

ГІГІЄНА ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ

HYGIENE OF CHEMICAL FACTORS

<https://doi.org/10.32402/hygiene2024.74.057>

УДК 612.015.11:(612.1+612.35):[612.014.46:546.16]-08

**СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ
У ПРОЦЕСІ КОРЕКЦІЇ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ ФТОРУ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

Федоренко Ю.В.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна
e-mail: lnmu.fedorenko.v.i@gmail.com

Федоренко Ю.В. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8394-0326>

Мета. Дослідити динаміку змін показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові й тканині печінки за умов впливу фтору до та під час проведення біологічної корекції.

Об'єкт і методи дослідження. В експериментальних умовах проведено 4 серії дослідів на статевозрілих білих щурах лінії Wistar масою тіла 170-200 г, котрим щоденно упродовж 30 днів у шлунок вводили водні розчин натрію фториду (фтор) у дозі 10 мг/кг маси тіла окремо та на фоні послідовного додавання до їжі тварин біопротекторів. У I серії дослідів фтор вводили без біопротекторів, у II серії – на фоні пектину, у III – пектину і кальцію, у IV – комплексу пектину, кальцію та антиоксидантів – вітамінів С, Е, β-каротину, селену. Тваринам контрольних груп вводили питну воду і додавали до раціону відповідні біопротектори. У крові та тканині печінки визначали вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази, активність каталази, індекс антиоксидантої активності. За співвідношеннями показників активності антиоксидантного захисту та інтенсивності процесів ліпопероксидації розраховували інтегральний коефіцієнт, що характеризує антиоксидантний стан організму.

Результати дослідження та їх обговорення. Виявлено, що упродовж досліду рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів був підвищений: дієнових кон'югатів на 15 добу досліду у крові на 168%, у печінці – на 29,8%, на 30 добу у крові – на 36,2%, печінці – на 86,5%, малонового діальдегіду у крові у межах 25,0%-53,0%, у печінці 27,9%-41,7% відповідно проти контролю. Одночасно в обидва терміни спостереження підвищилася активність супероксиддисмутази у крові на 31,4%-46,0%, у тканині печінки на 35,2%-75,2%, активність каталази знижувалася більшою мірою у крові у межах 29,2%-51,4%, у тканині печінки від 24,1% до 28,2% проти контролю. Отримані результати свідчать про наростання оксидативного стресу в динаміці інтоксикації фтором, що підтверджується низькими значеннями інтегральних коефіцієнтів. Пектин практично не сприяв покращанню антиоксидантного захисту за умов тривалого надходження фтору. Додавання кальцію з пектином до раціону тварин значно покращило перебіг метаболічних процесів у системі перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист. У тканині печінки показники

ліпопероксидації реєструвалися на рівні контролю, У крові рівень дієнових кон'югатів залишився високим, малонового діальдегіду перевищував на 27,8% контрольні величини, антиоксидантний захист знижений. Ферментна ланка антиоксидантного захисту виявилася активнішою, ніж неферментна, індекс антиоксидантої активності нижчий на 31,7% проти контролю. Іони кальцію зв'язують іони фтору з утворенням у травному каналі важкорозчинної сполуки кальцію фториду, що гальмує абсорбцію фтору в кишках і надходження фтору у кров. Кальцію фторид завдяки пектину може виводитися з організму. Активація механізмів захисту стрес-лімітувальної антиоксидантної системи відбувалася завдяки застосуванню вітамінів С, Е, β-каротину і селену. Антиоксидантний захист активніший у тканині печінки, ніж у крові. Комплекс біопротекторів усуває дисбаланс між ліпопероксидацією й антиоксидантним захистом у крові й тканині печінки та покращує їхній метаболічний статус

Висновки. Натрію фторид спричинив оксидативний стрес у піддослідних тварин. Додавання до раціону лабораторних тварин одночасно пектину, кальцію, вітамінів С, Е, β-каротину і селену активує метаболічні процеси, налагоджує рівновагу в системі перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист крові та тканини печінки і може застосовуватися для корекції антиоксидантного захисту за умов негативного впливу фтору.

Ключові слова. Натрію фторид, кров, тканина печінки, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, каталаза, біопротектори.

STATE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN BLOOD AND LIVER IN THE PROCESS OF CORRECTING THE NEGATIVE EFFECTS OF FLUORIDE (EXPERIMENTAL STUDIES)

Yu.V. Fedorenko

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Objective. To investigate the dynamics of changes in lipid peroxidation and antioxidant defense in blood and liver tissue under conditions of fluoride exposure before and during biological correction.

