

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ ПОСЛЕ ТЯЖЕЛЫХ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ (экспериментальное исследование)

В. А. Мышкин¹, А. И. Савлуков², И. Л. Гуляева³, Д. А. Еникеев²,
Р. Б. Ибатуллина¹, С. А. Сергеева⁴, А. Р. Шафиков²

¹ ФГУН УфНИИ медицины труда и экологии человека, Уфа;

² ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа;

³ ГОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия, Пермь;

⁴ НИИ фармакологии РАМН, Москва

Correction of Prooxidative-Antioxidative Imbalance after Severe Acute Intoxication (Experimental Study)

V. A. Myshkin¹, A. I. Savlukov², I. L. Gulyaeva³, D. A. Yenikeev²,
R. B. Ibatullina¹, S. A. Sergeeva⁴, A. R. Shafikov²

¹ Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Environment, Ufa;

² Bashkir State Medical University, Ufa;

³ Perm State Medical Academy, Perm;

⁴ Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Цель исследования. Оценка патофизиологической значимости процесса ПОЛ после тяжелых интоксикаций, вызванных фосфорорганическими соединениями, алкоголем, дихлорэтаном, эффективности коррекции антиоксидантами — производными пириимидина и бензимидазола. **Материалы и методы.** Работа выполнена на крысах — самцах массой 160—230 г. Используются модели отравлений этанолом, дихлорэтаном, карбофосом, армином, нитритом натрия в дозах, вызывающих гибель 30—50% животных. Продукты ПОЛ исследовали в липидных экстрактах головного мозга, миокарда, печени различными методами. Оценивали активность ряда ферментных систем (каталаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, Na^+ , K^+ -АТФаза) в организме крыс. В сыворотке крови исследовали: аланинаминотрансферазу, аспаратаминотрансферазу, лактатдегидрогеназу, щелочную фосфатазу, кислотную фосфатазу спектрофотометрически. Методами количественной гистохимии определяли активность сукцинатдегидрогеназы, НАД-диафоразы, Na^+ , K^+ -АТФазы. Измерение и оценку числа химических реакций проводили на микроскопе с телевизионным анализатором МТ-9. Экспериментальные данные анализировались различными методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента. **Результаты.** В статье освещены результаты комплексных экспериментальных исследований эффективности коррекции прооксидантно-антиоксидантного равновесия после тяжелых острых отравлений — химическими прооксидантами и некоторыми липофильными ксенобиотиками. Изучены антиоксиданты, антигипоксанты и актопротекторы — производные пириимидина и бензимидазола. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что при экспериментальных интоксикациях этанолом, дихлорэтаном и фосфорорганическими соединениями ближайшими последствиями нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия являются — нарушения активности процессов перекисного окисления липидов, окислительный стресс, изменение метаболических, биоэнергетических процессов в органах и тканях. Применение оксиметилурацила, бемитила, тиетазола в значительной степени ограничивает или предупреждает указанные нарушения. **Ключевые слова:** интоксикация, фосфорорганические соединения, алкоголь, дихлорэтан, антиоксиданты, перекисное окисление липидов.

Objective: to assess the pathological significance of a lipid peroxidation (LPO) process after severe intoxications caused by organophosphorous compounds, alcohol, dichloroethane, the efficiency of its correction with the antioxidants pyrimidine and benzimidazole derivatives. **Materials and methods.** The study was conducted on male rats weighing 160—230 g. Models of intoxications with ethanol, dichloroethane, carbofos, armine, or sodium nitrite in the doses causing 30—50% death were employed. LPO products were studied in the lipid extracts of the brain, myocardium, and liver by various methods. The activity of a number of enzymes (catalase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, Na^+ , K^+ -ATPase) was evaluated in the rats. Serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, and acid phosphatase were spectrophotometrically assayed. Quantitative histochemistry was used to determine the activity of succinate dehydrogenase, NAD-diaphorase, and Na^+ , K^+ -ATPase. The number of chemical reactions was measured and estimated on a MT-9 TV analyzer microscope. Experimental findings were analyzed by different variation statistical methods using Student's test. **Results.** The paper reports the results of comprehensive experimental studies of the efficiency of correction of prooxidative-antioxidative

