

STATE OF PROOXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS IN THE BLOOD OF CHILDREN FROM ECOLOGICALLY UNFAVOURABLE TERRITORY

Tkachenko H.M., Skaletska N.M.

СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ КРОВІ ДІТЕЙ, ЩО ПРОЖИВАЮТЬ В ЕКОЛОГІЧНО НЕСПРИЯТЛИВОМУ РЕГІОНІ

В

умовах зростаючої екологічно несприятливої ситуації і посилення впливу багатьох антропогенних чинників знижується резистентність дитячого організму, що неминує проявляється збільшенням захворюваності [1]. Довготривалий вплив на організм дітей забрудненого довкілля сприяє виникненню значних змін в ендокринній системі, органах травлення, кровообігу, опорно-рухового апарату та порушенню функцій центральної і периферичної нервової систем. Знижуються специфічні та неспецифічні захисні сили організму, що виявляються у дітей як симптоми загальної інтоксикації [2, 3]. Такі комплексні синдроми, що виникають в умовах забруднення довкілля, належать до синдромів екологічної дезадаптації. Вони розвиваються при комбінованому впливі декількох ксенобіотиків, коли концентрація кожного з них недостатня для того, щоб викликати специфічні симптоми [4]. Профілактична спрямованість визначає необхідність оцінити показники здоров'я населення на донозологічному рівні. Тому оцінка стану здоров'я дітей та його прогноз і надалі залишаються одними з найбільш дискусійних питань і потребують системного підходу [5, 6].

Протягом двох-трьох десятиків років як основні критерії оцінки здоров'я дітей використовують не лише вивчення захворюваності, функціональний стан органів і систем, ступінь гармонійності розвитку, вміст мікроелементів у біосубстратах, але й визначення активності ферментів, вміст субстратів антиоксидантного захисту та інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [7, 8]. Останніми десяти-

тиліттями зростає зацікавленість клінічними аспектами дослідження процесу вільнорадикального окиснення, зокрема й при розвитку синдромів екологічної дезадаптації. Це зумовлено тим, що дефект у цій ланці метаболізму здатний істотно знизити резистентність дитячого організму до впливу несприятливих чинників середовища, а також створити передумови до формування, прискореного розвитку та посилення тяжкості перебігу захворювань. Зважаючи на це, виникає актуальне питання щодо патогенетичної ролі активації вільнорадикальних процесів та стану антиоксидантної ланки захисту (АОЗ) у крові дітей, які мешкають на екологічно забрудненій території. Це й стало **метою** нашого дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Було обстежено 67 дітей віком 8-10 років з флюорозом I та II ступенів, які мешкають у м. Соснівка Сокальського району Львівської області. Для встановлення діагнозу було застосовано анамнестичні дослідження. Усіх дітей цього регіону було поділено на три групи залежно від стоматологічного статусу: I група — 21 здорова дитина, II група — 31 хвора на флюороз I ступеня, III група — 15 хворих на флюороз II ступеня дітей. Нами також обстежено 15 дітей віком 8-10 років, які проживають у відносно екологічно чистій місцевості (м. Старий Самбір). Цю територію ми обрали як контрольний район. Вивчення інтенсивності процесів ліпопероксидації ми оцінювали за нагромадженням у крові дітей первинних продуктів (ацилгідроперекисів ліпідів) та вторинних продуктів переокиснення — продуктів, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти), зокрема малонового діальдегіду (МДА) [9].

**ТКАЧЕНКО Г.М.,
СКАЛЕЦЬКА Н.М.**

Львівський національний
медичний університет
ім. Данила Галицького

УДК: 613.95:616-053.
2-092:612.015.11:614.76

*СОСТОЯНИЕ
ПРООКСИДАНТНОЙ
И АНТИОКСИДАНТНОЙ
СИСТЕМ КРОВИ ДЕТЕЙ,
ПРОЖИВАЮЩИХ
В ЭКОЛОГИЧЕСКИ
НЕБЛАГОПРИЯТНОМ
РЕГИОНЕ*

**Ткаченко Г.М.,
Скалецкая Н.М.**

*Представлены результаты
исследования особенностей
изменений антиоксидантного
состояния организма у 67
детей 8-10 лет, больных
флюорозом I и II степеней,
которые проживают на
экологически загрязненной
территории в г. Сосновка
Сокальского района
Львовской области.
Установлен рост
интенсивности процессов
переокиснения и усиления
прооксидантно-
антиоксидантного дисбаланса
в крови детей
с этой патологией.*

© Ткаченко Г.М., Скалецкая Н.М.
СТАТТЯ, 2009.

