МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ
МЕДИЦИНИ ТРАНСПОРТУ

На правах рукопису

СІМЕЦЬКА
Світлана Олегівна

ГІГІЄНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СТАНУ АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ОБГРУНТУВАННЯ БЕЗПЕЧНИХ РІВНІВ ДИФЕНОЛІВ У ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ

14.00.07 - Гігієна

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Одеса - 1994 рік

ЛННБ України ім.В.Стефаника
00756108 (R)

Ав 31.180

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Одеському науково-дослідному інституті медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор медичних наук,
професор Шафран Леонід Мойсійович

Офіційни опоненти: доктор біологічних наук,
професор Мордашко Олексій Олексійович
доктор медичних наук Нагорний Петро Акимович

Провідна організація - Київський інститут медицини праці МОЗ та АН України

Захист відбудеться "__" _____ 1994 року на засіданні спеціалізованої вченої ради К 074.22.01 Одеського науково-дослідного інституту медицини транспорту МОЗ України (270039, м. Одеса, вул. Свердлова, 92)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського науково-дослідного інституту медицини транспорту (270039, м. Одеса, вул. Свердлова, 92).

Автореферат розісланий "__"_____ 1994 р.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Вчений секретар
спеціалізованої ради Нейжмакова Н.О.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність роботи. Для сучасного етапу науково-технічного прогресу характерним є широке впровадження в промисловості, на транспорті, сільському господарстві й побуті чималої кількості хімічних сполук. Тому зростає значення гігієнічних досліджень, які дають змогу встановлювати загальні закономірності у взаємних стосунках між людиною та навколишнім середовищем. У зв'язку з цим питання теорії і практики вивчення токсичності та небезпечності ксенобіотиків, що забруднюють виробниче середовище, набувають не лише медико-біологічного, але й соціального значення. (Е.І.Гончарук з співавт. 1990; Г.А.Бачинський, 1991; J.I.Kundiev, 1992).

Серед природних і синтетичних сполук, що широко використовуються у різних галузях народного господарства, досить значною є група фенольних антиоксидантів. Вони застосовуються у виробництві пластифікаторів, пластмас гум, барвників, стабілізаторів пальних, технічних мастил, харчових продуктів, у фармацевтичній, шкіряній, текстильній промисловості та фотографії (В.А.Рогинський, 1988; А.Д.Дурнєв, С.В. Середеник, 1990).

Особливе місце щодо цього посідають дифеноли (гідрохінон, резорцин і пірокатехін), котрі є продуктами багатотоннажного хімічного виробництва, широко застосовуються у суднобудуванні та судноремонті, перевозяться на суднах та інших видах транспорту як небезпечні вантажі. Це спонукає до розробки заходів, спрямованих на безпеку людей та навколишнього середовища під час виробництва та застосування зазначених сполук, що визначає необхідність їх комплексного токсиколого-гігієнічного вивчення (С. Н. Голіков з співавт., 1986;

І.М.Трахтенберг з співавт., 1987; J.Rantenen, 1991; P.Plain, 1993).

Вивчення механізмів токсичності дифенолів, структурно-функціональних зв'язків між будовою молекули ксенобіотика і його впливом на функціонування клітин ферментних систем та інших біологічних мішеней дає змогу вирішити такі проблеми загальної токсикології як специфічність дії отрут, вибіркова токсичність, застосування біомаркерів для оцінки ступеню ризику та прогнозування реакції біологічних систем на хімічну агресію (Е.Альберт, 1989; D.Mattison, 1991; Ш.С.Тажибаєв, Є.Г.Тищенко, 1992).

Однак пірокатехін та його ізомери досі ще недостатньо вивчені з токсикологічного погляду, не отримали необхідної гігієнічної оцінки і практично ненормовані. А це є суттєвою перепоною для їх безпечного застосування, збереження здоров'я працівників та охорони навколишнього середовища.

Мета дослідження: вивчити механізми токсичної дії пірокатехіну, гідрохінону та резорцину в дослідах in vitro та на експериментальних тваринах і обґрунтувати гігієнічні регламенти цих дифенолів в повітрі робочої зони.

Задачі дослідження:

1. Визначити головні параметри токсичності пірокатехіну, гідрохінону і резорцину в гострих, підгострих та хронічних дослідах на експериментальних тваринах.

2. Встановит особливості виявлення антиоксидантних властивостей ізомірів пірокатехіну на основі структурно-функціональних зв'язків і залежностей типу "доза-час-ефект" in vitro та in vivo.