imbalance after severe acute intoxication with chemical prooxidants and some lipophilic xenobiotics. Antioxidants, anti-hypoxants, and actoprotectors, the derivatives of pyrimidine and benzimidazole, were tested. **Conclusion.** The findings suggest that the immediate sequels of prooxidative-antioxidative imbalance due to experimental intoxications with ethanol, dichloroethane, and organophosphorous compounds are impaired activities of LPO processes, oxidative stress, altered metabolic, bioenergetic processes in organs and tissues. The use hydroxymethyluracil, bemitil, or thiazole largely limits or prevents the above disorders. **Key words:** intoxication, organophosphorous compounds, alcohol, dichloroethane, antioxidants, lipid peroxidation.

Необходимость фармакологической коррекции перекисного окисления липидов (ПОЛ) отмечается как при отравлении типичными прооксидантами, так и многочисленными химическими веществами (ХВ), которые нарушают ПОЛ в результате неспецифического действия. Лекарственная коррекция ПОЛ при химических поражениях — сложная научная проблема. Достаточно отметить, что механизмы перекисных повреждений органов включают в себя общепатологические, биохимические, биофизические, токсикологические, фармакологические и другие аспекты. На их стыке формируется практическая, прикладная направленность исследований со стратегической идеей получения новых, эффективных средств коррекции постинтоксикационных нарушений. Ее реализация, очевидно, возможна на основе изучения взаимосвязи ПОЛ с другими молекулярными механизмами повреждающего действия ядов при акцентировании внимания на роли процесса ПОЛ в патогенезе интоксикации и механизмах репарации.

В этой связи эффективными средствами коррекции повреждений биологических мембран и расстройств метаболизма могут быть препараты, обладающие антиоксидантной (антирадикальной) активностью со стимулирующим действием на систему энергетического обмена.

Имеющиеся предпосылки, накопленный нами опыт, а также результаты исследований, выполненных в последние годы свидетельствуют о перспективности изучения производных пиридина и бензимидазола — препаратов с широким спектром действия в качестве средств коррекции ПОЛ, состояния биологических мембран и нарушений метаболических процессов в органах при отравлении различными ХВ.

С учетом высокой устойчивой заинтересованности исследователей к некоторым видам химических поражений, вызванных фосфорорганическими соединениями (ФОС), алкоголем, дихлорэтаном (ДХ), в данном сообщении предпринята попытка изложения результатов собственных исследований активности процесса ПОЛ после тяжелых интоксикаций указанными ХВ, эффективности его коррекции антиоксидантами.

Целью данного исследования явилась оценка патофизиологической значимости процесса ПОЛ после тяжелых интоксикаций, вызванных фосфорорганическими соединениями, алкоголем, дихлорэтаном, эффективности его коррекции антиоксидантами — производными пиридина и бензимидазола.

Материалы и методы

Работа выполнена на крысах-самцах массой 160–230 г. Используются модели отравлений этанолом, дихлорэтаном, карбофосом, армином, нитритом натрия в дозах, вызывающих гибель 30–50% животных.

Продукты ПОЛ (изолированные двойные связи, диеновые и триеновые конъюгаты, шиффовы основания, ТБК-реагирующие продукты) исследовали в липидных экстрактах головного мозга, миокарда, печени [1–3]. Изолированные двойные связи (ИДС), диеновые и триеновые конъюгаты (ТК) определяли спектрофотометрически. Шиффовы основания — спектрофлуориметрическим методом. Диеновые конъюгаты в эритроцитах определяли по З. Плацеру и соавт. [4], антирадикальную активность соединений регистрировали методом хемилюминесценции в модельной системе инициированного окисления этилбензола [5]. Интенсивность флюоресценции зонда АНС (1-амино-8-сульфонат) в мембранах эритроцитов исследовали по методике Ю. А. Владимировой, Г. Е. Добрецова [2]. Мембраны эритроцитов выделяли по Доджу [6]. Мембранный белок определяли спектрофлуориметрически [7].

Оценивали активность ряда ферментных систем в организме крыс. Каталазу определяли по М. И. Королюку, Л. И. Иванову и др. [8], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (Г-6-ФДГ) по G. Глос, супероксиддисмутазу (СОД) [9, 10] глутатионпероксидазу (ГП) в описании [2]. Об активности Na^+ , K^+ -АТФазы судили по разности неорганического фосфата (Рн) полной среды и среды без Na^+ и K^+ в присутствии строфантина [2].

