

## ПОКАЗНИКИ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ФТОРИДНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

Коник У.В.<sup>1</sup>, Козак Л.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

<sup>2</sup> Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,  
м. Львів, Україна

**Анотація.** Відомо, що унаслідок привалого надходження сполук фтору, переважно з водою, у концентраціях, які перевищують безпечні рівні, фториди поступово видозмінюють метаболізм, відтак викликають глибокі, часто незворотні структурні зміни, які виявляються у флюорозі зубів, кісток тощо. Це і зумовило доцільність проведення експериментальних досліджень за умов хронічної фторидної інтоксикації з метою деталізації механізмів її розвитку. Для оцінки ступеня метаболічних порушень при дії фторидів актуальним є визначення міри активації процесів перекисного окиснення ліпідів та збалансованість її системами антиокислювального захисту. Виявлено фторид-індуковану активацію процесів ліпопероксидації у крові (збільшення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів), зниження антиоксидантного захисту (зменшення загальної антиоксидантної активності, активності каталази, глутатіонпероксидази), порушення стійкості еритроцитів до перекисного гемолізу. Водночас відмічено збільшення концентрації молекул середньої маси у сироватці крові, що може бути критерієм ураження цілісності певного типу клітин, їх деструкції, а відповідно – метаболічної інтоксикації. Компенсаторні процеси антиоксидантної системи за таких умов виражаються активацією супероксиддисмутази у крові.

**Ключові слова:** хронічна фторидна інтоксикація, оксидативний стрес, антиоксидантний захист.

**Вступ.** Оскільки у сучасних умовах фториди є одними з найбільш поширених антропогенних забруднювачів, велике значення має дослідження механізмів фтористої інтоксикації. В цілому вважається, що вплив фторид-іону спрямований на метаболічні процеси, які виражаються функціональними та структурними порушеннями. Під час фторидної інтоксикації активуються як первинні специфічні, так і вторинні опосередковані зміни метаболізму, які призводять до гіпоксії тканин. Збільшення фторидів у ґрунті, воді, спричинене використанням їх у різних галузях народного господарства, сприяє підвищеному надходженню сполук фтору в організм

людини. Тривале надходження сполук фтору, переважно з водою, у концентраціях, які перевищують безпечні рівні, поступово видозмінюючи метаболізм, відтак викликає глибокі, часто незворотні структурні зміни, які виявляються у флюорозі зубів, кісток тощо [2]. Це і зумовлює доцільність проведення експериментальних досліджень за умов хронічної фторидної інтоксикації з метою деталізації механізмів її розвитку.

Установлено, що при гострому отруєнні фторидами виникає киснева недостатність змішаного типу, хоча в ранній стадії переважає циркуляторна гіпоксія. Тривала і значна інтоксикація обумовлює тканинну гіпоксію, особливістю якої, судячи з даних літератури, на відміну від дії ціаніду, оксиду вуглецю, азиду натрію і анаеробних умов, є зростання ступеня окиснення компонентів дихального ланцюга. Як наслідок, гальмування анаеробного дихання, а не активування його, як звичайно, в екстремальних умовах [5, 6].

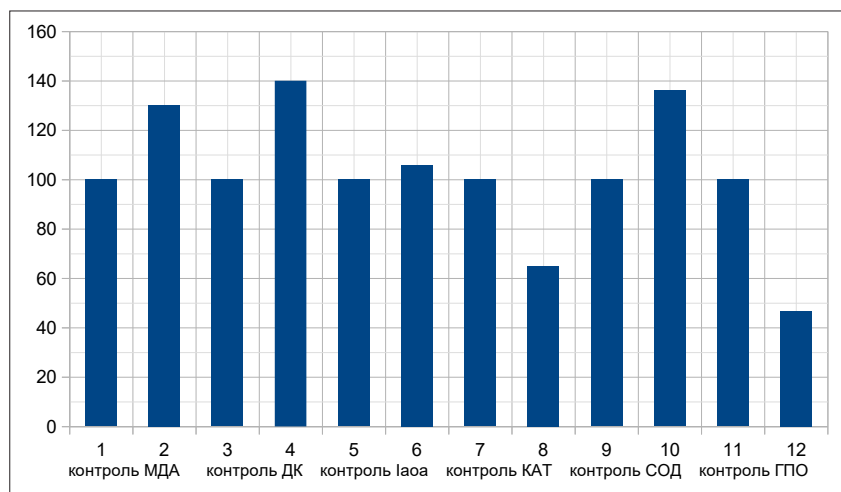
Одним із важливих неспецифічних механізмів пошкодження мембран і ферментів є надмірна активація вільнорадикальних реакцій і пероксидного окиснення ліпідів, інтенсивність якого регулюється взаємовідношенням антиокиснювальних факторів, які активують і пригнічують (антиоксиданти) цей процес [4, 7, 8].

