

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Бикметова Э.Р., Камилов Ф.Х., 2017

УДК 615.916:616.71-007.234-018.4:577.1]-08:615.356.27]-092.9

DOI:10.23888/НМЖ20172185-191

**ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ВИТАМИННОГО ПРЕПАРАТА
НА ОБМЕН КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ХИМИЧЕСКОМ
ВОЗДЕЙСТВИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Э.Р. БИКМЕТОВА, Ф.Х. КАМИЛОВ

Башкирский государственный медицинский университет,
ул. Ленина, 3, 450008, г. Уфа, Российская Федерация

Ежедневная хроническая интоксикация хлорорганическим соединением (дихлорэтан) в суммарной дозе 0,1 ЛД₅₀ половозрелых белых крыс вызывает усиление процессов свободно-радикального окисления, снижение активности ферментов антиоксидантной защиты и повышение содержания свободного гидроксипролина в гомогенатах эпифизов трубчатых костей. В плазме крови подопытных животных многократно увеличивается уровень С-телопептидов коллагена типа I при неизменной активности костной щелочной фосфатазы. При введении экспериментальным животным антиоксидантного витаминного препарата «Триовит» в течение трех недель в дозе 50 мг/кг в сутки на фоне интоксикации дихлорэтаном, определяли в крови и гомогенатах эпифизов трубчатых костей (бедренная) животных состояние оксидантно-антиоксидантной системы, в плазме крови – содержание маркеров костного ремоделирования, в гомогенатах костной ткани определяли содержание свободного, белковосвязанного оксипролина и гликозаминогликанов. Введение витаминного антиоксидантного препарата у животных способствовало повышению антиоксидантных ресурсов костной ткани, что препятствовало развитию оксидативного стресса. Триовит оказывал благоприятное действие и на метаболизм костной ткани, в плазме крови снижался уровень С-концевых телопептидов, происходило торможение резорбтивных процессов в костной ткани при интоксикации хлорорганическими соединениями, в плазме крови отмечалось снижение содержания паратгормона и повышение содержания общего кальция, магния и фосфора, свидетельствуя о нормализации кальций-фосфорного обмена. Эффективность введения триовита сказалась и на снижении резорбтивных процессов в костной ткани при интоксикации дихлорэтаном и при исследовании обмена основного белка – коллагена.

Ключевые слова: обмен костной ткани, дихлорэтан, свободнорадикальное окисление, антиоксидантный препарат, остеопороз.

**THE EFFECT OF ANTIOXIDANT VITAMIN OF THE DRUG
ON THE METABOLISM OF BONE TISSUE IN CHRONIC CHEMICAL
EXPOSURE IN THE EXPERIMENT**

E.R. BIKMETOVA, F.H. KAMILOV

Bashkir State Medical University, Lenina str., 3, 450008, Ufa, Russian Federation

Daily chronic intoxication by chlorine-organic compound (dichloromethane) to a total dose of 0,1 LD₅₀ of Mature white rats causes intensification of processes of free radical oxidation, a decrease in the activity of antioxidant enzymes and increase in the content of free hydroxyproline in homogenates of the epiphyses of tubular bones. In the blood plasma of experimental animals increases the level of C-telopeptide collagen type I at a constant activity of bone alkaline phosphatase. In the introduction, experimental animals antioxidant vitamin preparation «Trioivit» for three weeks at a dose of 50 mg/kg per day on the background of intoxication with dichloroethane were determined in blood and homogenates of the epiphyses of tubular bones (femur) of animals, the condition of oxidant-antioxidant system in blood plasma – the substance of markers of bone remodeling in bone tissue homogenates was determined by the content of free, belkovosvazavatei hydroxyproline and glycosaminoglycans. Introduction vitamin antioxidant drug in animals contributed to the increase of the antioxidant resources of bone tissue, prevented the development of oxidative stress. Trioivit had a beneficial effect on bone metabolism, in the blood plasma decreased level of C-terminal telopeptides, the inhibition of resorptive processes in the bone tissue during intoxication with chlororganic compounds in the blood plasma, a decrease in the content of parathyroid hormone and increase in the content of total calcium, magnesium and phosphorus, indicating a normalization of calcium-phosphorus metabolism. The effectiveness of the introduction trivita affected the decrease in resorptive processes in the bone tissue during intoxication with dichloroethane and in the study of the metabolism of the main protein collagen.

Keywords: the bone, dichloroethane, free radical oxidation, antioxidant product, osteoporosis.

