

УДК 577.334:57.042

## УРОВЕНЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ КОМПЛЕКСА ВРЕДНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Кубрикова Ю.В., Попова Т.Н., Макеева А.В.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж, e-mail: makeeva81@mail.ru

Приведены результаты сравнения уровня свободнорадикального окисления у людей, подвергающихся различным по времени и интенсивности воздействия факторам окружающей среды. Отмечено, что у людей, длительно работающих на электрометаллургическом комбинате, уровень свободнорадикального окисления превышает контрольные значения, а общая антиоксидантная активность снижается.

**Ключевые слова:** свободнорадикальное окисление, биохимиллюминесценция, диеновые конъюгаты, сыворотка крови

## THE LEVEL OF FREE RADICAL OXIDATION IN BLOOD SERUM OF THE PEOPLE EXPOSED TO INFLUENCE OF THE COMPLEX OF HARMFUL FACTORS OF ENVIRONMENT

Kubrikova J.V., Popova T.N., Makeeva A.V.

Voronezh State University, Voronezh, e-mail: makeeva81@mail.ru

Results of comparison of free radical oxidation level at the people exposed to influence of various on time and intensity environmental factors are given. It is noticed that at people, long working on electrometallurgical industrial complex level of free radical oxidation exceeds control values, and the general antioxidant activity decreases.

**Keywords:** free radical oxidation, bioluminescence, diene conjugates, blood serum, metallurgy

Одним из многочисленных контингентов, постоянно подвергающихся воздействию комплекса вредных факторов производственной среды, являются рабочие металлургических предприятий, у которых в течение многих лет сохраняются высокие уровни заболеваемости с временной утратой трудоспособности, что во многом связано с воздействием неблагоприятных факторов производства [1]. На предприятиях черной металлургии используются шихтовые материалы, легирующие и другие добавки огромного числа веществ, среди которых немало токсических и раздражающих (Se, Cr, Ni, V, Be). В черных рудах некоторых месторождений имеются примеси свинца, который при термической обработке испаряется, загрязняя воздушную среду на фабриках, в доменных и сталеплавильных цехах [2]. Человек в таких условиях испытывает воздействие экстремальных факторов среды, оказывающих неблагоприятное влияние на его общее состояние, самочувствие и работоспособность [6].

Для получения исчерпывающей информации о состоянии организма различных категорий лиц, занятых в сфере производственной деятельности, необходим комплексный подход, опирающийся на современные методы диагностики, особое место в котором отводится биохимическим методам исследования. Многочисленные работы последних десятилетий указывают на неоспоримую роль интенсивности свободнорадикального окисления (СО) биосубстратов в развитии

состояния дезадаптации и возникновения патологии, так как степень и характер тканевых повреждений, а также нарушение биохимических процессов зависят от выраженности окислительного стресса [4, 8]. В связи с этим целью данной работы явилось исследование параметров, отражающих уровень СО в сыворотке крови людей, подвергающихся воздействию комплекса вредных факторов окружающей среды.

### Материал и методы исследования

Объектом исследования служила сыворотка крови людей, проживающих в г. Старый Оскол – I группа (контроль) и людей, занятых на производстве Старооскольского электрометаллургического комбината, со стажем работы, не превышающем 5 лет – II группа, и рабочих со стажем работы более 5 лет – III группа. В группу контроля вошли практически здоровые лица, сопоставленные по полу и по возрасту с группой исследуемых, но не работающие на металлургическом предприятии. Средний возраст исследуемых лиц составил  $38 \pm 2$  года. Всем пациентам проводили стандартное клиническое обследование, общий и биохимический анализы крови. Биохимические исследования (аспартатаминотрансфераза (АсАТ), аланинаминотрансфераза (АлАТ), щелочная фосфатаза (ЩФ) и др.) проводили на биохимическом анализаторе с использованием соответствующих калибровочных и контрольных кривых. Забор крови у пациентов осуществляли из локтевой вены в утренние часы на базе клинической диагностической лаборатории городской больницы №2 г. Старый Оскол. Сыворотку крови отделяли методом дифференциального центрифугирования в течение 5 мин при 10 000 г. Оценку интенсивности свободнорадикальных процессов в сыворотке крови осуществляли методом  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемиллюминесценции на био-

хемиллюминометре БХЛ-007. Определяли следующие параметры биофлуоресценции: интенсивность максимальной вспышки хемиллюминесценции ( $I_{max}$ ), светосумму ( $S$ ) и тангенс угла наклона кинетической кривой ( $tg\alpha_2$ ). Для определения содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) был использован спектрофотометрический метод, основанный на том, что в ходе ПОЛ на стадии образования свободных радикалов в молекулах полиненасыщенных жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей. Это сопровождается появлением максимума в спектре поглощения при 233 нм [7]. Опыты проводили как минимум в 5-кратной биологической и 2-кратной аналитической повторностях. Данные обрабатывались с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали достоверными при  $p < 0,05$  [5].