**Метою дослідження** було комплексне дослідження співвідношення показників пероксидного окиснення ліпідів та систем антиоксидантного захисту при хронічній фторидній інтоксикації для визначення прогнозу перебігу адаптаційно-компенсаторних реакцій.

**Матеріали та методи досліджень.** Для вирішення поставленої мети та завдань дослідження були проведенні на білих щурах-самцях масою 0,18–0,22 кг. Тварини утримувалися за стандартних умов віварію, на звичайному харчовому та світловому режимах. Хронічну фтористу інтоксикацію викликали шляхом щоденного перорального введення натрію фториду у дозі 10 мг на 1 кг маси впродовж 30 днів. У дослідах натрію фторид вводився тваринам у вигляді водного розчину перорально через медичний шприц із спеціально виготовленою насадкою, притуплений кінець якої попереджував травмування ротової порожнини. Для виключення стресового впливу контрольним тваринам замість натрію фториду аналогічним способом вводили фізіологічний розчин у тих самих об'ємах. Враховуючи дані літератури щодо термінів явного вираження симптомів хронічної фтористі інтоксикації після початку затруювання і керуючись власними спостереженнями (фіксувався виражений флюороз зубів), забій щурів шляхом декапітації проводили на 31–34 добу від початку експерименту. Визначали активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази, загальну антиоксидантну активність ( $I_{AOA}$ ), а також

вміст  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $\beta$ -ЛП), вміст молекул середньої маси (МСМ) [1]. Паралельно проводили визначення одного з проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду (МДА) та вміст дієнових кон'югатів (ДК). За інтенсивністю реакцій ПОЛ робили висновок про функціональну повноцінність ліпідних структур, яка є показником стаціонарних біохімічних перетворень у клітині та в організмі в цілому. Одним з важливих тестів, який дає змогу охарактеризувати співвідношення про- і антиоксидантних систем є визначення перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ), яку визначали за процентом гемолізу, індукованого додаванням  $H_2O_2$  до суспензії еритроцитів. Матеріалом досліджень була кров. Досліди проводили відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту про захист тварин, що використовуються для наукових цілей (22.09.2010), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (редакція від 13.02.20). Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію t Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Установлено, що після 30-ти денного введення білим щурам натрію фториду у дослідних тварин спостерігались очевидні ознаки хронічної фторидної інтоксикації. Вони проявлялись у розвитку флюорозу зубів, про що свідчила наявність плям на зубах, чергування пігментованих і депігментованих смужок. Нижні різці дослідних



**Рис. 1. Зміни біохімічних показників у крові щурів після 30-денного введення натрію фториду у дозі 10 мг/кг**

тварин уражувались значно раніше верхніх. Викликана хронічна фторидна інтоксикація характеризувалася певними змінами біохімічних показників (рис. 1).

