

10. Jayakody L., Senaratne M., Thomson A., et al. Endothelium-dependent relaxation in experimental atherosclerosis in the rabbit // *Circ. Res.* — 1987. — 60, № 2. — P. 251—264.
11. Katusic Z., Shepherd J. Endothelium-derived vasoactive factors. II. Endothelium-dependent contraction // *Hypertension.* — 1991. — 18, № 5, Suppl. — P. 86—92.
12. Menzoian J., Haudenschild., Shipman J. et al. Functional alteration of endothelium by short-term cholesterol feeding // *Exp. and Mol. Pathol.* — 1986. — 45, № 3. — P. 270—278.
13. Nagao T., Vanhoutte P. Hyperpolarisation as a mechanism for endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery // *J. Physiol.* — 1992. — 445. — P. 355—367.
14. Sagach V.F., Tkachenko M.N. On the mechanism of the involvement of endothelium in reactive hyperemia // *Experientia.* — 1991. — 47, № 6. — P. 828—830.
15. Sagach V.F., Kindyalyuk A.M., Kovalenko T.M. Functional hyperemia of skeletal muscle: role of endothelium // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1992. — 20, № 12. — P. S170—S175.
16. Shepherd J., Katusic Z. Endothelium-derived vasoactive factors. I. Endothelium-dependent relaxation // *Hypertension.* — 1991. — 18, № 5, Suppl. — P. 76—85.
17. Sreeharan N., Jayakody R., Senaratne M. et al. Endothelium-dependent relaxation and experimental atherosclerosis in the rabbit aorta // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* — 1986. — 64, № 11. — P. 1451—1453.
18. Tolins J., Shultz P., Paiz L. Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of vascular tone and remodeling: update on humoral regulation of vascular tone // *Hypertension.* — 1991. — 17, № 6, Pt. 2. — P. 909—916.
19. Verbeuren J., Coene M., Jordaens F. et al. Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. II. Influence of treatment with dipyridamole on endothelium-dependent and endothelium-independent responses in isolated aorta of control and hypercholesterolemic rabbits // *Circ. Res.* — 1986. — 59, № 5. — P. 496—504.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця
НАН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 28.06.93

УДК 577.161.2

А.В.Параніч, Л.І.Параніч, Н.М.Василенко, О.В.Бугай, Л.В.Бутенко, І.В.Сиса, Т.Л.Ф.Ортіс

Вплив нітробензолу та його хлорпохідних на антиокислювальний гомеостаз

В експериментах на крысах-самцах исследовали влияние нитробензола, о- и п-нитрохлорбензола на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиокислительную активность (АОА), содержание витаминов Е в селезенке и печени, а также некоторые гематологические показатели животных. Показано, что изучаемые вещества в полудетальной дозе (LD₅₀) в остром опыте (пять внутрижелудочных введений) вызывают ухудшение гематологических показателей, усиление ПОЛ в селезенке. При этом повышаются АОА и содержание витамина Е. В условиях субхронического воздействия (30 введений) отмечается стабилизация исследуемых параметров, что свидетельствует об активной адаптации организма к действию указанных ксенобиотиков, а также об активной роли в этом процессе системы регуляции антиокислительного гомеостаза.

Вступ

Нітробензол (НБ) та його хлорпохідні широко використовуються у промисловості для синтезу барвників, лікарських препаратів та інших речовин. Для людей, які мають відношення до виготовлення та зберігання цих речовин, вони несуть загрозу отруєння. Небезпечність вказаних сполук відома

© А.В.ПАРАНІЧ, Л.І.ПАРАНІЧ, Н.М.ВАСИЛЕНКО, О.В.БУГАЙ, Л.В.БУТЕНКО, І.В.СИСА, Т.Л.Ф.ОРТИС, 1994

[3, 13], але шляхи їх біотрансформації повністю не відкриті. Відома участь у детоксикації нітропохідних бензолу загальних систем метаболізму ксенобіотиків [1, 2, 5, 14], а також перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [6, 7, 9]. Але у літературі практично немає свідчень про роль антиокислювальних (АО) систем та жиророзчинних вітамінів у забезпеченні нормального функціонування систем організму за умов гострої та субхронічної дії НБ та його нітрохлорпохідних. Саме тут слід шукати ефективні засоби застереження професійних захворювань за допомогою дієтичних факторів.

Виходячи з цього, метою нашого дослідження було вивчення інтенсивності ПОЛ, антиокислювальної активності (АОА) та вмісту вітаміну Е у печінці та селезінці щурів у залежності від часу дії НБ, *o*-нітрохлорбензолу (ОНХБ) та *p*-нітрохлорбензолу (ПНХБ).