В ходе работы использовали трис-НС1-буфер, ЭДТА («Reanal», Венгрия), остальные реактивы отечественного производства марки «хч» или «чда».

### Результаты исследования и их обсуждение

Исследования биохимических показателей крови пациентов II и III групп выявили увеличение активности щелочной фосфатазы на 21 и 26%, содержания сывороточного железа – 8 и 16%, ионов кальция – 21 и 29% соответственно по сравнению с контрольным уровнем (табл. 1). Активность аминотрансфераз в сыворотке крови рабочих сталеплавильных цехов Старооскольского электрометаллургического комбината находилась в пределах нормальных значений. Возрастание значений определенных биохимических показателей свидетельствует о сдвигах в метаболических процессах и возможном развитии состояний, характеризующихся нарушением гомеостаза организма в целом. Данное предположение подтверждают результаты изучения уровня СО в группах обследуемых лиц.

Таблица 1

Биохимические показатели в сыворотке крови обследованных групп лиц

Группа пациентов	АсАТ, Е/л	АлАТ, Е/л	Щелочная фосфатаза, Е/л	Сыв. железо, мкмоль/л	Кальций, ммоль/л
I	37,00* (1,39)	40,00* (1,56)	105,00* (4,23)	30,10* (1,17)	2,57* (0,11)
II	38,32 (1,53)	39,12 (1,55)	127,35 (5,09)	32,56 (1,32)	3,12 (0,11)
III	39,14 (1,57)	40,09 (1,79)	132,21 (5,29)	34,53 (1,38)	3,34 (0,13)

Примечание: \* – верхние границы нормы характерны для пациентов первой группы, в скобках указаны достоверные от контроля отличия (уровень значимости  $p < 0,05$ ).

Согласно проведенным исследованиям было обнаружено значительное изменение информативных показателей биофлуоресценции. В сыворотке крови людей II группы наблюдалось увеличение  $S$  и  $I_{max}$ , отражающих степень протекания СО биомолекул. Так, значение  $S$  во II группе пациентов увеличивалось в 1,5 раза, а  $I_{max}$  в 1,4 раза относительно контрольных значений. У лиц, которые испытывали более длительное воздействие негативных факторов среды (III группа), было выявлено возрастание  $S$  и  $I_{max}$  почти в 2,0 раза по сравнению с контролем. Наряду с этим показано, что у пациентов II группы величина  $tg\alpha_2$ , характеризующая антиоксидантный статус клеток, возрастала в 2,6 раза относительно I группы лиц (табл. 2). Это свидетельствует о том, что в ответ на интенсификацию СО начинают действовать компенсаторные механизмы, направленные на снижение уровня окислительного стресса в организме. Однако у лиц, занятых на производстве более продолжительное время, выявлено снижение общей антиоксидантной активности, что проявляется в уменьшении значения  $tg\alpha_2$  в 1,9 раза по сравнению с пациентами II группы.

При сравнении содержания ДК в крови исследуемых групп лиц было выявлено увеличение продуктов ПОЛ в 2,3 раза во II опытной группе относительно контрольных значений. Как известно, накопление в крови первичных продуктов ПОЛ наблюдается не из-за количественных изменений в содержании фосфолипидов плазмы крови, а вследствие интенсификации их СО [4]. Результатом инициации ПОЛ становится образование критических концентраций продуктов липопероксидации, которые токсичны для организма. Известно, что повышение уровня ПОЛ может приводить к нарушению проницаемости мембран с последующей инактивацией мембранно-ассоциированных ферментных систем, выходом лизосомальных гидролаз в цитозоль, что вызывает повреждение ДНК и другие существенные изменения в структуре и функциональном состоянии клетки [10]. Полученные результаты согласуются с данными литературы, которые указывают на наличие в сталеплавильных цехах многочисленных источников образования профессиональных вредностей: пыли, газообразных токсических веществ (триоксида железа, бензола, хлористого водорода, марганца, свинца, ртути, фенола, формальдегида, триоксида хрома, диоксида азота, оксида углерода и др.), лучистого и конвекционного тепла, шума, вибрации, электромагнитных и магнитных полей,