3. Оцінити інтенсивність різних стадій перекисного окислення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту

в печінці білих щурів при дії широкого спектру фенольних сполук.

4. На основі вивчення біологічної дії дифенолів у модельних дослідах обґрунтувати гігієнічні регламенти щодо пірокатехіну та його ізомерів у повітрі робочої зони.

Наукова новизна роботи. Вперше здійснено комплексне дослідження токсичності та з'ясуванню механізмів дії на організм дифенолів, показано наявність дозозалежної анти- і прооксидантних дій цих сполук на біологічні системи, встановлено взаємозв'язок структури ізомерів пірокатехіну з їх токсичними властивостями, що стало основою для аргументації величин безпечних концентрацій зазначених сполук у повітрі робочої зони.

Теоретичне значення. Вивчені закономірності виявлення антиоксидантних властивостей у ізомірів пірокатехіну та їх переходу до прооксидантної дії на основі структурно-функціональних зв'язків та залежностей типу "доза-час-ефект". Розроблено біологічні моделі, що дають змогу в короткотерміновому експерименті оцінити ступінь антиоксидантної або прооксидантної дії. Вони можуть бути використані як біомаркери для первинної токсикологічної оцінки хімічних сполук, а також стосовно задачі пошуку перспективних антиоксидантів.

Практичне значення. Обґрунтовано гігієнічні регламенти гідрохінону, пірокатехіну і резорцину у повітрі робочої зони; оптимізовано способи вивчення про- і антиоксидантних властивостей хімічних сполук і методи їх кількісної оцінки, що може бути використано при гігієнічній оцінці та прогнозуванні токсичності.

Упровадження результатів дослідження в практику. На основі проведених досліджень Комітет по гігієнічній регламен-

тації хімічних речовин Міністерства охорони здоров'я СРСР затвердив ГДК р.з. для трьох дифенолів: пірокатехіну, резорцину і гідрохінону. За матеріалами дослідження отримано посвідчення на три рацпропозації. Удосконалені методичні підходи використано при регламентації інших хімічних сполук (олефінів, ТБТО). Результати були застосовані на міжгалузевому рівні в Україні та державах СНД.

Апробація роботи. За матеріалами дослідження зроблено доповідь на IX Міжнародному симпозіумі з питань морської медицини у Гдині (1989), на Всесоюзній конференції з актуальних проблем лікарської токсикології (Москва, 1990), на VIII Міжнародній конференції молодих вчених з органічної і біоорганічної хімії у м. Ризі - (1991), на III науково-технічній конференції з токсикології синтетичних матеріалів судносудівного призначення (С.-Петербург, 1991), на X Українському біохімічному з'їзді (Київ, 1992), на науково-практичній конференції "Критерії біологічної безпеки" (С. -Петербург, 1994). По темі дисертації надруковано 8 наукових праць.

ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВИНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ:

1. Дифенолам (гідрохінону, пірокатехіну і резорцину) притаманна різна токсичність для піддослідних тварин, що зумовлена специфікою структури молекул та індівідуальними особливостями виявлення хімічних властивостей в гострому, підгострому та хронічному експерименті.

2. Механізми токсичної дії дифенолів грунтуються на мембранотропних ефектах, обумовлених оборотним окисленням з переходом з фенольних у хіноїдні форми, що визначає їх дозозалежну здатність до стимуляції ПОЛ, з одного боку, і впл.

на антиоксидантні системи (переважно глутатіонову), з іншого.

3. Вивчення механізмів токсичної дії дифенолів дає змогу більш адекватно обґрунтувати диференційовані гігієнічні регламенти гідрохінону, пірокатехіну та резорцину у повітрі робочої зони і може використовуватись з прогностичною метою.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ. Дисертація складається з вступу, огляду літератури, чотирьох дослідницьких розділів, висновків та додатків. До списку літератури увійшло 213 джерел, у тому числі 92 іноземних авторів. Роботу викладено на 150 сторінках машинописного тексту, містить 16 малюнків та 23 таблиць.

У дисертації викладено результати досліджень, здійснених автором особисто як виконавцем НДР № ДР. 01.86.0048448; 01.86.004853;01.93.V002721.

ЗМІСТ РОБОТИ

ОБСЯГ, ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Для розв'язання поставлених задач проведено експерементальні дослідження на 976 безпородних щурах масою 120-170 г, 126 білих мишах масою 18-22 г, 60 морських свинках масою 250-300 г, і 9 кролях Шиншилла масою 2.5-3.0 кг.