Судячи з отриманих результатів, при хронічній фторидній інтоксикації спостерігається однотипний характер змін окремих ланок кисеньзалежного метаболізму в крові. За умов впливу фторидів у сироватці крові спостерігається збільшення вмісту ДК на 44 %, МДА – на 30 %. При цьому у сироватці крові приблизно вдвоє збільшується вміст одного з основних субстратів ліпопероксидації –  $\beta$ -ліпопротеїнів. При фторидній інтоксикації у крові спостерігається зниження потужності антиоксидантної системи. Активність каталази зменшується у крові на 35 %, глутатіонпероксидази – на 53 %. Підвищення активності СОД у крові на 47,1 %, індуковане інтенсифікацією вільнорадикального пероксидного окиснення, викликаного надлишком фтору, є недостатнім для оптимального антиоксидантного захисту організму. Зміни інтегративного показника потужності системи антиоксидантного захисту –  $I_{AOA}$  у сироватці крові неістотні. Порушення співвідношення між про- і антиокиснювальними процесами проявляється у зміні інтегративного показника – резистентності еритроцитарних мембран до пероксидного гемолізу. Хронічна фториста інтоксикація в 2,7 разу збільшує  $H_2O_2$ -індукований гемоліз еритроцитів. Для підтвердження негативного впливу фторидів на організм в цілому нами велось спостереження за інтенсивністю утворення МСМ. Як відомо, МСМ характеризуються імунодепресивним ефектом, мають властивість впливати на продуктивність тканинного дихання, пригнічуючи властивість тканин акумулювати і трансформувати енергію, змінювати проникність клітинних мембран та мембранного транспорту [3]. У наших дослідженнях встановлено, що концентрація  $MSM_{254}$  збільшувалась на 43,2 % порівняно з контролем, який становив  $0,213 \pm 0,013$  ( $p < 0,05$ ), що корелювало з активацією процесів ПОЛ. Концентрація  $MSM_{280}$  за умов хронічної фтористої інтоксикації зросла до  $0,250 \pm 0,012$ , при контролі  $0,220 \pm 0,010$ , ( $p < 0,05$ ). Збільшення ПГЕ в 2,7 разу при фтористій інтоксикації корелювало з активацією процесів ліпопероксидації у крові та зниженням активності окремих ланок антиоксидантного захисту. Згідно з даними літератури, висока реакційна здатність фтору дає йому можливість проникати через клітинні та субклітинні мембрани, порушуючи їх цілісність і посилюючи процеси ПОЛ [1, 2]. Як відомо, підвищений вміст МСМ в тій чи іншій мірі супроводжує захворювання і ускладнення, пов'язані із збільшеним білковим катаболізмом, деструкцією тканин, ураженням дезінтоксикаційних систем організму [3]. Необхідно відмітити, що МСМ сприяють гемолізу еритроцитів, гальмують утилізацію глюкози в них.

**Висновки.** Таким чином, при хронічній фторидній інтоксикації у крові виявлено активацію процесів ліпопероксидації (збільшення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів), зниження антиоксидантного захисту (зменшення  $I_{AOA}$ , активності каталази, глутатіонпероксидази), порушення стійкості еритроцитів до пероксидного гемолізу. Водночас відмічено збільшення концентрації  $MCM_{254}$  у сироватці крові, що може бути критерієм ураження цілісності певного типу клітин, їх деструкції, а відповідно – метаболічної інтоксикації. Компенсаторні процеси антиоксидантної системи за таких умов виражаються активацією супероксиддисмутази у крові.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Коник У.В., Гжегоцький М.Р., Ковальчук С.М. Метаболічні ефекти олії амаранту та імпульсного гіпоксичного тренування за умов дії фтористої інтоксикації та малих доз радіації. *Фізіологічний журнал*. 2002. № 48 (6). С. 74–79. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz>
2. Костенко В.О., Акімов О.Є., Ковальова І.О., Міщенко А.В., Френкель Ю.Д. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стомат. академії*. 2018. № 18 (1). С. 303–308.
3. Kozak D.V. Lipid peroxidation, antioxidant defence, endogenous intoxication and cytolysis variations in early and late manifestations of traumatic disease. *Journal of Health Sciences*. 2013. № 3 (4). P. 108–117.
4. Kozak L.P., Aleksevich Ya. I., Terletskaia O.I. et al. A system of pro- and antioxidant balance during adaptation to periodical hypoxia under alcohol intoxication. *Hyp. Med. J.* 2000. № 3 (4). P. 34–37.
5. Kozak L.P. “Peculiarities of ethanol intoxication of animals at application of intermittent hypoxic training at the beginning of alcohol consumption”. *Medical Science of Ukraine*. 2021. 17 (2). P 33–39. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2021>
6. Inkielewicz-Stepniak I, Czarnowski W. Oxidative stress parameters in rats exposed to fluoride and caffeine. *Food and Chemical Toxicology*. 2010. № 48 (6). P. 607–1611. DOI: 10.1016/j.fct.2010.03.033.
7. Sharma Priyanka, Pawan Kumar Verma, Shilpa Sood, Maninder Singh, Deepika Verma. Impact of Chronic Sodium Fluoride Toxicity on Antioxidant Capacity, Biochemical Parameters, and Histomorphology in Cardiac, Hepatic, and Renal Tissues of Wistar Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2023. № 201 (1). P. 229–241. DOI: 10.1007/s12011-022-03113-w
8. Tymochko M.F., Aleksevych Ya.I., Bobkov Yu.H. “Features of oxygen balance in extreme conditions”, *Hypoxia Med. J.*, 1996, 3, 8–12.