высокой тяжести и напряженности труда. Кроме того, увеличение уровня образования радикальных веществ, скорее всего, связано с величиной индивидуальных рисков профессиональных хронических заболеваний у лиц, занятых в металлургиче-

ской промышленности, а именно патологий органов дыхания – 27,4%; опорно-двигательного аппарата – 22,5%; вибрационной болезни – 9,2% и других заболеваний [9, 3], обусловленных длительностью воздействия факторов окружающей среды.

Таблица 2

Параметры биохемилюминесценции и содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови обследованных групп лиц

Группа пациентов	Параметры биохемилюминесценции			Уровень диеновых конъюгатов, мкмоль/л
	Светосумма медленной вспышки ( <i>S</i> ), <i>mV</i> ·с	Интенсивность максимальной вспышки ( <i>I<sub>max</sub></i> ), <i>mV</i>	Тангенс угла падения кинетической кривой ( <i>tgα</i> )	
I	13,01 ± 0,52	3,57 ± 0,14	0,864 ± 0,03	12,27 ± 0,49
II	19,76 ± 0,79*	4,89 ± 0,19*	2,243 ± 0,09*	18,93 ± 0,75*
III	25,51 ± 1,02*	6,04 ± 0,24*	1,147 ± 0,05*	27,73 ± 1,11*

Примечание: \* – отличия от контроля достоверны (уровень значимости  $p < 0,05$ ).

### Заключение

На основании результатов исследований можно сделать вывод, что уровень СО повышается в зависимости от характера и продолжительности воздействия негативных факторов окружающей среды. Это предположение подтверждается возрастанием параметров биохемилюминесценции и содержания ДК у лиц, занятых на производстве длительное время. Наряду с этим, наблюдалось истощение антиоксидантных резервов организма у пациентов II группы, что, вероятно, может быть связано с развитием и обострением хронических заболеваний под действием факторов рабочей среды.

### Список литературы

1. Абдуллин А.Г. Жизнедеятельность человека в экологически неблагоприятных условиях существования / А.Г. Абдуллин, Д.Г. Абдулина, И.А. Антипанова // Безопасность жизнедеятельности. – 2009. – № 7. – С. 5–9.
2. Гаврилов А.В. Оценка риска формирования патологии органов дыхания у промышленных рабочих / А.В. Гаврилов, И.Н. Федина, И.А. Журихина // Гигиена и санитария. – 2010. – № 1. – С. 67–68.
3. Захаренков В.В. Концептуальная модель комплексной оценки воздействия совокупности производственных факторов на здоровье работающих / В.В. Захаренков, А.М. Олещенко // Гигиена труда и профпатология: материалы XXXVIII научн.-практ. конф. – Новокузнецк, 2003. – С. 157–159.
4. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Лапкин,

Е.Б. Меньшикова. – М.: Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с.

5. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. — М.: Физматлит, 2006. — 816 с.

6. Матюхин В.А. Экологическая физиология человека и восстановительная медицина / В.А. Матюхин, А.Н. Разумов. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 336 с.

7. Методы оценки оксидативного статуса: учебно-методическое пособие для вузов / Т.И. Рахманова, Л.В. Матасова, А.В. Семенихина, О.А. Сафонова, А.В. Макеева, Т.Н. Попова. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2009. – 64 с.

8. Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса / Ю.А. Петрович, Д.В. Гуткин // Патол. физиология и экспериментальная терапия. – 1986. – № 5. – С. 85–92.

9. Профессиональный риск для здоровья работников: руководство / под ред. Н.Ф. Измерова, Э.И. Денисова. – М.: Тривант, 2003 – 448 с.

10. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 21–26.

### Рецензенты:

Яковлев В.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ГОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко», г. Воронеж;

Сухотерин В.Г., д.м.н., профессор, зам. директора по науке ГОУ СПО «Старооскольский медицинский колледж», г. Старый Оскол.

Работа поступила в редакцию 12.04.2011.