Усього проведено 384 санітарно-хімічних, 164 гігієнічних, 562 токсикологічних, 2418 біохімічних, 586 фізіологічних, 240 морфологічних досліджень.

Гігієнічні дослідження проведено на дільницях ДРАПІ аеропортів Вільнюс, Внуково, Домодєдово, Душанбе, Одеса, в Іллічівському СРЗ Шосткінському заводі хімреактивів, де вивчалися умови праці робітників та рівень забруднення повітря дифенолами та супроводжуючими хімічними сполуками.

Об'єктом вивчення стали 6 хімічних сполук похідних фено-

ну, серед яких 3 складають основну групу (гідрохінон, пірокатехін, резорцин), як об'єкти гігієнічного нормування і з'ясування механізмів токсичної дії, а 3 інших (іонол, діафен ФП і фенол) використані для порівняння як переважно анти- або прооксиданти.

Дослідження для оцінки параметрів токсичності дифенолів проводилися за традиційною схемою [І.В.Саноцький, 1970; К.К. Сідоров, 1986], а вивчення механізмів дії, зокрема їх вплив на процеси ПОЛ і антиоксидантні системи, здійснювались у дослідах in vitro в концентраціях $1*10^{-10}$ - $1*10^{0}$ М на отримуваних стандартними методами [Г.Г.Гацько з співавт., 1982] гомогенатах тканин печінки, нирок і в дослідах in vivo на інтактних білих щурах-самцях з внутрішньошлунковим введенням дифенолів у дозах від 0,0001 до 0,1 LD 50 з попередньою активацією процесів ПОЛ завдяки введенню 0,1 LD 50 CCl4. В цих експериментах одночасно досліджувались залежність типу "доза-час-ефект".

З метою встановлення концентрацій дифенолів у повітрі труїльних камер і в повітрі робочої зони використано методи визначення пірокатехіну, резорцину та гідрохінону за Л.М.Шафраном з співавт. (1988, 1989).

Інтенсивність утворення дієнових кон'югатів (ДК) ми вивчали за І.Д.Стальною (1977), малонового диальдегіду (МДА) за І.Д.Стальною, Т.Г.Гарішвілі (1977), ферментів глутатіонової антиоксидантної системи (ГАОС): активність глутатіонпероксидази (ГП) за В.А.Пахомовою з співавт. (1982), глутатіонредуктази (ГР) за S.Hosoda, W.Nakamura (1970), глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (Г6ФДГ) за М.І.Прохоровою (1982). Активність каталази досліджувалась за М.А.Королюк з співавт. (1988), супероксиддисмутази за N.Nishikimi at all (1972),

загальний білок за допомогою біуретового реактиву за А.А.Покровським (1969), рівень утворення МДА з тіобарбітурсвою кислотою-диференційованому варіанті (фоновий, спонтанний, аскорбатзалежний та ферментний) за Г.Г. Гацько з співавт. (1982).

Щодо інтегральних фізіологічних показників, то враховувались маса і температура тіла, сумаційно-пороговий показник (СПП) за С.В.Сперанським (1975), склад периферійної крові - за М.А.Базарновою (1982), SH-групи- за І.Б.Верьовкіною з співавт. (1977), K^+ і Na^+-за В.В.Меньшиковим (1974).

Репрезентивність і валідність результатів забезпечена обсягом виконаних досліджень, застосуванням сучасних методів отримання і обробки даних (комплекс стандартних програм на PC/AT 386). До того аналіз і обробка отриманих даних повністю виконані здобувачем. Морфологічні дослідження виконано з к.б.н. Э.А.Бормусовою, що відбито у спільних публікаціях.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході гігієнічного обстеження робочих місць операторів аеропортів, робітників, зайнятих на ремонті суднової паливної та мастильної апаратури, виробництвом хімреактивів, було показано, що для широкого кола технологічних процесів та виробництв характерним є забруднення повітря робочої зони пірокатехіном у концентраціях 2,2±0,05, гідрохіном 4,7±0,15, резорцином 2,3±0,06 мг/м^3. У змивах з робочих поверхонь обладнання, спецодягу та відкритих ділянок шкіри робітників виявлено пірокатехін в концентраціях 0,033-1,07 мг/см^2, гідрохінон 0,07-0,63 мг/см^2, тоді коли резорцин не було виявлено.