Методика

Досліди провадили на 250 безпородних щурах-самцях масою 200—300 г. Тварин утримували за умов віварію та звичайного збалансованого раціону. Для вивчення впливу ксенобіотиків підгостре отруєння здійснювали введенням (5 та 30 разів) у шлунок 1/10 напівлетальної їх дози (LD_{50}), що складало (мг/кг): для НБ — 70, для ОНХБ — 51, для ПНХБ — 83. Речовини вводили за допомогою зонда у вигляді 1 %-вого масляного розчину [3]. Тварини контрольної групи отримували таку саму кількість соняшникової олії. Після закінчення введення ксенобіотиків тварин декапітували, вилучали печінку та селезінку, заморожували їх у рідкому азоті і зберігали до аналізу. Після кріоподрібнення та дефростації готували 20 %-вий гомогенат на фосфатному буфері (рН 7,4) і використовували для визначення досліджуваних показників. Вміст первинних продуктів ПОЛ: дієнових, триєнових, оксодієнових кон'югатів (ДК, ТК, ОДК відповідно) та тетраєнових кон'югатів ПОЛ, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (МДА), визначали колориметрично [12]. Загальну АОА визначали у моделі термічного автоокислення олеату [10] і виражали у відносних одиницях. Після лужного гідролізу гомогенатів у гексанових екстрактах спектрофотометрично визначали вміст α -токоферолу (ТФ) [12]. Розрахунки вмісту речовин, що визначали, провадили з використанням коефіцієнтів молярної екстинкції ($\text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$): для ДК₂₃₂ — 27 000, для ТК₂₆₈ — 43 400, для ОДК₂₇₆ — 22 000 [16], для ТФ₂₉₂ — 3170 [15]. Вміст ТК виражали у відносних одиницях екстинкції. Кількість знаходили за калібрувальним графіком, який будували за стандартом — 1,1,3,3-тетраетоксипропаном (фірма «Merk», Німеччина). Гематологічні показники: концентрацію гемоглобіну, оксигемоглобіну, сульфгемоглобіну, число еритроцитів, лейкоцитів та ретикулоцитів визначали за допомогою клінічних методів [8]. Отримані результати обробляли статистично з використанням критерію *t* Стюдента [11].

Результати та їх обговорення

У табл. 1 наведені результати спостережень зміни гематологічних показників під впливом НБ та його похідних. Всі вивчені сполуки негативно впливають на стан крові та кровотворну систему. Ці результати співпадають із відомими даними літератури [3] і стали підставою для пошуку засобів, що дали б можливість запобігти таких шкідливих наслідків. Вивчаючи систему ПОЛ, ми мали змогу спостерігати, що при короточасному впливові ПНХБ (5-кратному введенні) у тканині печінки зменшувався

Таблиця 1. Зміна гематологічних показників у щурів під впливом ксенобіотиків (M±m; n = 15)

Показник	Олія (контроль)	Нітробензол	o-Нітрохлор- бензол	p-Нітрохлор- бензол
При 5-кратному введенні ксенобіотиків				
Концентрація глобулярних білків у крові, г/л:				
гемоглобіну	112,5±7,5	92,6±5,8*	91,3±4,8*	82,2±3,1*
оксигемоглобіну	106,8±7,7	85,0±5,8*	84,3±4,8*	65,5±4,4*
метгемоглобіну, %	5,2±0,7	6,7±0,7**	6,1±0,9	16,1±2,8*
сульфгемоглобіну, %	0,3±0,1	1,8±0,4*	1,8±0,3*	4,9±0,8*
Число кров'яних тілець у 1 л крові:				
еритроцитів, $\times 10^{12}$	6,0±0,2	5,3±0,2*	5,2±0,2*	4,7±0,2*
лейкоцитів, $\times 10^7$	13,7±0,6	15,8±0,8*	16,4±0,8	20,8±1,6*
ретикулоцитів, %	32,9±1,9	60,6±5,6*	64,1±7,8*	80,1±11,6*
При 30-кратному введенні ксенобіотиків				
Концентрація (абсолютна та відносна) глобулярних білків у крові:				
гемоглобіну, г/л	107,3±5,7	100,1±6,0	95,9±6,2	99,4±6,0
оксигемоглобіну, г/л	103,5±5,9	96,9±5,8	90,1±5,4	93,9±5,7
метгемоглобіну, %	2,4±0,6	2,2±0,2	4,1±0,5*	3,3±0,5
сульфгемоглобіну, %	0,3±0,1	1,3±0,2*	2,0±0,2*	2,4±0,2*
Число (абсолютне та відносне) кров'яних тілець у 1 л крові:				
еритроцитів, $\times 10^{12}$	6,7±0,3	6,2±0,3	7,0±0,3	6,1±0,3
лейкоцитів, $\times 10^7$	12,9±0,6	16,9±1,6*	17,9±0,9*	15,9±1,3**
ретикулоцитів, %	32,8±1,8	49,8±4,0*	42,4±4,1*	71,6±7,4*