В сыворотке крови исследовали: аланинаминотрансферазу (АлАТ; КФ 2.6.1.2), аспартатаминотрансферазу (АсАТ; КФ 2.6.1.1), лактатдегидрогеназу (ЛДГ; КФ 1.1.1.27), щелочную фосфатазу (ЩФ+; КФ 3.1.3.1), кислотную фосфатазу (КФ; КФ 3.1.3.2) спектрофотометрическим методом с использованием биохимического анализатора «Encore» (Швейцария). Методами количественной гистохимии определяли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1), НАД — диафоразы (КФ 1.6.99.3), Na^+ , K^+ -АТФазы (КФ 3.6.1.4). Измерение и оценку числа химических реакций проводили на микроскопе с телевизионным анализатором МТ-9.

При анализе экспериментальных данных использовали различные методы вариационной статистики. Различия результатов в сериях «опыт-контроль» считали достоверными при вероятности различий 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Данные исследования процессов ПОЛ при алкогольной интоксикации и эффективности их коррекции антиоксидантами представлены в табл. 1. Усиление ПОЛ и снижение активности СОД в эритроцитах регистрируются уже через 2 часа после однократного введения крысам алкоголя в дозе 6 г/кг. В то же время в условиях ежесуточной алкоголизации в течение недели в суммарной дозе 4,5 г/кг прослеживается определенная последовательность метаболических нарушений, сопровождающих активацию ПОЛ: к недельному сроку опыта после периода выравнивания интенсивности ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов (антиокислительных резервов) наблюдается период одновременного их усиления. В печени алкоголизированных крыс активация ПОЛ развивается параллельно с повреждением мембран гепатоцитов и снижением митохондриального энергообразования, о чем свидетельствует падение в ткани печени активности Na , K -АТФазы, НАДН-ДГ и

Содержание продуктов ПОЛ, активности ферментов в эритроцитах и печени в условиях острой алкогольной интоксикации, алкоголизации и коррекции антиоксидантами ($M \pm m$, $n=8$)

Препараты	Этанол	Этанол+оксиметиурацил	Этанол+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил
Острая интоксикация			
<i>Эритроциты</i>			
ДК, мкМ/г белка	210,3±9,8**	92,5±8,0**	87,4±10,7**
Активность СОД (усл. ед/мг Нб)	0,76±0,03*	0,93±0,05**	0,94±0,05**
<i>Печень</i>			
ТБК-РП (нмоль/г ткани)	210,0±1,0*	152,8±4,5**	179,2±2,3**
Алкоголизация			
<i>Печень</i>			
ТБК-РП (нмоль/г ткани)	330,1±6,4*	224,0±6,5**	215,0±9,1**
СДГ (усл. ед)	7,42±0,15*	8,0±0,28**	8,16±0,02**
НАДН-ДГ (усл. ед)	9,68±0,01*	9,4±0,04***	8,9±0,01**
АТФаза (усл. ед)	5,7±0,3*	6,2±0,5	6,7±0,1**
<i>Сыворотка крови</i>			
ЛДГ (моль/г*л)	88,5±3,1*	78,9±1,2***	79,2±2,0***

Примечание. * — $p < 0,05$ с биологическим контролем; ** — $p < 0,05$ с группой «этанол».

СДГ, а также увеличение в крови ЛДГ. В наших опытах индикатором усиления активности процесса ПОЛ являлось, главным образом, увеличение количества ТБК-реагирующих продуктов. В то же время, нам не удалось обнаружить существенного изменения количества первичных продуктов ПОЛ, в частности, ДК.

Применение в режимах предупредительной и сопроводительной коррекции оксиметиурацила (50 мг/кг), а также его ближайшего аналога — 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила оказало благоприятный эффект в эритроцитах и печени на обеих моделях — острой алкогольной интоксикации и алкоголизации. При острой интоксикации этанолом препараты полностью предупреждали нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия, а в условиях алкоголизации, кроме того, оказали защитный эффект на функционирование ферментов печени, причем, 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил в отличие от оксиметиурацила оказал положительный эффект на Na, K-зависимую АТФазу гепатоцитов.

Значительные сдвиги процессов свободнорадикального окисления обнаружены в условиях тяжелой интоксикации дихлорэтаном. На 7-е и 14-е сутки после введения токсиканта в ткани печени крыс обнаружено увеличение количества конъюгированных диенов и триеновых конъюгатов (табл. 2). Прооксидантное действие дихлорэтана сопровождается развитием цитолитического и холестатического эффектов, что подтверждается увеличением активности в крови соответствующих маркерных ферментов — АсАТ, ЛДГ и ЩФ. Кроме того, нарушение метаболических процессов в печени проявляется повышением в крови количества холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ).

Применение пиримидинов оказывает антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффекты. Лечение крыс оксиметиурацилом по (50 мг/кг × 7 дней) и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом по аналогичной схеме снижает увеличенное токсикантом количество ДК и ТК на 7-е и 14-е сутки. При этом антиоксидантная те-

рапия оказывает благоприятный эффект на активность АсАТ, ЩФ, количество ХС и ТГ. По эффективности предпочтительнее 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил.

Установлено также, что при некоторых формах тяжелой интоксикации фосфорорганическими соединениями происходит значительное нарушение регуляции процессов свободнорадикального окисления, в результате которого развивается окислительный стресс [2, 10, 11].

Окислительный стресс — малоисследованное звено в патогенезе тяжелых отравлений ФОС. Состояние окислительного стресса сопровождается резкой активацией свободнорадикальных реакций в результате изменения баланса прооксидантной и антиоксидантной систем. К числу наиболее значимых для токсогенеза ФОС относятся цитохром Р-450 зависимые монооксигеназные реакции, приводящие к генерации активных форм кислорода (O_2^- ; $O_2^{\cdot-}$; OH^{\cdot}), образованию свободнорадикальных форм ксенобиотика типа R^{\cdot} ; RO^{\cdot} с последующей активацией ПОЛ.

Можно предположить, что при отравлении ФОС, имеющих высокую гидрофобность (карбофос, меркаптофос) механизмы окислительного стресса включаются до момента их собственной биотрансформации в монооксигеназной системе печени и взаимодействия с активными центрами ацетилхолинэстеразы (АХЭ). В то же время более гидрофильные и быстрометаболизирующиеся яды (армин) взаимодействуют, прежде всего, с АХЭ с последующим развитием гиперхолинэргического эффекта и циркуляторной гипоксии в качестве лидирующего звена патогенеза. При данной форме интоксикации сама возможность развития окислительного стресса и нарушение активности процесса ПОЛ, по-видимому, маловероятна.

На моделях острого отравления карбофосом и армином изучали состояние антиоксидантной системы (АОС), реакции ПОЛ в органах-мишенях в токсигенную и соматогенную фазы интоксикации, активность АХЭ и некоторые интегральные показатели состояния

Таблица 2

Влияние производных пириимидина на перекисное окисление липидов и метаболические показатели в печени крыс при отравлении дихлорэтаном на 7-е и 14-е сутки эксперимента ($M \pm m$, $n=8$)

Показатель	Интактные крысы		Дихлорэтан		ДХЭ + 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил		ДХЭ + оксиметилурацил	
	7	14	7	14	7	14	7	14
Дневные конъюгаты, ($\lambda=232$)	2,0±0,09	2,0±0,09	4,1±0,08*	3,9±0,30*	2,3±0,14**	2,14±0,13**	2,7±0,21**	2,1±0,06**
ТК, ($\lambda=288$)	1,1±0,10	1,1±0,10	2,4±0,12*	1,9±0,04*	1,2±0,11**	1,0±0,06**	1,3±0,08**	0,9±0,14**
АсАТ, ммоль г/л	6,3±0,4	6,5±0,7	13,5±1,3*	6,8±0,34	8,2±0,4**	—	9,0±0,4**	—
ЛДГ, ммоль г/л	29,9±1,0	29,9±1,0	81,2±2,4*	70,5±4,1*	60,5±1,1*	68,8±2,2*	72,0±1,5*	70,6±4,5*
ЩФ, ммоль г/л	4,0±0,5	4,0±0,5	13,2±1,3*	17,0±4,1*	5,2±0,1*	6,4±1,2**	11,8±0,5*	5,1±0,3**
ХЛ, ммоль г/л	1,2±0,1	1,2±0,1	3,9±0,2*	5,0±0,3*	1,7±0,2**	3,3±0,3**	3,4±0,2*	1,1±0,2*
ТГ, ммоль г/л	1,2±0,1	1,2±0,1	3,0±0,1*	4,0±0,1*	1,1±0,1**	2,0±0,2**	2,8±0,2*	2,2±0,1**

Примечание. * — $p < 0,05$ к группе «интактные крысы»; ** — $p < 0,05$ к группе «дихлорэтан».

организма экспериментальных животных (выживаемость/смертность). Острую интоксикацию карбофосом вызывали путем однократного энтерального введения крысам яда в дозе 0,9 ЛД₅₀ (320 мг/кг). Острую интоксикацию армином — однократным внутримышечным введением токсиканта в дозе 0,9 ЛД₅₀ (0,75 мг/кг). Продукты ПОЛ (ДК, ТК, и ШО) определяли в липидных экстрактах головного мозга и миокарда. Активность СОД определяли по методу В. Н. Чумакова, ацетилхолинэстеразы — методом Элмана [2]. При анализе полученных данных использовали различные методы вариационной статистики.

Установлено, что у крыс при остром отравлении карбофосом падение активности СОД в полушариях головного мозга, активация процессов ПОЛ в мозге и сердце развиваются в ближайшие 2 часа после введения яда. В мозге количество ДК увеличивается через 2—24 часа и к исходу 2—14-х суток превышает контрольные показатели в 1,5 и 3,3 раза. В миокарде содержание ДК в эти же сроки возрастает в 1,4—3,8 раза, а на 28—30-е сутки, также как и в мозге, возвращается к норме. Однако нормализация в данном случае не является истинной, так как на 42-е сутки после отравления количество ДК в липидах мозга падает до отрицательных значений, составляя только 3,3% от контроля. Обнаруженный дисбаланс между активностью СОД и количеством продуктов ПОЛ предшествует по времени наступлению массовой гибели крыс, которая происходит между 41-ми и 43-ми сутками эксперимента [2].

Лечение отравленных крыс антидотами — атропином или атропином и дипиросксомом (диэтиксимом) практически не оказывает эффекта на клинические проявления интоксикации и биохимические показатели. Так, внутримышечное введение М-холинэстеразы атропина (5 мг/кг и 10 мг/кг) при первых признаках отравления не оказывает эффекта, так же как и его использование в более отдаленные сроки. Совместное применение атропина (10 мг/кг) и реактиватора холинэстеразы дипиросксома (или диэтиксима) в дозе 25 мг/кг существенно не влияет на исследованные показатели, в том числе на активность АХЭ мозга и эритроцитов. Так, минимальная остаточная активность АХЭ в эритроцитах отравленных карбофосом крыс через 5 часов составляет 32,0±2,0%, а у крыс, кото-

рым вводили антидоты 36,7±6,0%. В то же время добавление к антидотам антиоксидантов — тонарола или эмоксипина (50 мг/кг) оказывает благоприятный эффект на активность СОД, содержание ДК, ШО в мозге, а также на клинические симптомы интоксикации и в значительной степени предупреждает летальный эффект на 41—43-е сутки после отравления [2]. Поскольку в условиях смертельной интоксикации карбофосом применение антиоксидантов предупреждает дисбаланс АОС/ПОЛ в органах и массовую гибель животных в постинтоксикационном периоде, можно сделать вывод о том, что окислительный стресс является важным звеном патогенеза поражений карбофосом и требует соответствующей фармакологической коррекции антиоксидантным действием.

Одной из наиболее вероятных причин низкой эффективности атропина и других антидотов, в том числе реактиваторов холинэстеразы, в условиях острой интоксикации карбофосом являются структурные изменения эритроцитов и связанные с ними нарушения микроциркуляции [12].

Для выяснения патохимического механизма повреждения периферического отдела эритрона и определения путей его фармакологической коррекции были проведены эксперименты на крысах. Изучены морфофункциональные особенности эритроцитов в условиях острой интоксикации карбофосом, проведена оценка состояния эритроцитарных мембран, АОС, активности процессов ПОЛ, а также исследованы: количество эритроцитов и ретикулоцитов, концентрация гемоглобина, показатель гематокрита, цветовой показатель крови, среднее содержание гемоглобина, средний объем гемоглобина, средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците, микровязкость и электрический заряд эритроцитарных мембран (табл. 3).