У робітників визначено скарги на ознаки подразнення шкіри, слизової оболонки очей та верхніх дихальних шляхів.

Серед працівників, що контактують з дифенолами, відзначена підвищена захворюваність за 4 класами: хвороби органів дихання, шкіри та підшкіряної клітчатки, нервової системи та органів чуття. Також мали місце дерматіти з алергічними явищами. Одержані нами дані на основі виробничо-гігієнічних досліджень узгоджуються з результатами клінічних спостережень інших авторів (C.Abbat at all, 1989; J.Derillers at all, 1990). Про те запровадження дійових профілактичних заходів на зазначених та інших виробництвах стримується відсутністю гігієнічних регламентів на вказані сполуки.

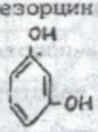
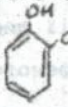
Для обгрунтування ГДК р.з. пірокатехіну, резорцину, гідрохінону було проведено експериментальні дослідження, основні результати яких подані в таблиці.

З наведених даних видно, що щодо величини середньосмертельних доз і концентрацій, величини КМТО - дифеноли належать до 3-го класу небезпечності (Держстандарт ССБП.12.1.007-88), щодо зон гострої біологічної дії - до 2-го класу небезпечності. Резорцину і гідрохінону властиві слабкий, а пірокатехіну середній ступінь кумуляції за класифікацією Л.І.Медведя (З.М.Штабський, В.І.Федоренко, 1991). Резорцину притаманні слабка місцево-подразнююча, шкірно-резорбтивна, алергенна дія, у гідрохінону вони виражені в середньому, а у пірокатехіну - в сильному ступені.

В гострому досліді в діючих концентраціях (1/20 LD 50) пірокатехін викликав зменшення СПП (дослід 5,8±0,11, контроль 8,9±1,02). Під час дії гідрохінону цей показник понижувався з 9,2±0,34 у контролі до 6,3±0,4 у досліді. Для резорцину властива аналогічна дія. Відзначено пониження кількості SH-груп на 54, 37 і 29%, відповідно. Інформативними показниками виявились також вміст у тканинах ДК, МДА, активність фе-