К факторам, приводящим к росту развития остеопороза, относят общее старение населения, увеличение числа женщин в постменопаузальном периоде, недостаточное потребление кальция и обеспеченность организма витамином Д, неадекватную физическую активность, изменения характера трудовой деятельности, курение, травматизм, прием медикаментов, обладающих остеотоксическим влиянием [1, 2]. Но существенную роль в развитии остеопороза играют экологические факторы, загрязнение производственных помещений токсическими веществами, действие вибрации, электромагнитных волн и др. В комплексе воздействий на окружающую среду и здоровье человека химические загрязнители занимают ведущее место.

Заболевания костно-суставной системы на предприятиях химической промышленности среди болезней с временной утратой трудоспособности занимают третьи-четвертые места [3]. Республика Башкортостан является регионом России, в котором предприятия химической, нефтехимической и нефтеперерабатывающей промышленности представляют ведущую отрасль народного хозяйства.

Ранее проведенные исследования показали, что работники химического предприятия ЗАО «Каустик» (Республика Башкортостан, г. Стерлитамак), имеющие производственный контакт с низкомолекулярными хлорированными производными алифатических углеводородов: дихлорэтан, хлорвинил, хлорпропан, ди-

хлорпропан, хлорпропен, трихлорпропан, эпихлоргидрин и др. во всех возрастных группах в 1,5-2 раза чаще, чем работники других профессий обнаруживают снижение показателей костной прочности [4].

Для уточнения основных механизмов развития остеопенического синдрома у рабочих химического производства были проведены серии экспериментов с интоксикацией половозрелых белых крыс хлорорганическим соединением – дихлорэтан (ДХЭ). Было установлено, что ведущую патогенетическую роль при хронической интоксикации ДХЭ в развитии метаболических нарушений костной ткани с существенным превалированием катаболических процессов играет усиление липопероксидации с развитием недостаточности антирадикальной и антиоксидантной защиты [5]. В этой связи было проведено изучение эффективности действия антиоксидантного витаминного препарата «Триовит» на животных при хронической интоксикации ДХЭ в суммарной дозе 0,1 ЛД₅₀.

Цель исследования

Оценить возможность коррекции нарушений метаболизма костной ткани антиоксидантным витаминным препаратом «Триовит» при хроническом действии хлорированных низкомолекулярных алифатических углеводов (дихлорэтан) в эксперименте.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводились на 180 белых беспородных крысах обоего пола массой 180-260 г. Одним из наиболее широко используемых хлорпроизводных в химической промышленности, включая ряд производственных цехов ЗАО «Каустик», является ДХЭ. В этой связи эксперименты были проведены с ежедневным введением ДХЭ в оливковом масле внутривентриально с помощью специального зонда в течение 60 дней в суммарных дозах 25 мг/кг (0,05 ЛД₅₀) и 50 мг/кг (0,1 ЛД₅₀). Контрольная группа животных получала только оливковое масло. Животные содержались в одинаковых условиях на стандартной диете, в достаточной мере получали белки и минеральные соли.

В крови и гомогенатах эпифизов трубчатых костей (бедренная) экспериментальных животных исследовали состояние оксидантно-антиоксидантной системы (интенсификация хемиллюминесценции, содержания первичных и вторичных продуктов липопероксидации, общую антиоксидантную активность и активность основных антиоксидантных ферментов), в плазме крови – содержание маркеров костного ремоделирования: костной щелочной фосфатазы (КЩФ), С-телопептидов коллагена типа I (β -Cross Laps), паратгормона, кальция, магния и фосфора. В гомогенатах костной ткани определяли содержание свободного (СО), белковосвязанного (БСО) оксипролина и гликозаминогликанов (ГАГ). С целью оценки действия антиоксидантного препарата на метаболизм костной ткани части экспериментальных животных, подвергающихся интоксикации ДХЭ, вводили Триовит внутривентриально в виде суспензии в дозе 50 мг/кг в 2% растворе крахмала в течение 3-х недель перед забоем.

Результаты и их обсуждение

Введение Триовита оказывало защитное действие, погашая интенсификацию хемиллюминесценции в плазме крови и гомогенате эпифизов бедренной кости у крыс, подвергнутых интоксикации ДХЭ (табл. 1). В гомогенатах костной ткани при применении Триовита наблюдалось статистически значимое снижение спонтанной светимости, быстрой вспышки (у самцов крыс) и светосуммы хемиллюминесценции. Длительность латентного периода, отражающего антирадикальную активность, под действием витаминного препарата удлинялась ($P < 0,05$).