* Різниця порівняно з контролем вірогідна, $P < 0,05$; ** різниця у вигляді тенденції, $P < 0,1$.

вміст ДК. При 30-кратному введенні ОНХБ зменшувався вміст практично усіх продуктів ПОЛ. Це зменшення досягало статистично імовірної різниці для ДК, ТК та МДА. Зменшення вмісту МДА відбувалося також під впливом ПНХБ (табл. 2). НБ дещо збільшував (але не імовірно) вміст усіх продуктів ПОЛ. Таким чином, показано, що за умов підгострої дії механізми детоксикації, які локалізовані, наприклад, у тканині печінки, справляються з ксенобіотиками. Окрім цього, деякі речовини (наприклад ОНХБ та, можливо, продукти його перетворення) можуть утилізуватися у реакціях з продуктами ПОЛ (зокрема, ДК, ТК, МДА), про що свідчить зменшення їх вмісту у тканинах, зафіксоване у наших дослідях. Таким чином, вірогідно, поряд з існуючими шляхами детоксикації можливі також реакції рекомбінації з продуктами ПОЛ. Це може суттєво полегшити біотрансформацію вказаних хімічних сполук.

Інша закономірність спостерігалася при вивченні ПОЛ у тканині селезінки. Так, при 5-кратній дії НБ відзначалося накопичення усіх продуктів ПОЛ, ПНХБ викликав вірогідне збільшення вмісту лише ДК, ТК та МДА, а ОНХБ збільшував значення цього показника для вказаних метаболітів недостовірно. Вірогідне збільшення вмісту МДА було лише під впливом 30-кратного введення НБ. Усі інші речовини не змінювали показники, що вивчалися. Отримані результати свідчать, мабуть, про мобілізацію адаптаційних механізмів, які дозволяють ефективно утилізувати вивчені ксенобіотики. Для підтвердження цього припущення у додатковій серії експериментів з 5-кратним введенням нітропохідних бензолу на фоні фенобарбіталу — відомого стимулятора монооксигеназної системи — ми мали отримати втрату ефектів, які спостерігали раніше. У цих дослідях дійсно

Таблиця 2. Вплив ксенобіотиків на вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у деяких тканинах щурів ($M \pm m$; $n = 10$)

Умова досліджу	Продукти окислення				
	Дієнові кон'югати, нмоль/мг	Трисенні кон'югати, нмоль/мг	Оксидієнові кон'югати, нмоль/мг	Тетрасени, од. Д/мг	Малоновий діальдегід, нмоль/мг
Печінка					
5-Кратне введення:					
олії (контроль)	53±3	9±0,7	19±1	0,47±0,02	4,24±0,50
нітробензолу	53±6	10±0,3	19±0,7	0,47±0,02	3,12±0,28*
о-нітрохлорбензолу	51±5	8±0,7	18±2	0,48±0,06	3,58±0,72
п-нітрохлорбензолу	35±6**	10±2	18±2	0,38±0,06	4,70±0,24
30-Кратне введення:					
олії (контроль)	52±4	12±0,2	23±2	0,48±0,10	3,80±0,46
нітробензолу	60±4	16±2*	31±5	0,66±0,09	4,20±0,62
о-нітрохлорбензолу	39±3**	8±1***	18±2*	0,38±0,06	2,26±0,44**
п-нітрохлорбензолу	48±5	11±1	24±2	0,54±0,04	2,07±0,20**
Селезінка					
5-Кратне введення:					
олії (контроль)	49±5	13±2	24±2	0,38±0,06	7,56±0,44
нітробензолу	89±7***	19±1**	36±2***	0,70±0,06***	9,50±0,66*
о-нітрохлорбензолу	68±9*	14±1	28±3	0,48±0,04	7,80±0,96
п-нітрохлорбензолу	64±3**	17±0,6*	42±9*	0,56±0,03**	11,26±1,42**
30-Кратне введення:					
олії (контроль)	46±5	12±2	25±2	0,50±0,06	7,60±0,98
нітробензолу	45±4	10±1	20±2	0,40±0,002	7,42±0,58**
о-нітрохлорбензолу	46±6	10±0,6	20±1	0,42±0,02	4,60±0,64
п-нітрохлорбензолу	54±3	14±1	24±2	0,49±0,06	6,34±1,14

* $P < 0,1$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,001$ — імовірність різниці порівняно з контролем.

зникали зміни інтенсивності ПОЛ. Таким чином, це доводить, що у нашому випадку відбувалася мобілізація адаптаційних систем детоксикації чужорідних речовин, яка стабілізується у період 30-кратного їх введення.

При вивченні ролі АОА у стабілізації адаптаційних змін ми спостерігали (табл. 3) зменшення вмісту ТФ у тканинах печінки та селезінки при 5-кратній дії НБ з послідовним відновленням його у період 30-го введення. Інші сполуки (ОНХБ та ПНХБ) викликали зменшення кількості ТФ тільки у тканині селезінки, але закономірність відновлення його вмісту зберігалася. У разі дії ПНХБ навіть відбувалося накопичення ТФ у тканинах. Отримані результати дозволяють передбачати активну участь цього вітаміну у стабілізації адаптаційних механізмів до дії вивчених нітросполук. Поряд з цими змінами відзначалося також збільшення (статистично достовірне) у тканині печінки загальної АОА після дії НБ та ОНХБ при 5-кратному введенні. В усіх інших випадках цей показник практично не змінювався. Тобто, за умов вираженої АОА, яку має тканина, в організмі досить резервів, ферментативних і неферментативних, для збереження АО-гомеостазу, а збільшення вмісту ТФ та посилення АОА в крові може свідчити про активацію фізіологічних механізмів перерозподілу та мобілізації усіх елементів АО-системи інших тканин, а також, можливо, вказує на інтенсифікацію функціонування існуючих ферментів. Так, після 5-кратного введення вивчені речовини значно підвищували каталазну активність крові поряд зі зниженням вмісту відновленого глутатіону. Аналіз та співставлення усіх одержаних результатів дозволяють передбачати, що введення в організм

Таблиця 3. Зміна показників антиокислювальної системи в тканинах деяких органів щурів під впливом ксенобіотиків ($M \pm m$; $n = 10$)

Умова досліду	Вміст токоферолу, нмоль/мг ліпідів	Антиокислювальна активність, ум. од.
Печінка		
5-Кратне введення:		
олії (контроль)	$4 \pm 0,7$	$0,98 \pm 0,08$
нітробензолу	$2 \pm 0,2^{**}$	$2,28 \pm 0,50^{**}$
<i>o</i> -нітрохлорбензолу	$4 \pm 0,7$	$1,66 \pm 0,1^{***}$
<i>n</i> -нітрохлорбензолу	$3 \pm 0,1$	$1,28 \pm 0,22$
30-Кратне введення:		
олії (контроль)	$1 \pm 0,4$	$4,08 \pm 1,55$
нітробензолу	$1 \pm 0,4$	$2,52 \pm 0,73$
<i>o</i> -нітрохлорбензолу	$5 \pm 1,0^{***}$	$2,68 \pm 0,62$
<i>n</i> -нітрохлорбензолу	$2 \pm 0,8$	$0,94 \pm 0,16^*$
Селезінка		
5-Кратне введення:		
олії (контроль)	$5 \pm 0,6$	$1,75 \pm 0,45$
нітробензолу	$2 \pm 0,4^{***}$	$1,24 \pm 0,29$
<i>o</i> -нітрохлорбензолу	$2 \pm 0,4^{***}$	$1,15 \pm 0,08$
<i>n</i> -нітрохлорбензолу	$3 \pm 0,6^{**}$	$1,20 \pm 0,1$
30-Кратне введення:		
олії (контроль)	$2 \pm 0,6$	$2,65 \pm 1,13$
нітробензолу	$3 \pm 0,6$	$3,76 \pm 1,54$
<i>o</i> -нітрохлорбензолу	$5 \pm 1,4^*$	$1,42 \pm 0,28$
<i>n</i> -нітрохлорбензолу	$4 \pm 1,6$	$1,16 \pm 0,1$

* $P < 0,1$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,001$.

НБ та його хлорпохідних стимулює АО-систему, яка стабілізується у часі і забезпечує збереження АО-гомеостазу.