Таблиця

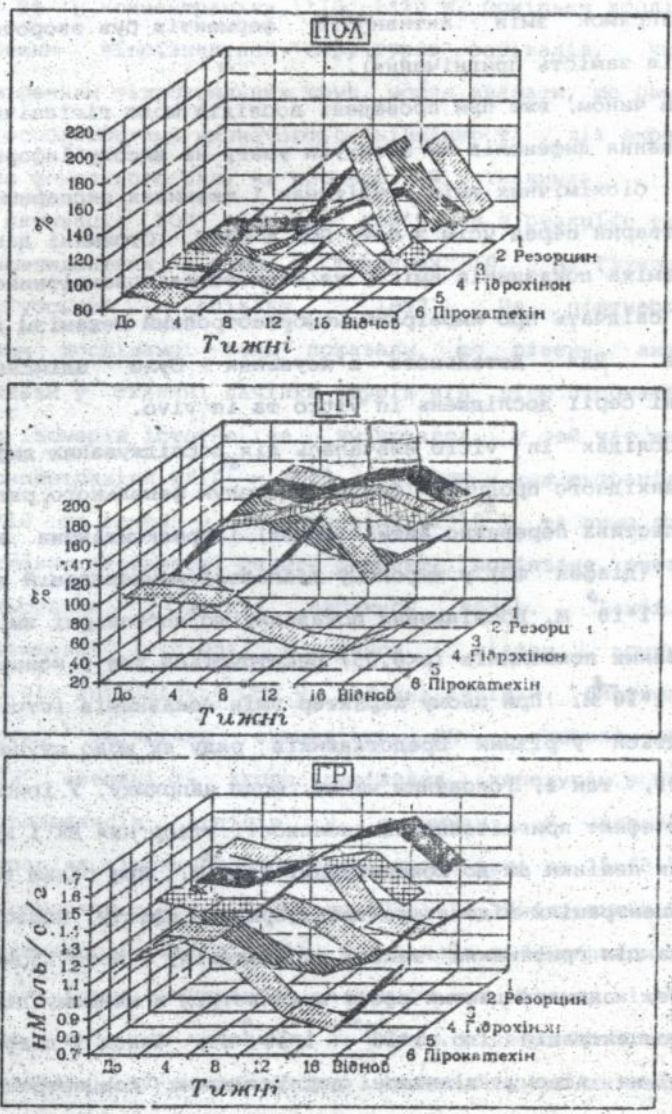
Показники токсикометрії дифенолів

Речовина		Резорцин	Гідрохінон	Пірокатехін
				
LD50 в/ш, мг/кг	щури	710	710	280
	миші	280	360	141
	свинки	610	560	224
CL50, мг/м^3	щури	2140	950	600
Lim ac, мг/м^3		97	28	22
C cum		12,4	5,2	4,3
Місцева дія, бал	Око	8	9	10
	Шкіра	-	4,4	6,2
Шкіряно - резорбтивна дія		слабо виражена	виражена	різко виражена
Сенсибілізація		відсутня	слабка	виражена
Lim ch, мг/м^3		10	3	2
ГДК, мг/м^3		5	1	0,5

рментів ГАОС. Враховуючи, що більша частина небілкових SH-груп припадає на відновлений глутатіон (В.І.Кулинський, Л.С.Колесниченко,1990), можна вважати, що ПОЛ і системи антиоксидантного захисту видіграють важливу роль в механізмі гострої дії дифенолів. На рівні порогових концентрацій (1/40 LD 50) дифеноли викликали лише неістотні зміни досліджуваних показників, які можна віднести до категорії компенсаторно-пристосувальних.

При встановленні величини Lim ch в дослідах на білих щурах-самцях при інгаляційному отруєнні дифенолами протягом 16 тижнів досліду і 4-х - відновлювального періоду, показано, що діючими виявились концентрації резорцину 50,5±0,94, гідрохінону - 9,8±0,15 і пірокатехіну - 6,2±0,05 мг/м^3. При цьому істотно змінювались показники: маса тіла ($p<0,05$), СПП ($p< 0,001$), морфологічний склад крові (еритроцито- і ретикулоцитопенія, лейкоцитоз, тромбоцитопенія), понижувався рівень гемоглобіну, підвищувалась концентрація Na^+ і понижувалась K^+. До того ж, найбільш виражені зміни розвивались, починаючи з 8 тижня досліду, досягаючи максимуму біля 12-16 тижнів. Вони, за правило, здебільшого не повністю нормалізувались за час відновлювального періоду. Інформативними показниками змін, що відбуваються під дією дифенолів, стали рівні ПОЛ в крові, тканинах печінки і нирок, а також активність ферментів ГАОС, на що вказують дані, наведені на малюнку. Криві 1, 3, 5 (діючи концентрації) мають однонаправлений характер (активація ПОЛ, пригнічення ГП і ГР), причому вираженість змін спадає в ряді пірокатехін > гідрохінон > резорцин.

В порогових концентраціях (1,9±0,02; 3,4±0,30; 4,7±0,38 мг/м^3, відповідно) дифеноли не призводили до



Мал. 1. Динаміка показників ПОЛ та ГАОС при встановленні порогів хронічної дії дифенолів в хронічному експерименті

суттєвих зрушень досліджуваних показників (криві 2, 4, 6) і напрямок змін активності ферментів був зворотнім (активація замість пригнічення).

Таким чином, вже при проведені дослідів щодо гігієнічного нормування дифенолів ми звернули увагу на високу інформативність біохімічних змін у клітинах і тканинах експериментальних тварин перед усім з боку ПОЛ і ГАОС. Отримані дані, як і динаміка показників вмісту клітинного та позаклітинного Na^+ і K^+, свідчать про ймовірний мембранотропний механізм дії дифенолів. Для детального з'ясування було здійснено спеціальні серії досліджень in vitro та in vivo.

В дослідах in vitro вивчалась дія досліджуваних дифенолів, вихідного продукту (фенол) і сполук фенольного ряду, котрим властива переважно анти- (іонол) і прооксидантна активність (діафен ФП) у широкому діапазоні концентрацій від $1*10^{-10}$ до $1*10^{0}$ М. Дослідження показали, що достовірні зміни досліджуваних показників ($p<0.05$) реєструються вже у концентраціях $1*10^{-8}$ М. При цьому характер змін показників істотно відрізняється у різних представників ряду як щодо ступеня виражності, так і, головним чином, щодо напрямку. У іонолу переважає ефект пригнічення інтенсивності утворення ДК і МДА в тканинах печінки аж до концентрації $1*10^{-2}$ М. При більш високих концентраціях відзначено трансформацію ефекту. Подібна двохфазова дія притаманна також пірокатехіну і його ізомерам, проте, антиоксидантий ефект виявляється в меншому діапазоні концентрацій (до $1*10^{-6}$ - $1*10^{-4}$ М). Фенол і діафен практично на всьому діапазоні досліджуваних концентрацій виявляли прооксидантну дію що відбивалось у зростанні рівня ДК в 3-5 разів у відношенні до контролю з максимумом у концентрації $1*10^{-3}$ М і інтенсивності утворення МДА до 225.5

-227.2% у концентраціях $1*10^{-3}$ - $1*10^{-2}$ М. Оскільки досліджувані речовини відрізняються структурою радікалів, числом і розміщенням гідроксильних груп, можна вважати, що саме даними особливостями визначаються відмінності у дії окремих речовин фенольного ряду на процеси ПОЛ у тканинах.

Активація ПОЛ звичайно пов'язана з реакцією ендогених антиоксидантних систем в тканинах (Л. А. Тіунов, 1987; Ю.І.Губський з співавт., 1992). Це підтверджується нашими дослідами. Вони показали, що рівень активності каталази у тканині печінки щурів під дією пірокатехіну та його ізомерів істотно не змінювався, у той час як фенол у концентраціях $1*10^{-6}$ - $1*10^{-4}$, діафен у концентраціях $1*10^{-8}$ - $1*10^{-5}$ та іонол у концентраціях $1*10^{-8}$ М та вище викликали зростання активності даного ферменту, пов'язане, очевидно, із збільшенням продукції перикису водню. Іонол також перевищував ($p<0.05$), а фенол і діафен пригнічували ($p<0.01$) активність СОД у тканині печінки. Дифеноли більш істотно змінювали активність ГП - ключового ферменту ГАОС, активність якого пов'язана передусім з кількістю гідроперекисів ліпідів у тканинах. У низьких концентраціях відзначено зростання активності на 25-63 %, тоді як у високих - пригнічення до 60-85 %. Прогресивне пониження активності ГП (до 65 %) відзначено під впливом діафену, тоді як іонол змінював її активність не більш, ніж на 30 %. Певно, дифеноли впливають на рівень відновленого глутатіону в тканинах, що компенсаторно призводить до активації ГР і підвищеної продукції NADPH в пентозо-фосфатному циклі (зростання активності ГФДГ). Розвиток прооксидантного ефекту супроводжується пригніченням усіх компонентів ГАОС, що має важливе прогностичне значення: висока активність ГР і

ГбФДГ вказує на збереження адаптаційних резервів і можливість компенсації порушених під дією ксенобіотиків метаболічних процесів у тканинах, тоді як їх пригнічення є ознакою прогресуючого ураження з ймовірними патологічними змінами на системному та організмовому рівнях. Це узгоджується з даними наших досліджень щодо вивчення хронічної дії дифенолів у дослідах in vivo, в яких простежено фазовість змін ПОЛ і активності ГАОС у динаміці отруєння білих щурів дифенолами. Використання цих показників як чутливих бісмаркерів при дії на організм різних хімічних речовин знаходить усе більше підтвердження в літературі. Отже, вони можуть бути прийняті як критерії токсикологo - гігієнічної оцінки ксенобіотиків [Т.А.Гіль з співавт., 1987; Р.В.Корнєєва, 1990; P.Blain at all, 1993; О.А.Пащенко, 1993; Ю.С.Каган, О.В.Леоненко, 1993].

Вивчаючи механізм дії дифенолів, ми приділяли увагу також дослідженню залежностей типу "доза-час-ефект", що дозволило більш чітко простежити хромотропну трансформацію антиоксидантної дії дифенолів у прооксидантну при збереженні описаної раніше концентраційної залежності. Установлено суттєві відмінності щодо дії дифенолів на різні види ПОЛ у печінці щурів. При незначній зміні фонової та спонтанної активності ПОЛ привертає увагу істотна зміна аскорбатзалежного і особливо ферментного ПОЛ. Останнє в 1,3-2,5 рази перевищувало контрольний рівень при дії дифенолів у дозах 0,01 - 0,1 LD 50.