Об антиоксидантном эффекте Триовита свидетельствуют и результаты определения в плазме крови и костной ткани продуктов липопероксидации. Уровень диеновых конъюгатов ацилгидропероксид (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), как в гептановой, так и в изопропаноловой фракциях содержание соединений, реагирующих с ТБК у животных, получавших Триовит статистически значимо снижены (табл. 2).

Таблица 1

Действие Триовита на показатели хемилюминесценции плазмы крови и гомогената эпифизов бедренной кости при интоксикации дихлорэтаном, $\bar{X} \pm s_x, n=14$

Показатели, усл.ед.	Пол	Группа животных, n=9			P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		Контрольная, 1-я	ДХЭ 0,1 ЛД ₅₀ , 2-я	ДХЭ+Триовит, 3-я			
спон. светим.	♀	0,76±0,06	1,61±0,13	1,08±0,08	«0,001	0,0249	0,0075
	♂	0,19±0,04	0,34±0,04	0,25±0,01	0,0099	0,1345	0,0433
быстрая вспышка	♀	1,01±0,11	2,71±0,31	1,48±0,16	0,0016	0,0502	0,0637
	♂	1,13±0,07	5,11±0,19	2,43±0,16	«0,001	0,008	0,0012
свето-сумма	♀	2,83±0,34	9,14±1,14	4,26±0,39	«0,001	0,0007	«0,001
	♂	1,73±0,13	5,01±0,27	3,48±0,22	«0,001	0,0007	0,0018
латент. период, мин.	♀	1,88±0,15	1,37±0,10	1,92±0,13	0,0428	0,6728	0,0373
	♂	1,2±0,09	0,65±0,04	0,95±0,07	«0,001	0,0471	0,0247

Таблица 2

Влияние Триовита на содержании продуктов ПОЛ в гомогенате костной ткани крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном, $\bar{X} \pm s_x, n=12$

Группа животных	Пол	Гептановая фаза, усл.ед.		Изопропанол. фаза, усл.ед.		ТБК-РП, нмоль/мл
		ДК	КД и СТ	ДК	КД и СТ	
контрольная	♀	0,73±0,006	0,86±0,02	0,97±0,003	0,74±0,008	2,87±0,15
	♂	0,74±0,01	0,62±0,01	0,97±0,02	0,73±0,009	2,79±0,12
ДХЭ 0,1 ЛД ₅₀	♀	0,93±0,01 P=0,0008	0,97±0,01 P=0,0014	1,01±0,01 P=0,0361	0,85±0,004 P«0,001	4,15±0,21 P=0,0007
	♂	0,94±0,02 P=0,0007	0,71±0,02 P=0,0018	1,03±0,02 P=0,0476	0,87±0,01 P«0,001	4,26±0,19 P=0,0006
ДХЭ+Триовит	♀	0,80±0,01 P=0,0436 P ₁ =0,0006	0,82±0,03 P=0,6688 P ₁ «0,001	0,97±0,003 P=1,0 P ₁ =0,0361	0,69±0,01 P=0,0512 P ₁ =0,0005	2,94±0,11 P=0,7044 P ₁ «0,001
	♂	0,81±0,02 P=0,0043 P ₁ =0,0015	0,66±0,02 P=0,0748 P ₁ =0,0483	0,98±0,007 P=0,8969 P ₁ =0,0436	0,72±0,01 P=0,9746 P ₁ «0,001	3,0±0,14 P=0,6548 P ₁ =0,0008

Примечание: P – различия с группой контроля, P₁ – между подопытными группами.

Введение Триовита животным при воздействии ДХЭ оказывало существенное влияние на ОАА и активность основных антиоксидантных ферментов тканей эпифизов трубчатых костей (табл. 3). Под влиянием витаминного антиоксидантного препарата у животных повышались антиокислительные ресурсы костной ткани, что препятствовало развитию оксидативного стресса.

Триовит оказывал благоприятное действие и на метаболизм костной ткани. Под влиянием антиоксидантного препарата в плазме крови животных снижался

уровень С-концевых телопептидов, отражая торможение резорбтивных процессов в костной ткани при интоксикации хлорорганическими соединениями. Активность КЩФ, у самцов и самок крыс при введении Триовита существенных изменений по сравнению с контролем не претерпевала (табл. 4). При этом у животных, получавших Триовит, наблюдалось в плазме крови снижение содержания паратгормона и повышение до уровня контроля содержания общего кальция, магния и фосфора, свидетельствуя о нормализации кальций-фосфорного обмена.