Установлено, что карбофос в дозе 0,9 ЛД₅₀ вызывает гибель 30% крыс в течение первых суток и выраженное токсическое действие на систему эритрона. У отравленных животных выявлено увеличение в крови содержания ретикулоцитов, изменение осмотической резистентности (микровязкости) и электрического заряда, подавление активности АОС и увеличение концентрации первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Введение атропина предупреждает гибель крыс в тече-

Таблица 3

Морфофункциональные показатели эритроцитов и ПОЛ, их мембран у крыс после острого отравления карбофосом и коррекции бемитилом и тиетазолом ($M \pm m, n=8$)

Показатель	Препараты (группы животных)				Здоровые крысы
	Атропин	Атропин+ бемитил	Атропин+ тиетазол	Контроль (карбофос)	
Гемоглобин, г/л	140,2±4,8	152,0±3,0	148,2±3,2	142,5±2,8	148,2±5,2
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,6±0,2	4,7±0,1	4,5±0,1	4,5±0,2	4,6±0,1
Гематокрит, %	41,6±3,5	41,3±1,8	43,0±2,5	41,5±4,0	42,0±3,4
Ретикулоциты	36,4±2,0**	30,6±2,0**	25,8±1,7***	58,2±2,7*	34,0±3,5
ССГ, ПК	0,23±0,03	0,24±0,01	0,29±0,02	0,27±0,03	0,28±0,02
СОГ, мкм ³	71,0±0,2	62,5±1,8	69,0±0,30	68,8±1,3	68,0±0,8
*СЭФПЭ, м ² /л*с	1,11±0,01	1,13±0,05**	1,16±0,05***	1,00±0,02*	1,13±0,01
АНС, отн.ед.флуоресценции	1,12±0,04	0,03±0,01	0,02±0,01	0,13±0,02	0,90±0,02
Среднелеточная хрупкость эритроцитов (%NaCl)	0,55±0,001*	0,45±0,01**	0,42±0,001**	0,52±0,002*	0,45±0,02
Каталаза, ммоль/мин/г Нб	26,5±1,6*	33,1±2,0**	30,0±1,1**	24,4±2,5*	31,7±1,8
СОД, усл. ед./мг Нб	0,70±0,05*	1,12±0,05**	1,08±0,05**	1,68±0,07**	1,07±0,04
Г-6-ФДГ, мкмоль/мин/мг Нб	12,8±0,4	16,9±0,4***	11,5±0,6*	10,2±0,4*	15,7±0,4
ДК, ммоль/г Нб	125,0±2,4**	99,6±11,2**	92,5±5,0**	152,0±1,8*	102,1±5,0
ТБК-РП, ммоль/мг белка	0,68±0,05*	0,25±0,07**	0,31±0,06**	0,56±0,02*	0,26±0,11

Примечание. * — достоверность ($p < 0,05$) различий со здоровыми крысами; ** — достоверность ($p < 0,05$) различий с контролем.

Таблица 4

Антирадикальная и антиокислительная активность препаратов в модельных системах

Препараты	Антирадикальная активность, константа K_7 (л/ммоль)*с	Антиокислительная активность, %		
		спонтанная ПОЛ	неферментное ПОЛ	ферментное ПОЛ
Бемитил	$(1,03 \pm 0,3) \times 10^3$	62	51	67
Тиетазол	0	—	20,8	10,5
Атропин	$(4,3 \pm 1,3) \times 10^1$	—	—	—
Ионол	$(2,3 \pm 0,6) \times 10^4$	96,0	100	70,3

ние первых суток, развитие ретикулоцитоза и ограничивает накопление в эритроцитах первичных продуктов ПОЛ (ДК), однако атропинизация не влияет на антиоксидантную систему эритроцитов, количество ТБК — реагирующих продуктов, осмотическую резистентность и электрический заряд мембран.