При дії в малих дозах для усіх дифенолів характерно інгібування процесів аскорбатзалежного і, у меньший мірі, ферментного ПОЛ, тоді як у дозах 0,01-0,1 LD 50 переважають процеси активування, передусім ферментного ПОЛ. Останнє найбільше змінювалось під впливом пірокатехіну, тоді як ас-

корбатзалежне - гідрохінону. Для резорцину в усіх випадках властивий менш виражений ефект. Проведені дослідження дають змогу вважати, що у механізмі дії дифенолів на процеси ПОЛ ключовою є стадія, контрольована за рівнем МДА. Це простежується при порівнянні величин ДК у тканинах, які змінюються у меншій мірі і, переважно, через 2 години експозиції.

Оскільки в малих дозах феноли відносно слабо впливають на процеси ПОЛ, що може бути пов'язане з утворенням хінолідних перекісів і переважним утворенням гідроперекісів у тканинах [В.А.Рогинський, 1988], ми провели спеціальну серію дослідів з попередньою активацією ПОЛ типовим прооксидантом - CCl_4. За цих умов дифеноли у перші години досліду (до 16 год.) суттєво понижували рівень ферментного і неферментного ПОЛ (на 22-43 %). При більшій експозиції відзначено зростання рівня МДА в усіх групах тварин за рахунок ферментного ПОЛ при збереженні антиоксидантного ефекту гідрохінону і резорцину до аскорбатзалежного ..ОЛ. Це може бути пов'язано з більшою токсичністю пірокатехіну, а також обмеженим пулом NADPH, що лімітує ферментний процес утворення та інактивації перекисів ліпідів, як і роботу клітинних антиоксидантних систем.

Система ГАОС також закономірно реагувала на дії дифенолів з передекспозицією CCl_4. При дії мінімальної дози (0,0001 LD_{50}) усі досліджені речовини активували ГП в межах 26-30% (щодо щурів експонованих CCl_4). Активність ГР у печінці цих тварин по ркувалась на 20-34 %, що може бути ознакою підвищеної потреби гепатоцитів в GSH. Стосовно Г6ФДГ, її активність під дією пірокатехіну понижувалась на 30 %, тоді як під впливом резорцину вона зростала на 21, гідрохінону на 31 %. Більш високим дозам дифенолів притаман-

на інгібуюча дія на активність усіх ферментів ГАОС. При цьому вираженність ефекту залежала від дози і експозиції в межах першої доби досліду).

Проведені дослідження дозволили поглибити наші уявлення про механізми дії дифенолів як мембранотропних сполук, які порушують регульований на клітинному рівні баланс між рівнем утворення ПОЛ і активністю ендогенних антиоксидантних систем (передусім ГАОС). Оскільки зміна зазначених співвідношень відображає адаптаційні резерви метаболічних систем і компенсаторні можливості клітин при дії ксенобіотиків, комплекс прийнятих показників може бути використан як біомаркер при вивчені токсичних властивостей і ймовірних механізмів дії різних з'єднань. Їх використання з метою гігієнічного нормування дифенолів показало високу інформативність отриманих даних для обґрунтування диференційованних ГДК р.з. дифенолів. Вони дали змогу розмістити вивчені ізомери у порядку зростання ступеня вираженості біологічних ефектів від мета-, пара- до орто- ізомеру і є додатковим аргументом для встановлення ГДК р.з. резорцину на рівні 5.0; гідрохінону - 1,0 і пірогехіну - 0,5 мг/м^3. Ці пропозиції були прийняті Секцією промислової токсикології і затверджені Міністерством охорони здоров"я СРСР.

В И С Н О В К И

1. Дифеноли як продукти багатотоннажного синтезу, що широко використовуються у промисловості, на транспорті та у побуті, в процесі виробництва і застосування є забруднювачами повітря робочої зони, а їх концентрації на робочих місцях, в зоні дихання персоналу досягають 6,4±0,41 мг/м^3

дія пірокатехіну, 11,6±0,62 мг/м^3 -гідрохінону, 3,5±0,12 мг/м^3 -резорцину. Вони виявляються також у змивах з обладнання, спецодягу і шкіри рук працівників.

2. Дифеноли при введені у шлунок експериментальних тварин належать до III /гідрохінон, резорцин/ і II /пірокатехін/ класів небезпечності; при інгаляції властивий слабкий /гідрохінон, резорцин/ і середній /пірокатехін/ ступінь кумуляції; за зоною біологічної дії належать до II /резорцин, гідрохінон/ і 1 /пірокатехін/ класу небезпечності. Вони істотно відрізняються щодо ступеня вираженості місцево-подразнюючої, шкірно-резорбтивної і алергенної дії, що змінюються у тому ж порядку /резорцин < гідрохінон < пірокатехін/.