Таблица 3

Общая антиокислительная активность и активность антиоксидантных ферментов гомогената кости у крыс при действии ДХЭ и введении Триовита, $\bar{X} \pm s_x, n=14$

Группа животных		Показатели			
		ОАА, % ингибирования	СОД, Ед/мг белка	каталаза, мкмоль/мг белка	ГПО, Ед/мг белка
Контрольная	♀	67,8±0,46	7,52±0,24	11,1±0,23	276±28,0
	♂	72,2±5,11	6,9±0,42	7,3±0,22	262±14,3
ДХЭ 0,1ЛД ₅₀	♀	49,5±4,31 P=0,0348	4,36±0,09 P<0,001	8,0±0,57 P<0,001	216±32,4 P=0,0742
	♂	58,3±4,63 P=0,0418	4,1±0,23 P=0,0035	4,5±0,28 P=0,0008	168±10,3 P=0,0002
ДХЭ+Триовит	♀	79,3±2,41 P=0,0068 P ₁ <0,001	8,95±0,26 P=0,0485 P ₁ <0,001	1,03±0,34 P=0,0633 P ₁ =0,0431	296±8,0 P=0,0814 P ₁ =0,0376
	♂	67,8±5,70 P=0,4188 P ₁ =0,0502	7,05±0,28 P=0,7964 P ₁ <0,001	6,8±0,24 P=0,4170 P ₁ =0,0096	224±17,2 P=0,0677 P ₁ =0,0442

Таблица 4

Уровень маркеров обмена костной ткани у крыс при хронической интоксикации ДХЭ и введении Триовита, $\bar{X} \pm s_x, n=18$

Показатели	Группа животных					
	Самки			Самцы		
	контрольная	ДХЭ 0,1ЛД ₅₀	ДХЭ+Триовит	контрольная	ДХЭ 0,1ЛД ₅₀	ДХЭ+Триовит
С-тело-пептиды, нг/мл	0,16±0,02	0,51±0,04 P=0,0007	0,28±0,03 P=0,0431 P ₁ =0,0023	0,18±0,03	0,45±0,06 P=0,0063	0,19±0,02 P=0,6344 P ₁ =0,0058
КЩФ, Ед/мл	0,8±0,07	2,05±0,12 P<0,001	0,85±0,07 P=0,8142 P ₁ =0,0009	1,0±0,08	2,2±0,09 P<0,001	1,13±0,10 P=0,7919 P ₁ <0,001
Паратгормон, пг/мл	16,7±0,55	27,3±1,11 P<0,001	14,8±2,23 P=0,8911 P ₁ <0,001	18,0±0,44	37,0±3,80 P<0,001	20,3±1,01 P=0,4677 P ₁ =0,0012

Эффективность введения Триовита на снижение резорбтивных процессов в костной ткани при интоксикации ДХЭ подтвердилась и при исследовании обмена основного белка – коллагена. Так, содержание БСО в костной ткани у самок крыс, подвергнутых воздействию ДХЭ, составило 78,4% по отношению к контрольной группе, у самцов – 72,7%, а при введении этим животным Триовита соответственно – 84,9% и 86,7%. Содержание СО увеличивалось у подопытных самок до 130,4%, у самцов – до 157,8%, а при использовании Триовита лишь до 104,3% и 108,9% соответственно. Содержа-

ние общих ГАГ у всех групп экспериментальных животных не подвергалась статистически значимым колебаниям, хотя имела тенденцию к повышению.

Вывод

Антиоксидантный витаминный препарат при хронической интоксикации дихлорэтаном, способствует повышению физиологических механизмов антиоксидантной защиты, нормализации соотношения процессов костной резорбции и остеогенеза, снижению деструкции костной ткани и препятствует развитию остеопении и остеопороза.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Аудит состояния проблемы остеопороза в странах Восточной Европы и Центральной Азии, 2010. Международный Фонд Остеопороза, 2011. 64 с.

2. Камиллов Ф.Х., Фаршатов Е.Р., Меньшикова И.А., Бикметова Э.Р., Ганеев Т.И. Остеопороз: влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани. Уфа: Изд-во «ГУП РБ Уфимский полиграфкомбинат», 2015. 311 с.