Активність ферментів антиоксидантного захисту досліджували у гемолізатах крові та плазмі, активність супероксиддисмутази — за швидкістю окиснення кверцетину [10], каталази — з молібдатом амонію [11], активність глутатіонпероксидази — за швидкістю окиснення відновленого глутатіону за наявності гідроперекису третинного бутілу [12]. Активність глутатіонредуктази досліджували за методом реєстрації зменшення оптичної щільності розчину, зумовленою окисненням $NADPH_2$ у присутності окисненого глутатіону [13], вміст церулоплазміну — у реакції окиснення р-фенілєндіаміну [9]. Усі результати статистично обробляли загальноприйнятими методами з використанням середнього арифметичного (M), стандартної похибки середнього арифметичного (m), t -критерію Ст'юдента, рівня значущості p , коефіцієнта кореляції r . Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Було встановлено достовірне підвищення у крові дітей, які хворіють на флюороз I і II ступенів та мешкають на екологічно забрудненій території (м. Соснівка Со-

кальського району Львівської області), первинних продуктів ліпопероксидації на 63,46% та 67,31% ($p < 0,001$) відповідно до контрольних значень, отриманих у крові здорових дітей з цієї території (рис. 1А).

При цьому вірогідних відмінностей між різними ступенями тяжкості флюорозу не відзначається. Таким чином, у патогенезі спостерігається посилення пероксидації, яку можна пояснити активацією вільнорадикальних процесів. Встановлено, що за дії значних доз фтору активуються процеси мітохондріального окиснення з утворенням активних форм кисню. Останні атакують клітинні компоненти та набувають характеру ланцюгової реакції, яка веде до утворення ліпоперекисів та оксидативно модифікованих білків [14].

У свою чергу, у крові хворих дітей, які мешкають на екологічно забрудненій території (м. Соснівка), вірогідних змін вмісту ТБК-активних продуктів нами не виявлено; помічено лише тенденцію до приросту цього показника щодо значень у крові здорових дітей з цієї території (рис. 1Б). Цей факт слід розцінювати як зменшення активності окремих ланок процесу переокиснення у фазному перебігу оксидативного стресу, спричиненого впливом несприятливих чинників довкілля на здоров'я дітей з цього регіону. Зазначена модифікація процесу ПОЛ може бути характерною для фази тривалої адаптації [15, 16]. Однак вміст ТБК-активних продуктів у крові всіх дітей м. Соснівка є значно вищим порівняно зі значеннями у дітей із контрольного ра-

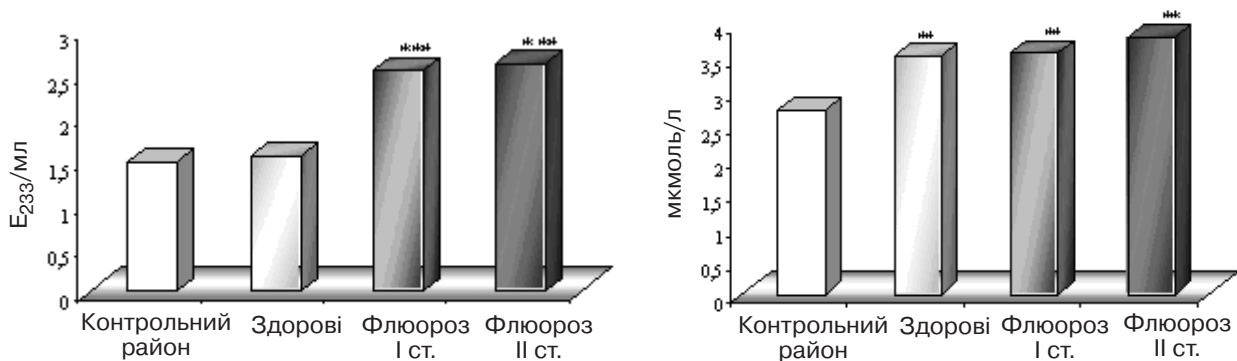
йону (м. Старий Самбір): на 29,63% ($p < 0,05$), 31,11% та 40% ($p < 0,001$) у здорових дітей, хворих на флюороз I та II ступенів відповідно. Це визначає особливості патогенезу, розвитку клінічних проявів та ускладнень при цій патології.