Materials and methods. In the experimental conditions, 4 series of experiments were conducted on mature white Wistar rats weighing 170-200 g, which were administered an aqueous solution of sodium fluoride at a dose of 10 mg/kg of body weight daily for 30 days, separately and with consistent addition of bioprotectors to the animals' food. In the first series of experiments, fluoride was administered without bioprotectors, in the second series – with pectin, in the third – pectin and calcium, in the fourth – a complex of pectin, calcium and antioxidants – vitamins C, E, β-carotene, selenium. Animals in the control groups were given drinking water and supplemented with appropriate bioprotectors. The content of diene conjugates, malondialdehyde, superoxide dismutase activity, catalase activity, and antioxidant activity index were determined in blood and liver tissue. The integral coefficient characterizing the antioxidant state of the organism was calculated based on the ratios of the activity of antioxidant defense and the intensity of lipid peroxidation processes.

Results. It was found that during the experiment, the level of lipid peroxidation products was increased: diene conjugates in the blood by 168% on day 15 of the experiment, in the liver by 29.8%, on day 30 – in the blood by 36.2%, in the liver by 86.5%, malondialdehyde in the blood by 25.0%-53.0%, in the liver by 27.9%-41.7%, respectively, compared to the control group. Meanwhile, in both periods of observation, the activity of superoxide dismutase increased in the blood by 31.4%-46.0%, in liver tissue by 35.2%-75.2%, catalase activity decreased to a greater extent in the blood by 29.2%-51.4%, in liver tissue by 24.1% to 28.2% compared to the control

group. The obtained results indicate an increase in oxidative stress in the dynamics of fluoride intoxication, which is confirmed by the low values of the integral coefficients. Pectin practically did not contribute to the improvement of antioxidant defense under conditions of prolonged fluoride intake. The addition of calcium with pectin to the diet of animals significantly improved the course of metabolic processes in the lipid peroxidation-antioxidant defense system. In the liver tissue, lipid peroxidation indicators were recorded at the control level, while in the blood the level of diene conjugates remained high, malondialdehyde exceeded the control values by 27.8%, and antioxidant defense was low. The enzymatic link of antioxidant defense was more active than the non-enzymatic link, with an antioxidant activity index lower by 31.7% compared to the control group. Calcium ions bind fluoride ions to form a hardly soluble calcium fluoride compound in the digestive tract, which inhibits fluoride absorption in the intestines and fluoride intake in the blood. Thanks to pectin, calcium fluoride can be excreted from the body. The addition of antioxidants to the diet of animals normalized the studied indicators of lipid peroxidation and the activity of superoxide dismutase and catalase in liver tissue, the integral coefficients were also almost at or close to the control level. Antioxidant defense is more active in liver tissue than in blood.

Conclusions. Sodium fluoride caused oxidative stress in the test animals. The addition of pectin, calcium, vitamins C, E, β -carotene and selenium to the diet of the laboratory animals simultaneously activates metabolic processes, establishes a balance in the lipid peroxidation system - antioxidant defense of blood and liver tissue and can be used to correct antioxidant defense under conditions of negative fluoride exposure.

Keywords. Sodium fluoride, blood, liver tissue, conjugated dienes, malondialdehyde, superoxide dismutase, catalase, bioprotectors.

Фтор належить до групи галогенів, характеризується високою реакційною здатністю, у природних умовах розповсюджений у вигляді сполук, зокрема флюориту, кріоліту, фторапатиту тощо, є одним із найпоширеніших елементів у земній корі, міститься у всіх об'єктах навколишнього середовища (вода, повітря, ґрунт), у харчових продуктах, тканинах тварин і людей. Вміст фтору у ґрунті та воді залежить від біохімічних особливостей місцевості й надходження фтору внаслідок антропогенної діяльності людини [1-3]. Біохімічні регіони з підвищеним вмістом фтору у ґрунті і воді є в усіх країнах світу [2,4]. На території України концентрація фтору в ґрунті найменша у Західному регіоні і збільшується у напрямку Південно-східних областей [4,5]. Фтор широко використовується у промисловості, сільському господарстві, медицині. В організм людини надходить в основному з їжею і водою [2,6], у забруднених промислових регіонах та виробничих умовах фтор головно надходить з повітрям. Додатковими джерелами надходження є фторовані зубні пастки, гелі для лікування зубів, побутові аерозолі, фармацевтичні препарати. [2]. Фтор – умовно есенціальний мікроелемент, виконує фізіологічну роль в організмі: має пластичну функцію, біокатализатор процесів мінералізації твердих тканин, може регулювати процеси імуногенезу, диференціювання клітин тимуса, ендокринних залоз, стимулює розвиток колагену, кісткової і хрящової тканини. Межа між безпечною і токсичною дією фтору вузька. Добова потреба фтору для людини залежить від віку: для дітей у середньому 1,2 мг/день, для дорослих чоловіків – 4,2 мг/день, для жінок – 3,6 мг/день. [6]. Надходження в організм фтору у кількості, що перевищує безпечну дозу, викликає широкий спектр негативних ефектів в організмі, уражає практично всі системи й органи [2,7-9], зокрема має нейротоксичну, цитоплазматичну дію, впливає на репродуктивну систему [8,10,11], призводить до флюорозу зубів і кістяка. Основна токсична дія фтору в клітинах полягає у його взаємодії з ферментами. Здебільшого фтор (фторид) гальмує активність ферментів, але іони фтору іноді можуть стимулювати їхню активність. Механізми залежать від типу ферменту. Фтор може взаємодіяти з широким спектром клітинних процесів (експресія генів, клітинний цикл, проліферація, міграція, дихання, метаболізм, транспорт іонів, секреція, ендоцитоз, апоптоз/некроз), іони фтору індукують процеси вільнорадикального окиснення ліпідів, котрі уражують мембрани клітин, пригнічують активність антиоксидантних ферментів [6,11,12].