3. Шаяхметов С.Ф., Дьякович М.П., Мещакова Н.М. Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников предприятий химической промышленности // Мед. труда и промышленная экология. 2008. №8. С. 27-33.

4. Бикметова Э.Р., Рамазанова Л.М., Меньшикова И.А. и др. Особенности обмена костной ткани у работников химического предприятия, имеющих производственный контакт с хлорпроизводными низкомолекулярных алифатических углеводородов // Клиническая биохимия: единство фундаментальной науки и лабораторной диагностики: материалы региональной научно-практической конференции, посвященной 70-летию профессора П.Н. Шараева. 2010. С. 20-4.

5. Камиллов Ф.Х., Фаршатов Е.Р., Иванова Г.В. Патогенетические механизмы развития остеопороза при действии низкомолекулярных хлорированных ациклических углеводородов // Актуальные вопросы медицинской биохимии: сборник научных трудов по материалам научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». Рязань, 2012. С. 75-9.

References

1. Audit sostoiianiia problemy osteoporoz v stranakh Vostochnoi Evropy i Tsentral'noi Azii, 2010 [An audit of the condition of the problem of osteoporosis in Eastern Europe and Central Asia, 2010]. *Mezhdunarodnyi Fond Osteoporoz* [International Osteoporosis Foundation]. 2011. 64 p. (in Russian)

2. Kamilov FKh, Farshatova ER, Men'shikova IA, Bikmetova ER, Ganeev TI

Osteoporoz: vliianie khimicheskikh faktorov proizvodstvennoi sredy na metabolizm kostnoi tkani [Osteoporosis: influence of chemical factors of industrial environment on bone metabolism]. Ufa: Izd-vo «GUP RB Ufimskii poligrafkombinat»; 2015. 311 p. (in Russian)

3. Shaikhmetov SF, D'iakovich MP, Meshchakova NM. Otsenka professional'nogo riska narushenii zdorov'ia rabotnikov predpriiatiia khimicheskoi promyshlennosti [Assessment of occupational exposure of health workers in the chemical industry]. *Med. truda i promyshlennaiia ekologiia* [Med. labour and industrial ecology]. 2008; 8: 27-33. (in Russian)

4. Bikmetova ER, Ramazanova LM, Men'shikova IA i dr. Osobennosti obmena kostnoi tkani u rabotnikov khimicheskogo predpriiatiia, imeiushchikh proizvodstvennyi kontakt s khlorproizvodnymi nizkomolekuliarnykh alifaticheskikh uglevodorodov [Metabolic bone tissue in workers of chemical enterprise with manufacturing contact with low molecular weight chlorinated aliphatic hydrocarbons]. *Klinicheskaiia biokhimiia: edinstvo fundamental'noi nauki i laboratornoi diagnostiki: materialy regional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posviashchennoi 70-letiiu professora P.N. Sharaeva* [Clinical biochemistry: the unity of basic science and laboratory diagnosis. Materials of regional scientific-practical conference dedicated to the 70th anniversary of Professor P.N. Sarai-va]. 2010. P. 20-4. (in Russian)

5. Kamilov FKh, Farshatova ER, Ivanova GV. Patogeneticheskie mekhanizmy razvitiia osteoporoz pri deistvii nizkomolekuliarnykh khlorirovannykh atsiklicheskikh uglevodorodov [Pathogenetic mechanisms of osteoporosis under the action of low molecular weight chlorinated acyclic hydrocarbons]. *Aktual'nye voprosy meditsinskoi biokhimi: sbornik nauchnykh trudov po materialam nauchno-prakticheskoi konferentsii «Biokhimicheskie nauchnye chteniia pamiati akademika RAN E.A. Stroeve»* [Actual questions of medical biochemistry: collection of scientific works on materials of scientific-practical conference «Biochemical scientific readings in memory of academician E.A. Strov»]. Riazan'; 2012. P. 75-9. (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бикметова Э.Р. – к.б.н., доцент кафедры биологической химии, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Российская Федерация.

E-mail: eh19202082@yandex.ru

Камилов Ф.Х. – д.м.н., профессор кафедры биологической химии, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Российская Федерация.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Bikmetova E.R. – candidate of biological sciences., associate Professor, Department of biological chemistry, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation.

E-mail: eh19202082@yandex.ru

Kamilov F.Kh. – doctor of medical sciences, Professor, Department of biological chemistry, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation.