

УДК 616-092.18-008.9:661.177

*О.В. Сіренко**Харківська медична академія післядипломної освіти***ВИЗНАЧЕННЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СИРОВАТКИ КРОВІ  
ЯК ПОКАЗНИКА НАЯВНОСТІ ІНТОКСИКАЦІЇ**

Метаболічну активність сироватки крові визначали з використанням біофізичних методів (біохемілюмінесценція та фосфоресценція) як інтегративний показник наявності інтоксикації організму при дії ксенобіотиків. Підвищення його значень дозволило непрямо оцінити ступінь інтенсифікації вільнорадикального окиснення, зміни білкових і ліпідних фракцій сироватки, що використовується для оцінки гомеостатичної функції організму та діагностики преморбідних станів. Визначення метаболічної активності сироватки крові дозволяє обстежувати великі контингенти населення, які контактують з токсичними органічними речовинами.

**Ключові слова:** метаболізм, сироватка крові, гомеостаз, інтоксикація.

Розробка діагностичних і прогностичних способів, які дозволяють оцінити функціональний стан організму, є однією з пріоритетних задач профілактичної медицини. Будь-яке порушення динамічної рівноваги внутрішнього середовища, викликане дією агресивних факторів або розвитком патологічних станів, призводить до зміни хімічного складу біологічних рідин [1–3]. До складу сироватки крові входять різні фракції білків, ліпідів, ферментів, мікроелементів, вміст кожного з яких має значення для оцінки гомеостатичної функції організму і діагностики преморбідних станів. Сучасні лабораторні методи дослідження (біохімічні, імунологічні) здебільшого дозволяють оцінити лише окремі характеристики структурних одиниць організму, тоді як високодинамічний зв'язок компонентів такого складного біоколоїду, як сироватка крові, віддзеркалює стан гомеостатичної функції організму в цілому.

Зміни біохімічних процесів у сироватці крові, які супроводжують розвиток патологічних станів, привертають увагу багатьох науковців [1, 4]. Так, підвищення її метаболічної активності у хворих на рак молочної залози реєстрували, досліджуючи рівні ферментів гліколізу (глюкозофосфатізомерази, лактатдегідрогенази) [2]. Відомо, що інтегративним і високочутливим способом виявлення тонких біохімічних зсувів при дії хімічних патогенів є біохемілюмінесценція

(БХЛ), яку використовують для реєстрації процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), розвитку генералізованого окисдантного стресу, причому автори відзначають, що різні параметри хемілюмінесценції найчастіше залежать від дози та часу шкідливого впливу [5, 6]. Метод БХЛ засновано на реєстрації енергії спонтанного та індукованого надслабкого світіння, яке виникає внаслідок неферментативних процесів окиснення ліпідів, а зміни її інтенсивності віддзеркалюють первинні структурно-функціональні порушення метаболізму [7]. БХЛ сироватки крові обумовлена, насамперед, ВРО ліпідів, їх сумарної фракції ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності [6, 8]. Реєстрація хемілюмінесценції біоматеріалів є одним з перспективних методів, який дозволяє отримати інформацію щодо адаптивної функції гомеостазу організму в умовах навантаження ксенобіотиками, у той же час аналіз наукової літератури показав, що інтегративні біофізичні методи дослідження гомеостазу в організмі контингенту, що зазнає дії агресивних хімічних чинників, майже не використовуються.

Реєстрація БХЛ і фосфоресценції (ФР) досліджуваного біологічного матеріалу є інтегративним способом, який дозволяє оцінити вплив шкідливого чинника саме на ліпідні та білкові компоненти сироватки крові, швидко отримати дані щодо активації процесів ВРО і перекисного окиснення ліпі-

© О.В. Сіренко, 2012

дів (ПОЛ), які потенціують розвиток вільнорадикальної патології та порушують співвідношення анаболічних і катаболічних процесів в організмі. Дослідження цим способом займає мінімум часу, є простим, інформативним і може використовуватися на превентивних етапах діагностики великої кількості захворювань.

Метою дослідження була оцінка метаболічної активності сироватки крові як інтегративного показника гомеостатичної функції організму в умовах дії складних органічних сумішей на основі поліолів, шляхом реєстрації БХЛ і ФР сироватки крові.

**Матеріал і методи.** Метаболічну активність сироватки крові експериментальних тварин оцінювали за інтенсифікацією ФР зразків біоматеріалу. Рівні ФР сироватки крові визначали на 96 щурах популяції Вістар обох статей масою ( $180 \pm 10$ ) г, яким в умовах хронічного експерименту щоденно внутрішньошлунково вводили 0,01084 г/кг охолодженої рідини (ОР-40); 0,01062 г/кг гальмівної рідини «Роса» (ГР); 0,01091 г/кг охолодженої рідини (ОР-65), що дорівнює  $1/100 LD_{50}$  даних складних органічних сумішей. Основним компонентом усіх багатоскладових органічних сумішей були поліоли. Сьогодні велику увагу науковців привертають наслідки тривалого впливу на організм незначних доз ксенобіотиків, що і визначило вибір концентрації речовин [9]. Контрольну групу склали інтактні тварини, які отримували 2 мл води на добу. Наприкінці експерименту щурів забивали методом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом [10]. Рівні ФР реєстрували за допомогою люмінесцентного комплексу, який складався з фосфороскопа, ртутної лампи, що генерує світло оптичного діапазону, та спектрофотометра СФ-4. Основою вимірювального обладнання є фосфороскоп, що забезпечує розділення у часі процесів опромінювання зразка збуджуючим світлом та його ФР з обов'язковим забезпеченням абсолютного світлозахисту фотоприймача від дифракції збуджуючого світла, чого можна досягти, використовуючи люменометр, для забезпечення абсолютного світлозахисту фотоелектронного множника [11]. Використовували спектри збудження ( $\lambda = 297, 313, 334, 365, 404, 434$  нм) протягом 1 мл/с. Розмір вихідної щілини монохроматора складав 2 мм, зона спектральної чутливості ФЕМ – 300–530 нм. ФР реєстрували при кімнатній температурі в режимі підрахунку фотонів. Вимірювальним пристроєм

був лічильник СБС-2, усі процеси автоматизовані, похибка складала менше 3 %. Після збудження зразків біологічного матеріалу реєстрували показники ФР [8]. Контролем були зразки біоматеріалу інтактних щурів.

Ступінь метаболічної активності сироватки крові працівників НПО «Полімерсинтез» (м. Владимир), які контактують з широким асортиментом органічних сумішей і проміжних продуктів їх виробництва, оцінювали з використанням методу БХЛ, для чого було обстежено 219 робітників виробничих цехів та 57 співробітників інженерно-технічної групи (ІТР). Розподіл працівників виробництва на групи проведено з урахуванням стажу роботи та професії. Дослідження виконували на медичному біохемілюмінометрі БХЛМЦ 1-01. Для аналізу використовували сироватку крові, зразки біологічного матеріалу термостатували у темновій камері при  $37^\circ\text{C}$ , після чого вимірювали власну та індуковану перекисом водню інтенсивність світіння, реєструючи спалахи та кінетику реакції протягом 1,5–3 хв. Статистичну обробку отриманих в експерименті даних проводили з використанням критерію Стьюдента–Фішера.

**Результати та їх обговорення.** Інтенсифікація ФР виникає через наявність молекул білків і ліпопротеїдів у триплетному стані, які висвітлюють фотони енергії при падінні збудження у відсутності світла оптичного діапазону [6, 12]. Ступінь підвищення метаболічної активності сироватки крові щурів методом ФР визначали за інтенсивністю світіння зразків на різних хвилях збудження (табл. 1).

Було встановлено вірогідне підвищення інтенсивності ФР сироватки крові щурів, які отримували субтоксичні дози складних органічних сумішей, найбільш виражене під впливом довгих ( $\lambda = 404, 434$  нм) хвиль збудження – максимально у 1,43 та 1,37 рази ( $p < 0,05$ ), що свідчило про інтенсифікацію процесів окиснення ліпідів і білків та зростання числа молекул у триплетному стані. Такі результати можна розглядати як наслідок порушення стабільного співвідношення продуктів ВРО та системи антиоксидантного захисту при тривалому впливі складних органічних сумішей, що у свою чергу може стати пусковим моментом подальших порушень гомеостатичної рівноваги [13].

Люмінесценцією називають процес, заснований на спонтанному світінні біологічних об'єктів, обумовленому ВРО ліпідних і білкових компонентів тканин організму, а

Таблиця 1. Динаміка фосфоресценції сироватки крові щурів, що отримували 1/100 LD<sub>50</sub> органічних сумішей у хронічному експерименті, (M±m) імп/с

| λ, нм | Контроль    | Речовини    |             |             |
|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |             | ОР-65       | ГР          | ОР-40       |
| 297   | 4248,6±68,7 | 4415,9±63,7 | 4397,5±63,5 | 4462,7±64,9 |
| 313   | 3248,5±27,8 | 3694,2±42,5 | 3579,9±31,6 | 3704,6±33,2 |
| 334   | 618,9±20,3  | 837,5±23,1  | 786,8±19,7  | 821,4±26,2  |
| 365   | 1889,5±39,4 | 2219,7±33,5 | 2115,7±25,3 | 2124,6±29,4 |
| 404   | 459,7±17,9  | 614,8±18,3  | 609,4±18,3  | 658,3±23,7  |
| 434   | 609,6±14,8  | 793,5±19,8  | 779,0±17,6  | 836,8±16,3  |

Примітка. p<0,05.