Автори [13] вважають, що основний механізм патогенезу флюорозу полягає у розвитку оксидативного стресу унаслідок надмірної генерації та накопичення активних форм кисню і відповідно змінених рівнів ендогенних антиоксидантів, клітинного окисно-відновного гомеостазу. Одним із шляхів зменшення хімічної небезпеки на організм, зокрема і фтору, є медико-біологічна профілактика (корекція) порушень змін за допомогою фізіологічно прийнятних, нешкідливих та ефективних засобів [14]. Відомо, що вживання кальцію сприяє зменшенню токсичної дії фтору [15,16] бутират натрію покращує метаболічні процеси за умов флюорозу [17], антиоксиданти підвищують захисну роль прооксидантно-антиоксидантної системи [18]. Антиоксиданти гальмують або усувають вільнорадикальне окиснення, запобігають токсичній дії кисню, перетворюють гідропероксиди на стабільні сполуки, знижують активність проокиснювальних ферментів, захищають біологічні структури від дії токсичних продуктів, що утворилася в надмірній кількості у процесі ліпопероксидації. До антиоксидантів належать різні сполуки з різними механізмами дії, активністю тощо. Протидіють інтенсивності вільних радикалів ензиматичні ферменти, зокрема супероксиддисмутази, каталаза, пероксидаза, а також неензиматичні антиоксиданти, до яких належать флавоноїди, вітаміни А, Е, С, РР, каротиноїди, мікроелементи цинк, селен, мідь тощо [18,19].

Мета роботи – дослідити динаміку змін показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові й тканині печінки за умов тривалого впливу фтору до та під час проведення біологічної корекції.

Об'єкт і методи дослідження. В експериментальних умовах проведено 4 серії дослідів на статевозрілих білих щурах лінії Wistar масою тіла 170-200 г, котрим щоденно упродовж 30 днів у шлунок вводили розчин натрію фториду (далі фтор) у дозі 10 мг/кг маси тіла окремо та на фоні послідовного додавання до їжі тварин біопротекторів. У I серії дослідів фтор вводили без біопротекторів, у II серії – на фоні пектину, у III – пектину і кальцію, у IV – комплексу пектину, кальцію та антиоксидантів – вітамінів С і Е, β-каротину, селену. Біопротектори додавали до стандартного раціону, який отримували тварини у віварії: яблучний пектин 1 г/кг маси тіла тварин, офіційний глюконат кальцію (порошок) - 225 мг кальцію на кг маси тіла, антиоксиданти у дозах на кг маси тіла – вітамін С – 100 мг, β-каротин – 10 мг, вітамін Е – 40 мг, селен – 50 мкг (складу 1 капсули препарату тріовіту). Тваринам контрольних груп вводили питну воду, а також додавали до раціону відповідні обрані біопротектори. Лабораторні тварини утримувалися за стандартних умов віварію з вільним доступом до питної води. На 15 і 30 добу дослідів (I і II серії дослідів) та 30 добу (III і IV серії дослідів) у крові та тканині печінки спектрофотометричним методом визначали вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази і каталази [20]. Індекс загальної антиоксидантної активності I_{AOA} визначали за співвідношенням накопичення малонового діальдегіду при активації ПОЛ у різних розведеннях досліджуваного субстрату [21].

Інтегральну оцінку антиоксидантного стану організму проводили за значеннями коефіцієнтів, отриманих за співвідношеннями показників активності антиоксидантного захисту та інтенсивності процесів ліпопероксидації: K_1 і K_2 , K_3 і K_{3ct} (K_{3ct} – коефіцієнт стандартизований за I_{AOA}).

$$K_1 = \text{СОД} / \text{МДА} \text{ і } K_2 = \text{СОД} \cdot \text{КТЛ} / \text{МДА};$$

$$K_3 = [(\text{СОД}_d / \text{СОД}_k) \cdot (\text{КТЛ}_d / \text{КТЛ}_k)] : [(\text{ДК}_d / \text{ДК}_k) \cdot (\text{МДА}_d / \text{МДК}_k)];$$

$$K_{3ct} = [(\text{СОД}_d / \text{СОД}_k) \cdot (\text{КТЛ}_d / \text{КТЛ}_k) \cdot (I_{AOAd} / I_{AOAk})] : [(\text{ДК}_d / \text{ДК}_k) \cdot (\text{МДА}_d / \text{МДК}_k)],$$

де: СОД – активність супероксиддисмутази, КТЛ – активність каталази, ДК – вміст дієнових кон'югатів, МДА – вміст малонового діальдегіду, I_{AOA} – значення індексу загальної антиоксидантної активності, індекс d – показник групи тварин, що отримували фтор, індекс k – контрольної групи.