У нормально функціонуючих системах появи пошкоджуючої дії вільних радикалів і перекисних сполук запобігає антиоксидантна система, яка забезпечує тонку регламентацію реакцій ПОЛ у мембранних структурах за рахунок функціонування системи ферментативних і неферментативних механізмів контролю над вмістом активних форм кисню, вільних радикалів і продуктів ПОЛ, а також компартменталізацію субстратів і каталізаторів вільнорадикальних реакцій [16]. І тільки порушення у системі регуляції ПОЛ, які викликані впливом несприятливого фактора на організм у цілому або на окремі клітини, можуть бути причиною незбалансованого розвитку реакцій вільнорадикального окиснення, а також порушення співвідношення прооксидантних і антиоксидантних систем, що визначає т.з. "антиоксидантний захист організму". Тому виникає питання про значення антиоксидантної системи клітин, яка елімінує активні форми кисню. Дослідження цієї системи й стало наступним етапом нашої роботи.

Дослідження першої ланки АОЗ показало, що активність супероксиддисмутази є достовірно зниженою лише у крові дітей з II стадією флюорозу (табл.).

Достовірних змін в активності ферментів АОЗ у крові здорових дітей із м. Соснівки що-

Вміст ацилгідроперекисів ліпідів (А) та ТБК-активних продуктів (Б) у крові дітей, які хворіють на флюороз I і II ступенів



Примітка: * — зміни вірогідні порівняно з групою дітей із контрольного району ($p < 0,05$); ** — зміни вірогідні порівняно з групою здорових дітей м. Соснівка ($p < 0,05$).

до значень у дітей контрольного району немає, що може свідчити про відсутність суттєвих порушень загального балансу у системі про- та антиоксидантів, зокрема першої ланки АОЗ. Нами також виявлено зниження активності ферменту, який має пероксидазну активність та знешкоджує перекис водню — каталази — на 18,4% ($p < 0,05$) та СОД на 34,45% ($p < 0,01$) у крові дітей, які хворіють на флюороз II ступеня. Встановлено позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між вмістом ТБК-продуктів та активністю СОД ($r = 0,356$) та каталази ($r = 0,397$) крові дітей з I ступенем флюорозу. Стабільність процесу ліпопероксидації, зафіксоване на тлі інгібування активності ферментів АОЗ у групі дітей з II ступенем флюорозу, може свідчити про виснаження адаптивних резервів та порушення процесу адаптації до оксидативного стресу. Інгібування каталази за цих умов, очевидно, є наслідком генерування надлишку перексиду водню, утворення якого індукується у результаті оксидативного стресу [16]. Це й підтверджується кореляційним зв'язком між активністю каталази та вмістом ТБК-продуктів ($r = 0,497$). Токсичний ефект фтору проявляється у зниженні активності ферментів АОЗ [17, 18]. Зокрема, фторид-аніон інгібує активність СОД прямим та опосередкованим шляхами. Прямий шлях полягає у зв'язуванні фторид-аніону з мідьвмісним активним центром ферменту [17], а опосередкований шлях здійснюється завдяки цитотоксичній дії фтору, який порушує синтез ДНК, РНК та білків [18].

STATE OF PROOXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS IN THE BLOOD OF CHILDREN FROM ECOLOGICALLY UNFAVOURABLE TERRITORY

Tkachenko H.M., Skaletska N.M.

The peculiarities of changes in blood of children of 8-10 years old with fluorosis were studied. These children live at ecologically unfavourable territory (Sosnivka, Sokal' district, Lviv region).

Increase of lipid peroxidation and graduated aggravation of prooxidative-antioxidative imbalance in blood of children was determined.

Друга ланка АОЗ пов'язана з обміном глутатіону й активністю ферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. Нами встановлено вірогідне зниження активності цих ферментів у крові обох груп хворих на флюороз дітей із м. Соснівка. Зокрема, активність глутатіонредуктази знизилася до ($98,89 \pm 3,17$) та ($79,23 \pm 4,32$) мкмоль $\text{NADPH}_2/\text{хв}$ мл у крові дітей з I і II ступенями флюорозу відповідно, що становить 13% та 30,3% ($p < 0,01$) порівняно зі значеннями у здорових дітей цього регіону. Зниження активності цього ферменту у крові дітей з флюорозом II ступеня (на 21,78%, $p < 0,05$) встановлено нами й щодо значень у дітей із контрольного району. Останнє, ймовірно, пов'язане з виснаженням основного кофактора глутатіонредуктази NADPH_2 та відновленого глутатіону, що свідчить про розвиток недостатності компенсаторних механізмів крові цих дітей у детоксикації продуктів переокиснення [15, 16]. Порушення у системі метаболізму глутатіону призводить до модифікації активності другого ферменту глутатіонової ланки АОЗ — глутатіонпероксидази. Це підтверджують отримані нами дані. Зокрема, нами досліджено до-

стовірне зниження активності цього ферменту у крові дітей з I і II ступенями флюорозу на 38,9% та 43,7% ($p < 0,001$) відповідно порівняно з групою здорових дітей м. Соснівки. Можливо, такі зміни засвідчують наявність системного механізму функціонування системи АОЗ через стан глутатіонової компоненти і прооксидантно-антиоксидантного рівновагою вільнорадикального окиснення. Це зумовлює регулюючий вплив у реалізації фізіологічних ефектів на вплив шкідливих чинників на організм.

До третьої ланки АОЗ належить система церулоплазмін-трансферин, що регулює рівень іонів заліза, які є потужними ініціаторами вільнорадикального окиснення. Тому наступним етапом нашого дослідження стало визначення вмісту церулоплазміну — мідьвмісного білка, який регулює вільнорадикальний метаболізм і має антиоксидантні властивості. Вони полягають у здатності до взаємодії з супероксидом і перекисом водню. Така ферментативна активність необхідна для зв'язування заліза з феритином і зумовлює оксидазні властивості крові [19].

Нами встановлено, що у дітей з I стадією флюорозу спостері-

Таблиця

Активність ферментів антиоксидантного захисту у крові дітей, які хворіють на флюороз I і II ступенів

Досліджений показник	Контрольний район (м. Старий Самбір)	Здорові (м. Соснівка)	Флюороз I ст. (м. Соснівка)	Флюороз II ст. (м. Соснівка)
Супероксиддисмутаза, од. акт./хв · мл	573,28±40,07	461,2±46,6 ¹	472,2±24,15 ¹	302,32±19,42 ^{1, 2}
Каталаза, мкмоль/хв·л	9,58±0,22	9,32±0,56	8,64±0,41	7,61±0,53 ^{1, 2}
Глутатіонредуктаза, мкмоль $\text{NADPH}_2/\text{хв}$ мл	101,29±9,84	113,70±7,91	98,89±3,17	79,23±4,32 ^{1, 2}
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв на 1 г Hb	327,20±10,13	338,48±13,44	206,81±7,97 ^{1, 2}	190,58±8,91 ²
Церулоплазмін, мг/л	167,53±8,80	187,07±21,45	219,52±14,89 ¹	181,50±10,66

Примітка: 1 — зміни вірогідні порівняно з групою дітей із контрольного району ($p < 0,05$);
2 — зміни вірогідні порівняно з групою здорових дітей з м. Соснівка ($p < 0,05$).

гається тенденція до збільшення вмісту церулоплазміну. Це може свідчити, що за цих умов оксидазні властивості крові цих дітей залишаються на високому рівні. Можливо, такі ефекти спрямовані на підтримання компенсаторних механізмів і підвищення антиоксидантно-захисних функцій крові за умов оксидативного стресу. Водночас у крові дітей з II ступенем флюорозу вміст церулоплазміну залишається на рівні значень групи здорових дітей м. Соснівки та контрольного району. Це може формувати основні адаптаційні механізми за дії шкідливих факторів довкілля, пов'язаних з функціонуванням залізовмісних білків крові [19].

Отримані нами результати збігаються з клінічними даними та узгоджуються з патофізіологічними механізмами захворювання. Зниження АОЗ порівняно з контролем може свідчити про антиоксидантну недостатність крові дітей з різним ступенем флюорозу та послаблення ензиматичних механізмів детоксикації перекисних сполук. Аналіз і узагальнення одержаних нами даних дають змогу детальніше з'ясувати головні механізми зкоординованості процесів метаболізму залежно від ступеня тяжкості флюорозу у дітей. Це, у свою чергу, допомагає розробити оптимальну тактику та стратегію терапії дітей з флюорозом та профілактику вірогідних ускладнень.