інтенсивність спонтанного світіння відображує специфіку біохімічних процесів і взаємодії компонентів сироватки крові [12]. Результати дослідження рівнів індукованої перекисом водню БХЛ основних професійних груп виробництва складних органічних сумішей наведені в табл. 2.

з органічними сумішами та їх компонентами, майже не відрізнялися від контрольних. Світіння сироватки крові робітників виробництва відзначалося крутою та високою амплітудою першого підйому хемілюмінесценції, тоді як хемілюмінограми групи ІТР мали більш повільне та невиражене

Таблиця 2. Динаміка індукованої БХЛ сироватки крові робітників виробництва органічних сумішей, (M±m) імп/с

| Професійні групи | Число обстежених (219) | Робітники зі стажем роботи, років |          |          |          |
|------------------|------------------------|-----------------------------------|----------|----------|----------|
|                  |                        | 2-12                              | 12-22    | 22-32    | > 32     |
| Контроль         | 57                     | 748±33                            | 963±47   | 869±36   | 902±20   |
| Апаратники       |                        |                                   |          |          |          |
| перегонки        | 45                     | 915±31*                           | 1207±34* | 1307±25* | 1154±20* |
| синтезу          | 47                     | 959±34*                           | 1259±18* | 1379±34* | 1135±36* |
| окиснення        | 38                     | 812±27                            | 1184±37  | 1253±17* | 1269±34* |
| гідратації       | 34                     | 724±35                            | 1238±24* | 1268±35* | 1274±35* |
| Мастери          |                        |                                   |          |          |          |
| електрики        | 15                     | 563±23                            | 969±22   | 957±33   | 863±16   |
| слюсарі          | 18                     | 689±28                            | 965±35   | 922±28   | 839±20   |
| Лаборанти        | 22                     | 546±21                            | 908±23   | 835±22   | 876±22   |

\* p<0,05.

Динаміка індукованої БХЛ свідчила про підвищення інтенсивності світіння сироватки крові у апаратників гідратації в 1,75 раза, окиснення в 1,56, синтезу в 1,43, перегонки в 1,26 раза у порівнянні з групою ІТР (p<0,05). Слід відмітити залежність рівнів інтенсивності БХЛ від стажу роботи: найбільші відхилення показників від контрольних значень реєстрували в групах зі стажем 22-32 і > 32 років. Рівні БХЛ у апаратників перевищували контрольні у середньому на 515-719 імп/с, у той же час результати БХЛ сироватки крові електриків, слюсарів та лаборантів, які безпосередньо не контактують

підвищення спалаху і наявність другої амплітуди, що підтверджує зсув гомеостатичної рівноваги у бік активації окисдантної системи при дії компонентів складних органічних сумішей.

Таким чином, в усіх випадках значення БХЛ сироватки крові працівників, які протягом тривалого часу контактують з органічними сумішами, вірогідно перевищували контрольні, що віддзеркалює специфіку взаємодії компонентів сироватки крові при дії речовин та їх метаболітів. Також вірогідно вищими за контрольні були показники ФР сироватки крові щурів, які отримували

мували субтоксичні дози складних органічних сумішей. Результати дослідження метаболічної активності сироватки крові свідчать про неспецифічний вплив компонентів речовин на її білкові та ліпідні фракції, стимуляцію ВРО та ПОЛ, наслідком чого може стати виснаження антиоксидантної системи і порушення адаптивної функції гомеостазу. Своєчасне визначення відхилень показників метаболічної активності сироватки крові від оптимальних дозволяє оцінити стан гомеостазу організму і поліпшити донозологічну діагностику екологічної патології.

#### Висновки

1. Встановлено, що інтенсивність індукованої біохемілюмінесценції зразків сироватки крові працівників виробництва складних органічних сумішей перевищувала контрольні значення в середньому на 515–719 імп/с, що свідчить про інтенсифікацію

процесів ПОЛ при тривалому впливі даних речовин і їх компонентів.

2. Складні органічні суміші в 1/100 LD<sub>50</sub> стимулювали підвищення показників фосфоресценції сироватки крові щурів максимально у 1,43 та 1,37 раза ( $p < 0,05$ ), що підтверджує стимуляцію вільнорадикального окиснення субтоксичними дозами даних речовин.

3. Визначення метаболічної активності сироватки крові є інформативним, чутливим способом, який доцільно використовувати при обстеженні великих контингентів населення, що контактує зі шкідливими хімічними речовинами, для своєчасного виявлення порушень адаптивної гомеостатичної функції організму.

Перспективою подальшого пошуку в даному напрямку є визначення ступеня порушень гомеостазу при дії ксенобіотиків з використанням оцінки метаболічної активності сироватки крові.

#### Список літератури

1. Пептидгидролазная активность сыворотки крови женщин с онкологическими заболеваниями эндометрия / И. Л. Вовчук, А. Е. Дизик, С. С. Ануфриев [и др.] // Вопросы мед. химии. – 2001. – № 1. – С. 21–27.
2. Гидранович А. В. Метаболическая активность гликолиза в сыворотке крови больных раком молочной железы / А. В. Гидранович // Новости хирургии. – Беларусь. – 2008. – № 1. – С. 25–29.
3. Рахманин Ю. А. Донозологическая диагностика в проблеме окружающая среда – здоровье населения / Ю. А. Рахманин, Ю. А. Ревазова // Гигиена и санитария. – 2004. – № 6. – С. 3–5.
4. Сидоров П. И. Кристаллографическое исследование сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом / П. И. Сидоров, И. А. Кирпич, А. Л. Волчецкий // Наркология. – 2002. – № 1. – С. 46–57.
5. Егорова Н. Н. Оценка токсичности и опасности атмосферных загрязнений с помощью люминесцентного метода / Н. Н. Егорова // Токсикол. вестник. – 2000. – № 1. – С. 22–26.
6. Жуков В. И. Связь параметров динамики биохемиллюминесценции со степенью кумуляции ксенобіотиков / В. И. Жуков, О. В. Зайцева, О. И. Антюфеева // Эксперим. и клин. медицина. – 2005. – № 2. – С. 51–55.
7. Зайцева О. В. Биохемиллюминесценция в контроле кожно-резорбтивного действия новых групп поверхностно-активных веществ / О. В. Зайцева, О. И. Антюфеева // Вісник проблем біології і медицини. – 2001. – Вип. 1. – С. 104–109.
8. Пат. 46608 України. Спосіб доклінічної оцінки інтоксикації організму від впливу ксенобіотиків / Сіренко О. В., Жуков В. І., Кучеренко Е. О. Заявл. 27.07.2009; Опубл. 25.12.2009, Бюл. № 24.
9. Рахманин Ю. А. Научные основы диагностики донозологических нарушений гомеостаз при хронических химических нагрузках / Ю. А. Рахманин, Н. Н. Литвинов // Гигиена и санитария. – 2004. – № 6. – С. 48–50.
10. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
11. Пат. 2031400 РФ. Устройство для регистрации при комнатной температуре люминесценции биологических мембран / Абашин В. М., Сергиенко Н. Г., Жуков В. И., 1995, Бюл. № 8.
12. A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent / M. El-Saadani, H. Estrbauer, M. El-Sayed [et al.] // J. Lipid Res. – 1989. – Vol. 30, № 4. – P. 627–630.
13. Akins J. R. The estimation total serum lipids by a completely enzymatic summation method / J. R. Akins, K. Waldrep, J. T. Bernert // Clin. Chem. Acta. – 1989. – Vol. 184, № 3. – P. 219–226.

*Е.В. Сиренко*

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ НАЛИЧИЯ ИНТОКСИКАЦИИ**

Метаболическую активность сыворотки крови определяли с использованием биофизических методов (биохемилюминесценция и фосфоресценция) как интегральный показатель наличия интоксикации организма при действии ксенобiotиков. Повышение его значений позволило косвенно оценить степень интенсификации свободнорадикального окисления, изменений белковых и липидных фракций сыворотки, что используется для оценки гомеостатической функции организма и диагностики преморбидных состояний. Определение метаболической активности сыворотки крови позволяет обследовать большие контингенты населения, контактирующего с токсичными органическими веществами.

**Ключевые слова:** *метаболизм, сыворотка крови, гомеостаз, интоксикация.*

*E.V. Sirenko*

**DETERMINATION OF METABOLIC ACTIVITY SERUM OF BLOOD AS INDEX OF PRESENCE INTOXICATION**

Metabolic activity of blood serum was determined with help of biophysical methods (BHL and PfR) as an integral index of presence of intoxication organism at the action of ksenobiotiks, stimulation of his values allowed by implication to estimate the degree of intensification of FRO, changes of albuminous and lipid factions of serum, that using for the estimation of homoeostatic function of organism and diagnostics of the premonstratensian states. Determination of metabolic activity the serum of blood allows to inspect large contingents of population that contacts with toxic organic substances.

**Key words:** *metabolism, blood serum, homeostasis, intoxication.*

*Поступила 25.11.11*