Значення K_1 і K_2 порівнювали відповідно в інтактних тварин і тварин, які отримували фтор. Контрольна величина K_3 і $K_{3\text{ст}}$ дорівнює 1, що характеризує баланс між показниками перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту (ПОЛ-АОЗ). Під час експериментальних досліджень дотримувалися вимог біоетики Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986), положень директиви 2010/63/EU Європейського союзу про захист тварин, яких використовують для наукових цілей та рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№3447-IV, 2006). Отримані результати опрацьовували методом найменших квадратів, визначали середні арифметичні значення показників (M) та їхні середні похибки (m), ступінь вірогідності відмінностей між показниками контрольної і дослідної групи визначали за t -критерієм Ст'юдента. Відмінності вважалися вірогідними за умов значення $p < 0,05$ [22]. Отримані результати представлені в табличній формі у вигляді $M \pm m$. Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили за допомогою програми Microsoft Excel 9.

Результати дослідження та їх обговорення. Натрію фторид призводить до порушення рівноваги між про- та антиоксидантними механізмами регуляції метаболічних процесів у крові й тканині печінки (табл. 1,2). На 15 добу досліду внаслідок уведення фтору підвищилася концентрація ДК і МДА в досліджуваних тканинах. Концентрація ДК у крові підвищилася на 168%, тобто зросла у 2,7 раза проти контролю і була значно вищою, ніж у тканині печінки. Рівень МДА у крові зріс на 25%, у тканині печінки – на 27,9% проти показників у контрольній групі тварин. Одночасно підвищилася активність СОД – на 31,4% у крові, на 35,2% у тканині печінки, активність каталази знизилася у тканинах у межах 24,0%-29,2% проти контролю.

Таблиця 1. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантного захисту ($M \pm m$) у крові та тканині печінки білих щурів за умов дії фтору упродовж 15 діб.

Показники	Кров		Печінка	
	Контроль	NaF	Контроль	NaF
Дієнові кон'югати, од. Е/мл (кров), од. Е/г (печінка)	1,28±0,04	3,43±0,25*	12,33±0,76	16,00±0,73*
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	112,8±4,8	138,8±6,1*	1194,2±47,2	1527,0±51,4*
I _{АОА} , відн. од.	1,33±0,04	1,05±0,05	2,10±0,03	1,03±0,054*
Супероксиддисмутаза, од. акт./мл·хв (кров), од. акт./г·хв (печінка)	521,1±7,2	684,7±10,4	691,1±30,2	934,3±34,9*
Каталаза, мкмольН ₂ О ₂ /мл·год (кров), мкмольН ₂ О ₂ /г·год (печінка)	82,6±2,3	58,5±2,3*	87,1±2,9	66,2±3,6*

Примітка. *- вірогідно відносно контролю ($P < 0,05$).

Тривале надходження фтору призвело до приросту продуктів ліпопероксидації на 30 добу досліду. Рівень ДК підвищився у крові на 36,2%, у тканині печінки значно вище – на 86,5%, проти контролю, МДА – у крові і тканині печінки на 53,0% та 41,7% відповідно. Виявлено, що рівні показників вищі, ніж за попереднього терміну спостереження. Концентрація ДК у крові порівняно з 15 добою досліду знизилася, але залишалася підвищеною проти контролю. Активність СОД підвищилася в обох тканинах порівняно з

15 добою досліду та проти контролю у крові на 46% і тканині печінки на 75,2%. Активність каталази пригнічувалася, більшою мірою у крові – на 51,4% проти контролю. Отримані результати свідчать про наростання оксидативного стресу в динаміці інтоксикації фтором.

Таблиця 2. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантного захисту ($M \pm m$) у крові та тканині печінки білих щурів за умов дії фтору упродовж 30 діб.

Показники	Кров		Печінка	
	Контроль	NaF	Контроль	NaF
Дієнові кон'югати, од. Е/мл (кров), од. Е /г (печінка)	1,30±0,05	1,77±0,13*	12,33±0,76	23,0±0,71*
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	110,6±1,5	169,2±6,4*	1194,2±47,2	1692,3±41,0*
I _{АОА} , відн. од.	1,29±0,06	0,85±0,02*	2,10±0,03	1,37±0,08*
Супероксиддисмутаза, од.акт./мл·хв (кров) од.акт./мл·хв (печінка)	503,3±16,9	734,8±17,8*	691,1±30,2	1210,5±78,1*
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мл·год (кров) мкмольH ₂ O ₂ /г·год (печінка)	90,4±7,9	43,9±1,2*	87,1±2,9	62,5±5,4*

Примітка. * - вірогідно відносно контролю ($P < 0,05$).

Активация вільнорадикального окиснення і ліпідної пероксидації є незмінним компонентом клітинної відповіді на дію стресорів. Це стосується і токсичної дії хімічно активного іону фтору, який індукує утворення активних форм кисню – супероксид-аніону, перекису водню, пероксинітриту, гідроксильного радикалу, оксиду азоту. Їхнє надмірне утворення змінює окисно-відновний гомеостаз, пригнічує активність антиоксидантних ферментів – СОД, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, знижує рівень неензимних антиоксидантів, зокрема вітамінів А, Е, С [13]. Отримані нами результати досліджень щодо підвищення концентрації продуктів ліпопероксидації у тканинах, зокрема й печінці, з одночасним зниженням активності ендogenous антиоксидантних ферментів за умов впливу фтору збігаються з дослідженнями інших авторів [11-13,23]. Підвищення активності СОД загалом можна розглядати як захисну реакцію, що скерована на стабілізацію клітинних структур, сповільнення процесів ПОЛ і відповідно активацію адаптаційного процесу. Проте підвищення активності СОД без активації каталази вважається цитотоксичним процесом внаслідок підвищення генерації активних форм кисню [24]. На фоні приросту продуктів ПОЛ активність СОД у тканинах була підвищеною, а каталази зниженою, що свідчить про зростання утворення активних форм кисню. Оскільки активність каталази знижена, вона не спроможна повністю відновлювати пероксид водню до води і молекулярного кисню, у зв'язку з чим можуть утворюватися гіпероксидні радикали. Антиоксидантна система за умов дії фтору неспроможна утримувати баланс між процесами ліпопероксидації і антиоксидантним захистом.

Стан активності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та нейтралізації їх пошкоджувального ефекту визначає про- та антиоксидантна рівновага, яка є важливим механізмом інтенсивності метаболічних процесів і одним з показників гомеостазу. Тому для оцінки стану і рівноваги в системі ПОЛ-АОЗ ми використали значення інтегральних коефіцієнтів. За умов впливу фтору інформативними виявилися коефіцієнти K_2 , K_3 , $K_{3ст}$, які нижчі, ніж контрольні величини, і відображають зростання оксидативного стресу до 30 доби

дослідів. Найінформативніший коефіцієнт $K_{3ст}$, який ураховує $I_{АОА}$. Для крові коефіцієнт $K_{3ст}$ становив на 15 і 30 доби дослідів 0,22, для тканини печінки – 0,31 (табл. 3). Отримані значення коефіцієнтів свідчать про значний стійкий дисбаланс у системі ПОЛ-АОЗ досліджуваних тканин, але більшою мірою – у крові. Про зниження антиоксидантного захисту, зокрема і неферментної компоненти свідчить зниження $I_{АОА}$. Для крові він становить на 15 добу дослідів 78,9%, на 30 добу – 65,9%, для тканини печінки 49,0% і 65,2% відповідно проти 100% контролю.

Таблиця 3. Значення інтегральних коефіцієнтів, що характеризують стан системи ПОЛ-АОЗ за умов дії фтору.

Тканини і термін	Величини коефіцієнтів					
	$K_{1к}$	$K_{1д}$	$K_{2к}$	$K_{2д}$	K_3	$K_{3ст}$
Кров						
15 доба	4,62	4,93	381,6	288,4	0,28	0,22
30 доба	4,55	4,34	411,4	190,5	0,34	0,22
Печінка						
15 доба	0,58	0,61	50,5	40,4	0,60	0,31
30 доба	0,58	0,71	50,5	44,4	0,47	0,31

- Примітки: 1. $K_{1к}$, $K_{2к}$ – інтактні тварини;
 2. $K_{1д}$, $K_{2д}$ – тварини, що отримували фтор;
 3. $K_{3ст}$ (стандартизований з урахуванням $I_{АОА}$).

Уживання пектину дещо знизило на 15 добу дослідів концентрацію ДК і МДА у крові і не змінило їхню концентрацію у тканині печінки. Активність СОД залишалася підвищеною у тканинах у межах 22,4%–31,7% проти відповідного контролю, активність каталази залишалася зниженою. Дія фтору упродовж 30 діб на фоні споживання пектину спричинила аналогічні зміни ДК і МДА, що й без його споживання. Активність СОД залишалася підвищеною на 69,9%. Про зниження антиоксидантного захисту свідчить знижений $I_{АОА}$: для крові він становить 76%, для тканини печінки 59,0% від контролю, а також величина $K_{3ст}$ – для крові – 0,26, для тканини печінки – 0,35. Отже, пектин практично не сприяв покращанню процесів у системі ПОЛ-АОЗ за умов тривалого надходження фтору.