Применение наряду с атропином актопротекторов — производных бензимидазола (бемитила, тиетазола), обладающих антиоксидантным, мембраностабилизирующим действием и последующее их введение животным в режиме монотерапии оказывает выраженное терапевтическое влияние на большинство нарушенных показателей, в том числе содержание ретикулоцитов, активность СОД и каталазы, количество продуктов ПОЛ, осмотическую резистентность, микровязкость и электрический заряд эритроцитарных мембран.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что нарушение морфо-функционального состояния, в том числе прооксидантно-антиоксидантного равновесия в периферическом отделе эритрона в условиях острого отравления карбофосом является важным механизмом повреждения мембран эритроцитов, а включение в схему лечения бемитила или тиетазола предупреждает прооксидантное и мембранотоксическое действие яда на эритроциты.

Для выяснения механизма эффективности производных бензимидазола проведены модельные эксперименты с использованием различных систем свободнорадикального окисления. Результаты представлены в табл. 4.

Они свидетельствуют о том, что по показателям антирадикальной и антиоксидантной активности бемитил значительно активнее тиетазола. По-видимому, антиоксидантные эффекты двух препаратов *in vivo* реализуются через различные механизмы. Наряду с основным стимулирующим эффектом двух препаратов на эндогенные антиоксидантные системы эритроцитов, бемитил в отличие от тиетазола, обладает прямой антирадикальной активностью [11].

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что после тяжелых острых отравлений этазолом, дихлорэтаном, ФОС, основными последствиями нарушений прооксидантного — антиоксидантного равновесия являются:

- нарушение ПОЛ (активация или подавление активности);
- окислительный стресс;
- изменение микровязкости, проницаемости и электрического заряда биологических мембран;

- нарушение активности ферментов;
- нарушение биоэнергетических процессов;
- увеличение смертности.

Применение в качестве средств коррекции некоторых производных пиримидина и бензимидазола, обладающих антиоксидантной, антигипоксической, актопротекторной активностью в виде монотерапии или в комбинации с антидотами оказывает благоприятное влияние на нарушенное токсикантами прооксидантно-антиоксидантное равновесие в органах и тканях и в значительной степени ограничивает или предупреждает

развитие неблагоприятных последствий этого нарушения. Учитывая сложный, многогранный характер нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия в различные фазы интоксикаций, можно заключить, что для их коррекции необходимы фармакологические средства с широким спектром защитно-восстановительной активности, действующие на базальные клеточные процессы, определяющие резистентность клеток и способность к репарации, повышающие общие адаптационные возможности организма.

Литература

1. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск; 2000.
2. Мышкин В. А. Коррекция перекисного окисления липидов при экспериментальных интоксикациях различными химическими веществами: дис...д-ра мед.наук. Челябинск; 1998.
3. Tappel A. K. Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Proc. 1973; 32 (8): 870–1874.
4. Плацер З., Видланова М., Кушелева Л. Процессы перекисления липидов при повреждении и ожирении печени. Чехословацкое мед. обозрение 1970; 16 (7): 30–41.
5. Шляпникох В. Я., Карпухин О. Н., Постников Л. М. Хемиллюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. М.: Наука; 1966.
6. Dodge G. T., Mitchell C., Hanahan D. J. The preparation and chemical characteristics of haemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys. 1963; 100 (1): 119–130.
7. Fairbairns G., Liseck. Electrophoretic analysis of the human erythrocyte membrane. Biochemistry 1971; 10: 119–130.
8. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело 1988; 1: 16–18.
9. Fridovich J. Superoxide dismutase. Ann. Rev. Biochem. 1975; 44: 117–159.
10. Чумаков В. М., Осинская Л. Ф. Количественный метод определения активности Zn, Cu-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале. Вопр. мед. химии 1977; 5: 712–716.
11. Мышкин В. А., Ибатуллина Р. Б., Савлуков А. И., Еникеев Д. А. Влияние актопротекторов на перекисное окисление липидов и состояние мембран эритроцитов у крыс при отравлении карбофосом. Патол. физиология и эксперим. терапия 2004; 3: 10–12.
12. Прозоровский В. Б., Скопичев В. Г., Ардабьева Т. В., Панов П. Б. Структурные изменения эритроцитов как возможная причина низкой эффективности специфической терапии отравлений карбофосом. Морфология 1996; 6: 60–64.

Поступила 26.06.06