.А. Принципы и механизмы регуляции гипофизарно-адренокортикальной системы / Филатов А.А. //Ленинград. – изд-во «Наука», 1987. – 136 с.
306. Фримель Х. Иммунологические методы /Фримель Х. //М., 1987. – 495 с.
307. Фомина В.С. Роль системы матриксных металлопротеиназ в патогенезе профессиональных заболеваний органов дыхания/ В.С.Фомина// Москва, 2010. – 14 с.
308. Фомина В.С. Роль системы матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в патогенезе профессиональных заболеваний легких/ Фомина В.С., Л.П. Кузьмина //Медицина труда и промышленная экология. – 2010. – №7. – С. 29–33.
309. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты/ Фрейдлин И.С.// СПб.: 1998. – 113 с.
310. Фролов Н.Ю., Исследование системы циклических нуклеотидов различных отделов миокарда собак при экспериментальном инфаркте/ Фролов

Н.Ю., Принцев М.Д., Третьяков А.В., Кожемякин Л.А., Коровкин Б.Ф. // Вопросы мед. химии. – 1989. – № 1. – с. 64–68.

311. Хантурина Г.Р. Цитогенетические нарушения при интоксикации солями цинка и меди / Хантурина Г.Р., Ибраева Л.К., Норцева М.А. // Современные наукоемкие технологии. – 2011. – № 3 – С. 13–15.

312. Харди Ричард. Гомеостаз / Р. Харди ; пер. с англ. А. М. Алпатова // М. : Мир, 1986. – 81 с.

313. Чеваи С. Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале/ Чеваи С. // Лабораторное дело. – 1985. - №11. – С. 678–680.

314. Чередеев А.Н. Оценка иммунологического статуса человека/ Чередеев А.Н. // Москва. – 1980. – 20 с.

315. Чернушенко Е.Ф. Иммунология и иммунопатология заболевания легких/ Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. // К.: Здоров'я, 1981. –208 с.

316. Черняк Ю.И. Влияние стойких органических загрязнителей на биотрансформацию ксенобиотиков / Ю.И. Черняк, Д.А. Грассман, С.И. Колесников//Новосибирск : Наука, 2007. - 134 с.

317. Чеснокова Н.П. Возможности эффективного использования антиоксидантов и антигипоксантов в экспериментальной и клинической медицине/ Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. // Успехи современного естествознания. – 2006. – №8. – С.18–25.

318. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах/ Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. // Успехи современного естествознания. – 2006. – №7. – С.29–36.

319. Чеснокова Н.П. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии/ Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А.// Успехи современного естествознания. – 2008. – № 3 – С. 25–33.

320. Чепурнов В.А. Нарушения липидного обмена у работников нефтеперерабатывающих предприятий / В.А. Чепурнов, В.Г. Бовтюшко, Г.А. Поддубский, Г.А. Софронов, А.А. Иванов // Медицинский академический журнал. – 2005. –Т.5. – № 1. –С. 106 – 119.

321. Чиганова М.А. Оценка ксенобиотического профиля водных объектов: проблемы и результаты / Чиганова М.А., Баренбойм Г.М. // Органическое вещество и биогенные элементы во внутренних водоемах и морских водах: матер. V Всероссийского симпозиума с международным участием (10-14 сентября 2012, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия). – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. – 2012. – С. 430–435.

322. Циганенко А.Я. Методические основы регламентации сложных смесей триэтаноаминовых солей алкилфосфатов и алкилполифосфатов в воде

водоемов/ Цыганенко А.Я., Щербань Н.Г., Бондаренко Л.А. [и др.]// Белгород, 2001. – 178 с.

323. Цыганенко А.Я. Токсиколого-гигиеническая характеристика органических смесей на основе гликолей в связи с проблемой санитарной охраны водоемов/ Цыганенко А.Я., Шаповал Л.Г. [и др.] // Белгород, 2001. – 147 с.

324. Цыперович А.С. Ферменты / А.С. Цыпаревич// Киев: Техника, 1971. – 360 с.

325. Шаляпина В.Г. Физиология гормональной рецепции/ В.Г.Шаляпина // Л.: Наука, 1986. – 230 с.

326. Шакиров Д.Ф. Изучение состояния здоровья у работников химической и нефтехимической промышленности / Д.Ф. Шакиров, Ф.Х. Камиллов, В.М. Самсонов и др. // Актуальные проблемы в области образования и здравоохранения: сборник научных статей. — Уфа, 2004.- С. 138 141.

327. Шефтель В.О. Вредные вещества в пластмасах/ В.О.Шефтель // Москва, «Химия» . –1996. –738 с.

328. Шевченко В.Г. Токсиколого-гигиеническая характеристика блоксополимеров окиси этилена и пропилена в целях нормирования их в воде водных объектов: автореф. дис. канд. мед.н.: спец. 4.00.07 — гигиена/Шевченко Валерий Григорьевич.- Москва, 2004. –26с.

329. Шилина Н.М. Роль пищевых веществ в функционировании системы антиоксидантной защиты организма// Шилина Н.М., Конь И.Я. // Вопросы детской диетологии. – 2003. – Т.1- №4. – С.53–57.

330. Шилов В.Н. Молекулярные механизмы структурного гомеостаза/ Шилов В.Н. //М.: Интерсигнал, 2006. – 288 с.

331. Шюшене М.Ф. Активность некоторых ферментов гликолиза и креатинкиназы в сердечной мышце при экспериментальном инфаркте миокарда и стимуляции в нем восстановительных процессов: автореф. дис. канд. биол. наук./ Шюшене М.Ф. – Каунас, 1970. – 21 с.

332. Щербань Н.Г. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ/ Щербань Н. Г., Жуков В. И., Мясоедов В. В., Капустник В. А.// Харьков: «Раритеты Украины», 2012. – 120 с.

333. Щербань Н.Г. Оценка рисков здоровья населения опасных отходов (биологические аспекты)/Н.Г. Щербань, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов//Х.: Віровець А.П. «Апостроф», 2010. – 156с.

334. Щербатых Ю.В. Физиология центральной нервной системы / Ю. В. Щербатых, Я. А. Туровский [и др.] //М. ; СПб: Питер, 2007. – 208 с.

335. Экспериментальная витаминология [под ред. Ю.М. Островского] // Минск: Наука и техника, 1979. – 550 с.

336. Эндокринология [под редакцией И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко] //М. :ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 752 с.

337. Энциклопедия клинических лабораторных тестов: [учебник/ под ред. Тица Н.У.] .-Москва: Лабинформ. – 1997. – 942 с.
338. Этилен и пропилен. Хроматографические методы анализа. ГОСТ 24975.1 81-М.: Издательство стандартов, – 1981.
339. Эфферентная терапия [под ред. А.Л. Костюченко]//СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 432 с.
340. Яппаров Р.Н Свободнорадикальное окисление у работников нефтехимической промышленности/ Р.Н. Яппаров, Р.Ф. Камиллов, Д.Ф. Шакиров [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. 2007. - № 8. - С. 14 - 19.
341. Ярилин А.А. Иммунология/ А.А.Ярилин // М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 752 с.
342. Asaoka K. Takahashi K. An enzymatic assay of reduced glutathione using glutathione S-ary e transferase with O-dinitrobenzene as a substrate // J/ Biochem. – 1981. – 90, №5. – P. 1237—1242.
343. Atack C., Magnusson T.A. Procedure for the isolation of noradrenaline, adrenaline, dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin // «Acta pharmacol et toxicol».–1978. –V.42. –P.35–57.
344. Badawe A., A. – B., Evans M. The effect of chemical porphrogens and drugs on activity of rat liver tryptophan pyrrolase // Biochem J. – 1973. – Vol.136 – P.885–892.
345. Bernt E. Methoodeene der enzymatisschen analize/ E. Bernt, H.U. Bergmeyer// Acta pharm. et toxic. – 1981. – V 48.– P. 1659–1665.
346. Beutler E. Method of enzymatic analysis //New York. – 1975. – vol. 1, №3. – p. 565 – 566.
347. Burchell B. Weatheril P. 4 – nitrophenol UDP – glucuronyltransferase // Meth. Enzymol. – 1981. – vol. 77. – P.169-171.
348. Chance B., Williams G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation J. kinetics of oxyden utilization. – J. Biol. Chem., 1955, vol.217, – p. 383–395.
349. Claman H.N. Thymus-marrow cell combinations: Synergism in antibody production. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122: 1167–1171.
350. Cormana E. Purification of GABA on small colonus of Dowex: combination with a method for separation of biogenic amines/ E. Cormana, C. Vomes, V.Trolin// Acta pharm. et toxicol. –V. 46.– P. 235–240.
351. Dawson V.L., Dawson T.M. Nitric oxide neurotoicity. J. Chem. Neuroanat. 1996; 3-4: 179–190.
352. Dijk H., Bloksma N. On antification in vitro antibody secretion by immune spleen cells. Immunol. Methods 1977; 14: 325–331.
353. Endo Y., Ogura Y. Arapid and simple determination of histamine and polyamines // Japan J. Pharmacol. – 1975. - № 25. – P. 610–612.

354. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg – 1986. – № 123 – 52p.

355. Forstermann U., Closs E.I., Poilock J.S. et al. Nitric oxide synthase isozymes, characterization, purification, molecular cloning and function. *Hypertension* 1994; 23: 1121–1131/

356. Gaitonde M.K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of the naturally occurring amino acid // *Biochem. J.* 1967. vol. 104, № 2. – P. 627–633.

357. Gill D.M. An improved method for isolation of rat liver nuclei by density centrifugation // *J. Cell. Biologi.* – 1965. – vol. 24. – P. 157–161.

358. Gummings J. Graham A.B. Wood G.C. Kinetic studies of latent microsomal UDP – glucuronyltransferase kinetics of glucuronidation in intact and perturbation-treated membranes // *Biochim. Biophys. Acta* – 1984. – vol. 771, № 2. – P. 127–141.

359. Habig W.H. Jacobi W.B. Assays for differentiation of glutathione – S-transferase // *Meth. Enzymol* – 1981. Vol. 77. – P. 398 – 405.

360. Harboe M.A. Methods for determination of hemoglobin in plasma by near – ultraviolet spectrophotometry // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1959. – № 11. – C. 66–70.

361. Hedgist P. Activities of prostaglandins and prostaglandin-endoperoxides at adrenergic neuroeffector function / P. Hedgist // *Acta biol. et med. Germanica.* – 1993. – V. 33, № 8 (9). – P. 1135–1139.

362. Howley Edward T. *Fitness Professional's Handbook* / Edward T. Howley, B. Don Franks. – United States: Human Kinetics, 2007. – 568 p.

363. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque-formation in agar by single antibody producing cell. *Scien.* 1963; 140:405–406.

364. Jondel M. Surface markers on human T- and B-lymphocytes A. Large population of lymphocytes forming non immune rosettes with sheep red blood cells. *J. Exp. Med.* 1972; 2: 207–215.

365. Joworek D. Gruber W., Bergmeyer H.U. Adenosin – 5 – diphosphat and Adenosin – 5 – monophosphate // In: Bergmeyer H.V. (ed). *Methoden der enzymatischen analyse* – Bd. II. Wierhheim // Cnemic. – 1974. – S. 2174–2181.

366. Landrigan P.J., Garg A. Chronic effects of toxic environmental exposures on children's health // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 2002. – Vol. 40, № 4. – P. 449–456.

367. Levitt P., Pintar J.E. and Breakefield X.O. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1982, 79, 6385–6389.

368. Mathien-Nolf M. Poisons in the air: A cause of chronic disease in children // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 2002. – Vol. 40, № 4. – P. 483–491.

369. Moncada S., Higgs A. Mechanisms of disease: the L-arginine-nitric oxide pathway // *New Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329. – P. 2002–2012.

370. Nathan C., Xie Q. Nitric oxide synthases: roles, roles and control. *Cell* 1994; 79: 915–918.
371. Ravin H.A. Effect ceruloplasmin on plasma iron in copper deficient swine. // *Amer. J. Physiol.* 1961, – №217. – №5: P. 1320–1323.
372. Seeman P. Nomenclature of central and peripheral dopaminergic sites and receptors. *Biochem. Pharmacol.* –1982; 31: 2563-68
373. Shertzer H.G., Cascarono J. Anaerobic rat heart; mitochondrial role in calcium uptake and contractility// *J. Exp. Zool.* – 1979. – V.207. – P. 337–350.
374. Slabo G., Kovacs G.L. Telegdy G. A modified screening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenaline and serotonin in the same brain region // *Acta Physiol. Hung.* – 1983. – vol. 61 (1–2). – P. 51–57.
375. Steiner A.L., Wehmann R.E. Parker Ch.W. Radioimmunoassay for measurement of cyclic nucleotides // *Advances in cyclic nucleotides research.* – Raven Press. H.J. – 1972. – vol. 2. – p. 51–52.
376. Rice-Evans C.A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research / C.A. Rice-Evans, A.T. Diplock, M.C.R. Symons. – London. N. Y.: Acad. Press, 1991. – 346 p.
377. Weber W.W. King C.M. N-acetyltransferase and Arylhydroxamic Acid acyltransferase// *Meth. Enzymol* – 1981. Vol. 77. – P. 272–281.