Додавання кальцію з пектином до раціону тварин значно покращило перебіг метаболічних процесів у системі ПОЛ-АОЗ (табл. 4).

У тканині печінки концентрації ДК і МДА знаходилися на межі контролю, хоча антиоксидантна функція була ще зниженою. Активність СОД знижувалася на 15,7%, активність каталази знаходилася на рівні контролю. Ферментна ланка антиоксидантного захисту виявилася активнішою, ніж неферментна, котра була загальмованою, про що свідчить зниження значення $I_{АОА}$ на 31,7% проти контролю. У крові рівень ДК залишився високим, МДА перевищував на 27,8% контрольні величини. Незважаючи на практично контрольні значення активності в крові СОД і каталази, антиоксидантний захист залишався зниженим, адже нормальною фізіологічною адаптивною реакцією за умов зростання продуктів ПОЛ вважається підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту. Інтегральні коефіцієнти, особливо $K_{3ст}$, були низькими і дорівнювали для тканини печінки 0,52, для крові 0,47, проте все ж таки зросли в порівнянні з попередніми значеннями, отриманими у II серії дослідів. Така закономірність перебігу метаболічних процесів є зрозумілою, ураховуючи механізм дії фтору на кальцієвий обмін. Іони кальцію зв'язують іони фтору з утворенням у травному каналі малотоксичної і важкорозчинної сполуки кальцію фториду, що гальмує абсорбцію фтору в кишках і надходження фтору у кров. Поряд з цим кальцій конкурує з фтором у процесі утворення апатитів: кальцій бере участь в

утворенні гідроксилапатиту, фтор – фторапатиту, який сприяє розвитку остеосклеротичних утворень [25]. Імовірно кальцію фторид завдяки пектину може виводитися з організму.

Таблиця 4. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантного захисту ($M \pm m$) у крові та тканині печінки білих щурів за умов дії фтору упродовж 30 діб на фоні додавання пектину і кальцію до раціону.

Показники	Кров		Печінка	
	Контроль	NaF+біопротектори	Контроль	NaF+біопротектори
Дієнові кон'югати, од. Е/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	1,32±0,06	2,21±0,06 ^a	13,20±0,38	14,33±0,49
I _{АОА} , відн. од.	1,52±0,06	1,62±0,08	2,08±0,06	1,42±0,09 ^a
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	110,4±5,3	141,1±7,4 ^a	1213,6±65,3	1119,1±31,3
Супероксиддисмутаза, од.акт./мл·хв (кров) од.акт./г·хв (печінка)	537,4±19,4	493,1±30,4	727,4±24,4	613,5±50,5
Каталаза, мкмоль Н ₂ О ₂ /мл·год (кров) мкмоль Н ₂ О ₂ /г ·год (печінка)	89,9±4,2	93,1±2,3	107,2±4,8	96,6±1,6

Примітка. * – вірогідно стосовно контролю ($P < 0,05$).

Додавання до раціону тварин антиоксидантів нормалізувало досліджувані показники ПОЛ та активність СОД і каталази у тканині печінки, інтегральні коефіцієнти теж знаходилися практично на рівні контролю або близько до них (табл.5). У крові концентрація МДА не перевищувала контрольні рівні, проте вміст ДК залишався підвищеним на 58,8% проти контролю. Активність СОД на 17% була вищою щодо контролю, каталази знаходилася в межах контрольних величин. Поряд з цим антиоксидантну функцію крові слід вважати ще недостатньою, оскільки за співвідношенням отриманих параметрів ПОЛ і АОЗ значення інтегральних коефіцієнтів K_3 і $K_{3ст}$ знаходилися на рівні 0,68 і 0,78. Імовірно тому, що антиоксидантна функція тканини печінки є дещо вищою, ніж у крові, й активність СОД є вищою у тканині печінки, до того ж антиоксидантна функція печінки може також впливати на активацію перебігу метаболічних процесів. Але, незважаючи, що не всі показники за даних умов досліду досягли контрольних величин, антиоксиданти з пектином і кальцієм виявили захисну роль у виникненні окисного стресу під час довготривалого щоденного надходження токсичних доз фтору. Інтегральну оцінку антиоксидантного стану організму у процесі поетапної корекції негативного впливу фтору ілюструють величини $K_{3ст}$: у крові – без біопротекторів – 0,22, з пектином – 0,26, з пектином і кальцієм – 0,47, з пектином, кальцієм і антиоксидантами – 0,78, у тканині печінки – 0,31; 0,35; 0,52 і 0,90 відповідно. Активація механізмів адаптаційного захисту стрес-лімітувальної антиоксидантної системи відбувалася завдяки застосуванню вітамінів С, Е, β-каротину і селену. Аскорбінова кислота належить до фізіологічних водорозчинних антиоксидантів, захищає гідрофільні структури клітин від радикального пошкодження, має здатність блокувати практично всі активні кисневі метаболіти та ліпідні радикали. Токоферол безпосередньо взаємодіє з пероксидними радикалами ліпідів і вільними радикалами, відновлюючи їх до гідроперексидів, гальмує утворення перексидів ліпідів у клітинних мембранах, зберігає та стабілізує їхню функціональну активність, підвищує стійкість до вільнорадикального окиснення. β-каротин

захищає гідрофобні мембранні структури від пошкоджень активними формами кисню, зокрема при його дії синглетний кисень перетворюється у стабільнішу та менше агресивну форму, регулює мікросомальне окиснення. Роль селену як антиоксиданта пояснюється тим, що селен входить до складу активного центру ферменту глутатіонпероксидази, який руйнує перекис водню, органічні, у тому числі і ліпідні пероксиди. Селен у складі тріовіту знаходиться у вигляді комплексу з біолігандами (комплекс з дріжджами), що добре засвоюється, на відміну від синтетичних форм, зокрема натрію селеніту [18,19,24] Отже, комплекс біопротекторів усуває дисбаланс між ПОЛ і АОЗ у крові й тканині печінки та покращує їхній метаболічний статус і може застосовуватися для корекції порушення співвідношення активності процесів у про- та антиоксидантній системі за фтористої інтоксикації.

Таблиця 5. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантного захисту ($M \pm m$) у крові та тканині печінки білих щурів за умов дії фтору упродовж 30 діб на фоні додавання пектину, кальцію та антиоксидантів до раціону.

Показники	Кров		Печінка	
	Контроль	NaF+біопротектори	Контроль	NaF+біопротектори
Дієнові кон'югати, од. Е/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	1,31±0,05	2,08±0,24*	13,10±0,35	13,60±0,55
I _{АОА} , відн. од.	1,42±0,07	1,63±0,12	2,40±0,12	2,13±0,18
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл (кров), мкмоль/г (печінка)	108,9±5,1	118,7 ± 7,6	1195,0±22,9	1107,3±71,4
Супероксиддисмутаза, од.акт./мл·хв (кров) од.акт./г·хв (печінка)	513,1±12,0	601,3±37,5*	773,1±29,0	715,5±35,5
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мл·год (кров) мкмоль H ₂ O ₂ /г·год (печінка)	79,1±4,1	79,3±3,5	103,1±6,0	96,9±4,15

Примітка. * – вірогідно стосовно контролю ($P < 0,05$).

Висновки

1. Пероральне надходження в організм білих щурів натрію фториду в дозі 10 мг/кг маси тіла порушує дисбаланс між показниками ліпопероксидації та антиоксидантного захисту, викликає оксидативний стрес, котрий зростає в динаміці фторидної інтоксикації до 30 доби дослідів.
2. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту характеризують інтегральні коефіцієнти. Зниження інтегральних коефіцієнтів у динаміці свідчить про наростання оксидативного стресу.
3. Додавання до раціону лабораторних тварин, які отримували натрію фторид, одночасно пектину, кальцію, вітамінів С, Е, β-каротину і селену активує метаболічні процеси, підвищує активність антиоксидантного захисту, налагоджує рівновагу в системі перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист крові та тканини печінки. Антиоксидантний захист активніший у тканині печінки, ніж у крові.
4. Комплекс біопротекторів пектину, кальцію, вітамінів С і Е, β-каротину і селену може застосовуватися для корекції порушення співвідношення активності процесів у про- та антиоксидантній системі за умов негативного впливу фтору.

Внески авторів:

Федоренко Ю.В. – концептуалізація, методологія, дослідження, аналіз результатів, написання тексту.

Фінансування. Дослідження не має зовнішніх джерел фінансування.

Конфлікт інтересів. Відсутній.

REFERENCES

1. Environmental Health Criteria. 36. Fluorine and Fluorides. Geneva: WHO, 1984. 99 p. Available from: <https://wedocs.unep.org/handle/20.500.11822/29338?show=full>
2. Environmental health criteria. 227. Fluorides. Geneva: WHO, 2002. 268 p. Available from: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42415/WHO_EHC_227.pdf?sequence=1&isAllowed=y
3. Trigub V. [History of research of fluorine]. Visnyk of the Lviv University. Series Geography. 2013;44:372-8. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.30970/vgg.2013.44.1245>
4. Rudko HI, Matsiievska OO. [Distribution of fluoride in natural waters]. 2010;171-9. Ukrainian. Available from: <https://ena.lpnu.ua:8443/server/api/core/bitstreams/6a1f501c-cd3b-482c-b89c-9c2e9bc080a6/content>
5. Nejko YeM, Rudko HI, Smolyar NI. [Medical-geoecological analysis of the state of the environment as a tool for assessing and controlling population health]. Ivano-Frankivs`k: Ekor. 2001. 350 p. Ukrainian.
6. Lubojanski A, Piesiak-Panczyszyn D, Zakrzewski W, Dobrzynski W, Szymonowicz M, Rybak Z, et al. The Safety of Fluoride Compounds and Their Effect on the Human Body – A Narrative Review. Materials (Basel). 2023;16(3):1242. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36770248/> doi: <https://doi.org/10.3390/ma16031242>
7. Dhar V, Bhatnagar M. Physiology and toxicity of fluoride. Indian J Dent Res. 2009;20(3):350-5. doi: <https://doi.org/10.4103/0970-9290.57379>
8. Guth S, Hüser S, Roth A, Degen G, Diel P, Edlund K, et al. Toxicity of fluoride: critical evaluation of evidence for human developmental neurotoxicity in epidemiological studies, animal experiments and in vitro analyses. Arch Toxicol. 2020;94(5):1375-415. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32382957> doi: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02725-2>
9. Perera T, Ranasinghe S, Alles N, Waduge R. Effect of fluoride on major organs with the different time of exposure in rats. Environ Health Prev Med. 2018;23(1):17. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5956923/pdf/12199_2018_Article_707.pdf doi: <https://doi.org/10.1186/s12199-018-0707-2>
10. Choi AL, Sun G, Zhang Y, Grandjean P. Developmental fluoride neurotoxicity: a systematic review and meta-analysis. Environ Health Perspect. 2012;120(10):1362-8. doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.1104912>
11. Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. Chem Biol Interact. 2010;188(2):319-33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20650267/> doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.07.011>
12. Shanthakumari D, Srinivasalu S, Subramanian S. Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rats. Toxicology. 2004;204(2-3):219-28. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.06.058>
13. Babu S, Manoharan S, Ottappilakkil H, Perumal E. Role of oxidative stress-mediated cell death and signaling pathways in experimental fluorosis. Chemico-Biological Interactions. 2022;365:106-10. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110106>

14. Grzehotskyi MR. [A conceptual model of preventive medicine from the viewpoint of human physiology (review of literature and own research)]. *Zhurnal AMN Ukrayiny*. 2003;9(2):312-24. Ukrainian.
15. Heard K, Hill RE, Cairns CB, Dart RC. Calcium neutralizes fluoride bioavailability in a lethal model of fluoride poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2001;39(4):349-53.
doi: <https://doi.org/10.1081/CLT-100105154>
16. Kao WF, Deng JF, Chiang SC, Heard K, Yen DH, Lu MC, et al. A simple, safe, and efficient way to treat severe fluoride poisoning – oral calcium or magnesium. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004;42(1):33-40.
doi: <https://doi.org/10.1081/CLT-120028742>
17. Li Y, Yang F, Liu J, Jiang M, Yu Y, Zhou Q, et al. Protective effects of sodium butyrate on fluorosis in rats by regulating bone homeostasis and serum metabolism, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2024;276:116284.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116284>
18. Reznikov OH, Polumbryk OM, Balion YH, Polumbryk MO. [Pro- and antioxidant systems and pathological processes in humans]. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr*. 2014;10:7-29. Ukrainian.
doi: <https://doi.org/10.15407/visn2014.10.017>
19. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials (Basel)*. 2021;14(15):4135.
doi: <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
20. [Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations]. Stefanov OV, editor. Kyiv: Avicenna; 2001. 527 p. Ukrainian
21. Fedorenko YuV. [Processes of lipid peroxidation and antioxidant protection in blood and liver under lead exposure and their correction in experimental studies]. *Hygiene of Populated Places*. 2023;73:59-67. Ukrainian.
doi: <https://doi.org/10.32402/hygiene2023.73.059>
22. Antomonov MYu, Korobeinikov HV, Khmelnytska IV, Kharkovliuk-Balakina NV. [Mathematical methods of processing and modeling the results of experimental studies]. Kyiv: Olimpiiska literatura. 2021. 216 p. Ukrainian.
23. Kostenko AG, Mishchenko AV. [Changes in the activity of antioxidant protection and lipid peroxidation processes in the tissues of the small intestine and liver during fluoride intoxication and radiation]. *The Odesa Medical Journal*. 2000;6:13-5. Ukrainian. Available from: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/1632>
24. Belenichev IF, Levitsky EL, Gubsky UI, Kovalenko SI, Marchenko OM. [Antioxidant system of protection organism (review)]. *Ukrainian Journal of Modern Toxicological Aspects*. 2002;3:24-31. Ukrainian. Available from: http://medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2002/02_3_3.htm
25. Makarenko OA, Levytskyi AP, Khodakov IV, Zelenina YuV, Dienha OV, Gorokhivskyi VN. [Effect of calcium citrate on the course of acute fluoride intoxication in rats]. *The Odesa Medical Journal*. 2003;6:20-3. Ukrainian. Available from: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/issue/view/2/2>

Надійшла до редакції / Received: 18.08.2024