## REFERENCES:

1. Konyk U.V., Hzhchotskyi M.R., Kovalchuk S.M. (2002), Metabolic effects of amaranth oil and pulsed hypoxic training under conditions of fluoride intoxication and low doses of radiation, *Fiziolohichnyi zhurnal*, 48 (6), 74–79. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz>
2. Kostenko V.O., Akimov O.Ie., Kovalova I.O., Mishchenko A.V., Frenkel Yu.D. (2018), Molecular mechanisms of the influence of fluorides on the body of mammals, *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visn. Ukrainskoi med. stomatol. Akademii*, 18 (1), 303–308.
3. Kozak D.V. (2013), Lipid peroxidation, antioxidant defence, endogenous intoxication and cytolysis variations in early and late manifestations of traumatic disease, *Journal of Health Sciences*, 3 (4), 108–117.
4. Kozak L.P., Aleksevich Ya. I., Terletskaia O.I. (2000), A system of pro- and antioxidant balance during adaptation to periodical hypoxia under alcohol intoxication, *Hyp. Med. J.*, 4 (3), 34–37.
5. Kozak L.P. (2021), Peculiarities of ethanol intoxication of animals at application of intermittent hypoxic training at the beginning of alcohol consumption, *Medical Science of Ukraine*, 17 (2), 33–39. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2021>
6. Inkielewicz-Stepniak I, Czarnowski W. (2010), “Oxidative stress parameters in rats exposed to fluoride and caffeine”, *Food and Chemical Toxicology*, 48 (6), 607–1611. DOI: 10.1016/j.fct.2010.03.033.
7. Sharma Priyanka, Pawan Kumar Verma, Shilpa Sood, Maninder Singh, Deepika Verma. (2023), Impact of Chronic Sodium Fluoride Toxicity on Antioxidant Capacity, Biochemical Parameters, and Histomorphology in Cardiac, Hepatic, and Renal Tissues of Wistar Rats, *Biol Trace Elem Res.* 201 (1), 229–241. DOI: 10.1007/s12011-022-03113-w
8. Tymochko M.F., Aleksevych Ya.I., Bobkov Yu.H. (1996), Features of oxygen balance in extreme conditions, *Hypoxia Med. J.*, 3, 8–12.

## OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN RATS WITH CHRONIC FLUORIDE INTOXICATION

**Konyk U.V., Kozak L.P.**

**Abstract.** It is known that as a result of the continuous intake of fluorine compounds, mainly with water, in concentrations that exceed safe levels, fluorides gradually change the metabolism, thus causing deep, often irreversible structural changes, which are manifested in fluorosis of teeth, bones, etc. This determined the expediency of conducting experimental studies under conditions of chronic fluoride intoxication in order to detail the mechanisms of its development. To assess the degree of metabolic disorders under the influence of fluorides, it is important to determine the degree of activation

*of lipid peroxidation processes and its balance by antioxidant protection systems. Fluoride-induced activation of lipoperoxidation processes in the blood (increase in the content of diene conjugates, TBA-active products), decrease in antioxidant protection (decrease in total antioxidant activity, activity of catalase, glutathione peroxidase), impaired resistance of erythrocytes to peroxide hemolysis was revealed. At the same time, an increase in the concentration of medium-mass molecules in blood serum was noted, which can be a criterion for damage to the integrity of a certain type of cells, their destruction, and, accordingly, metabolic intoxication. Compensatory processes of the antioxidant system under such conditions are expressed by the activation of superoxide dismutase in the blood.*

**Key words:** *chronic fluoride intoxication, oxidative stress, antioxidant protection.*

Коник У.В.

Козак Л.П. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3542-6848>, +38(067)1551721,

[kozak.l.p.lnmu@gmail.com](mailto:kozak.l.p.lnmu@gmail.com)