Таким чином, спираючись на результати проведених досліджень, можна зробити висновки, що нітробензол та його хлорпохідні суттєво змінюють інтенсивність ПОЛ. Найбільш чутливою тканиною є селезінка, особливо на ранньому етапі дії вивчених речовин. Подальша дія нітробензолу та його хлорпохідних призводить до мобілізації адаптаційних систем організму, в результаті чого ПОЛ утримується під контролем, але можливості систем практично вичерпуються. Про це свідчить послаблення АОО. Дія вивчених речовин призводить до інтенсивного перерозподілу ресурсів вітаміну Е в організмі, що дозволяє передбачати його ефективність як профілактичного засобу.

A.V.Paranich, L.I.Paranich, N.M.Vasilenko, O.V.Bugai, L.V.Butenko, I.V.Sisa, T.L.F.Ortiz

EFFECT OF NITROBENZENE AND ITS CHLORINE DERIVATIVES ON ANTIOXIDATIVE HOMEOSTASIS

Nitrobenzene, *o*-nitrochlorobenzene and *p*-nitrochlorobenzene were studied in experiments with rats for their effect on intensity of lipid peroxidation (LPO), antioxidative activity (AOA), vitamin E content in the spleen and liver tissues as well as on certain hematological parameters of animals. These substances, when applied in acute experiments, deteriorate hematological parameters, intensify LPO in the spleen tissues. In this case AOA and vitamin E concentration grow. Subchronic action promotes stabilization of the studied parameters, which testifies to active adaptation of the organism to action of the above xenobiotics, as well as to high significance of the antioxidative homeostasis regulation system in the process.

Kharkov University, Ministry
of Education of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адрианов Н.В., Уваров В.Ю. Регуляция активности ферментных систем окисления чужеродных соединений // Вест. АМН СССР. — 1988. — № 2. — С. 24—33.
2. Арчаков А.И., Карузина И.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии // Там же. — С. 14—23.
3. Василенко Н.М. Токсикология ароматических аминов и нитросоединений бензольного ряда — продуктов анилиноокрасочной промышленности: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 1980. — 45 с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33—36.
5. Жуков А.А., Жуков Г.Ф. Механизмы окислительных реакций: основные, промежуточные и побочные продукты окислительного цикла // Вест. АМН СССР. — 1988. — № 2. — С. 33—42.
6. Каишала Д.А. Изменение гистамин-гистаминазной системы и углеводно-энергетического обмена как критерий токсикологической оценки нитро- и нитрохлорсоединений бензола: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1991. — 21 с.
7. Каишала Д.А., Колодуб Ф.А. Биохимические критерии оценки ранних признаков неблагоприятного воздействия нитрохлорсоединений бензола // Врачеб. дело. — 1992. — № 5. — С. 62—65.
8. Меньшиков В.В. (Ред.) Справочник. Лабораторные методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1987. — 366 с.
9. Павлова Р.Н., Сорокина В.С., Торонков В.В., Ионина М.А. Сравнение состояния метаболических процессов в эритроцитах и клетках ряда тканей белых крыс в остром токсикологическом эксперименте при воздействии спиртов изопренового ряда // Модельные системы в медико-биохимических исследованиях. — Л.: Наука, 1989. — С. 81—85.
10. Паранич А.В., де Консесао А., Бугай Е.В., Копылов А.В. О роли жирорастворимых витаминов А и Е в профилактике биологических эффектов ионизирующего излучения // Радиобиология. — 1992. — 32, вып. 5. — С. 743—750.
11. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. — Минск: Выш. шк., 1973. — 318 с.
12. Спиричев В.Б., Матусис И.И., Бронштейн Л.М. Витамин Е // Экспериментальная витаминология. — Минск: Наука и техника, 1979. — С. 20—57.
13. Тимченко А.Н., Данилов В.И., Василенко Н.М. и др. Гигиена труда в производстве красителей. — К.: Здоров'я, 1986. — 72 с.
14. Gandy J., Millner G.C., Bates H.K. et al. Effects of selected chemicals on the glutathione status in the male reproductive system of rat // J. Toxicol. and Env. Health. — 1990. — 29, № 1. — P. 45—57.
15. Hendelman G.J., Epstein W.L., Machlin L.J. et al. Biopsy method for human adipose with vitamin E and lipid measurements // Lipids. — 1988. — 2, № 6. — P. 598—604.
16. Kim R.S., LaBella F. Comparison of analytical methods for monitoring autooxidation profiles of authentic lipids // J. Lipid Res. — 1987. — 28. — P. 1110—1117.

Харків. ун-т
М-ва освіти України

Матеріал надійшов
до редакції 23.02.93