Висновки

У дітей з флюорозом, які мешкають на екологічно забрудненій території (м. Соснівка Сокальського району Львівської області), незалежно від ступеня тяжкості відзначається підвищення активності перекисного окиснення ліпідів (вміст ацилгідроперекисів ліпідів, ТБК-продуктів). Ці зміни корелювали зі зниженням ак-

тивності ферментів антиоксидантного захисту організму. Виявлені зміни можна у подальшому корегувати шляхом введення до загальної терапії метаболічних препаратів, які б сприяли посиленню резервних можливостей дитячого організму та попереджали розвиток ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Даутов Ф.Ф., Лисенко Г.Н., Лисенко А.И. Факторы риска и стоматологическая заболеваемость детей в крупном промышленном городе // Гигиена и санитария. — № 5. — 2005. — С. 16-17.

2. Дычко Е.Н., Афанасьева Э.П. Распространенность и интенсивность заболеваний зубов и околозубных тканей у детей в условиях интенсивной промышленной зоны // Профилактика и лечение стоматологических заболеваний: Сб. науч. трудов. — Днепропетровск, 1998. — С. 65-66.

3. Подоляньська В.В. Розповсюдженість імунопатологічних синдромів серед дітей, що мешкають на території, забрудненій фтором та солями важких металів // Педіатрія, акушерство та гінекологія. — 2000. — № 6. — С. 46-50.

4. Лук'яненко Н.С., Чайковська Г.С., Печеник С.О., Косцик Н.Р. Стан ендогенної інтоксикації у дітей, що проживають на території, забрудненій солями важких металів та фтором // Вісник Сумського державного університету. — 2002. — № 11 (44). — С. 92-96.

5. Гончарук Є.Г., Бардов В.Г., Сергета І.В., Омельчук С.Т. Комплексна оцінка стану здоров'я дітей і підлітків як гігієнічна проблема: методологічні та прикладні аспекти (огляд літератури) // Журнал АМН України. — 2003. — Т. 9, № 3. — С. 523-541.

6. Квашніна Л.В. Поняття адаптації та адаптованості як інтегральних показників здоров'я (огляд літератури) // Перинатологія та педіатрія. — 2000. — № 1. — С. 33-36.

7. Баранов А.А., Щеплягина Л.А. Фундаментальные и прикладные исследования по проблеме роста и развития детей и подростков // Рос. педиатрический журнал. — 2000. — № 5. — С. 5-10.

8. Лук'янова О.М. Медико-соціальні аспекти збереження здоров'я дітей, забезпечення їх гармонійного фізичного та ін-

телектуального розвитку // Журнал АМН України. — 2001. — Т. 7, № 3. — С. 408-415.

9. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. — М.: МЕДпресс-информ, 2004.

10. Костюк В.А., Попович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. — 1990. — № 2 — С. 88-91.

11. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

12. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. — № 8. — С. 724-727.

13. Glatzle D., Vuilleumier J.P., Weber F., Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in human // Experientia. — 1974. — 30. — P. 665-667.

14. Costantini P., Etienne J., Didier D., Guido K. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy // J. Natl. Cancer Inst. — 2000. — 92. — P. 1042-1053.

15. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. — М.: МАИК Наука/Интерпериодика, 2001. — 343 с.

16. Герасимов А.М., Деленян Н.В., Шаов М.Т. Формирование системы противокислородной защиты организма. — М.: Изд-во АПН, 1998. — 187 с.

17. Zhan X.A., Wang M., Xu Z.R., Li W.F., Li J.X. Effects of fluoride on hepatic antioxidant system and transcription of Cu/Zn SOD gene in young pigs // Biochemie. — 2005. — 19. — P. 1-5.

18. Song J.S., Lee H.Y. Cytotoxicity and apoptosis induction of sodium fluoride in human promyelocytic Leukemia (HL-60) // Cell Environ. Toxicol. Pharm. — 2002. — 11. — P. 85-91.

19. Добротина Н.А., Рутницкий А.Ю., Гладышева М.В., Ежова Г.П. Полифункциональность церулоплазмина, обоснование применения // Успехи современной биологии. — 1999. — Т. 119, № 4. — С. 375-379.

Надійшло до редакції 31.03.2009.