3. За механізмом дії досліджувані дифеноли належать до мембранотропних отрут, які змінюють інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах і переважно впливають на активність ферментів ГАОС /ГП, ГР, Г6ФДГ/. Ці показники можуть використовуватись як біомаркери у токсиколого-гігієнічній оцінці широкого спектру хімічних речовин.

4. Установлено, що дифенолам у низьких концентраціях ($1x10^{-8}$ - $1x10^{-5}$ М) притаманна антиоксидантна дія, що виявляється у пониженні інтенсивності ПОЛ і зростанні активності ферментів ГАОС, тоді як у більш високих концентраціях реєструється прооксидантний ефект з зворотно спрямованою зміною досліджуваних показників.

5. Спрямованість, ступінь вираженості і строки виникнення досліджуваних змін компонентів ПОЛ і ГАОС визначаються хімічною структурою дифенолів, а також інтенсивністю і тривалістю їх впливу, відбиваючи залежність типу "доза-час-ефект".

6. На прикладі широкого спектру похідних фенолу, яким властива поряд з ізомерами пірокатехіну переважно антиоксидантна (іонол) або прооксидантна (діафен ФП, фенол) дія, в дослідах in vitro та in vivo показано, що перші діють однотипно з дифенолами в низьких концентраціях, понижуючи аскорбатзалежний і ферментний складники ПОЛ, тоді як другі викликають протилежний ефект з тенденцією до зростання ДК і МДА у високих концентраціях в усіх досліджуваних сполуках (діафен> фенол > пірокатехін > іонол > гідрохінон > резорцин).

7. Проведені комплексні токсиколого-гігієнічні дослідження з урахуванням використання інформативних фізіологічних, морфологічних показників, стану ПОЛ і ГАОС, квантовохімічних розрахунків, структурно-функціональних взаємозв'язків дали змогу обґрунтувати і затвердити у законодавчому порядку ГДК р.з. для резорцину на рівні 5,0, гідрохінону - 1,0 і пірокатехіну - 0,5 мг/м^3.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ЩО НАДРУКОВАНО ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Toxicological provision for safe using ship anticorrosive materials//XI International Symposium on Meritime Medicine, 18-20 October, 1989, Gdynia: Programme and Abstracts. - Gdynia, 1989. - P. 162 (в соавт.).

2. Токсикокинетика и токсикодинамика двухатомных фенолов//Фармакология и токсикология природных и синтетических соединений. - Минск, 1989. - С. 111 (в соавт.).

3. Токсикология дифенольных антиоксидантов//Всесоюзная научная конференция "Актуальные проблемы лекарственной токсикологии: Сб.тез.докл.. 12-16 ноября, 1990. - М., 1990, ВНЦ ВАВ. - С. 349 (в соавт.).

4. Изучение параметров нейротоксичности при гигиенической регламентации антикоррозионных материалов судостроительного назначения//Человек-Океан:Материалы Всесоюзной научной конференции.-Махачкала, 1990.- Т.2 С.41-42 (в соавт.)

5. Изучение некоторых механизмов действия стабилизаторов резин и пластмасс//Актуальные вопросы санитарной химии и токсикологии синтетических материалов судостроительного назначения/Материалы третьей отраслевой научно-технической конференции 29-31 октября, С.-Петербург, 1991.- С.-Петербург, 1991. - С. 14-15 (в соавт.).

6. Biochemistry and Toxycology of Diatomic Phenols// 8th Conference on Young Scientists of Organic and Bioorganic Chemistry, 2-9 November 1991, Riga:Abstracts. - Riga, 1991 - P. 186-187 (в соавт.).

7. Біохімія фенолів та їх похідних//VI Український біохімічний з'їзд:Тези доповідей, Київ, травень, 1992. - Київ, УСГА, 1992. - Ч. 1, С. 227.

8. Токсикология дифенолов//Критерии экологической безопасности. Материалы научно-практической конференции 25-28 мая 1994 г. С.-Петербург.-С.-Петербург: РАН, Научный центр, 1994. - с. 62-63.

Симецкая С.О. Гигиеническое значение показателей перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантных систем для обоснования безопасных уровней дифенолов в воздухе рабочей зоны.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.00.07 - Гигиена. Одесский научно - исследовательский институт медицины транспорта, г.Одесса, 1994.

В опытах in vitro и in vivo установлены дозозависимая и хронотропная способность дифенолов к стимуляции либо угнетению ПОЛ и их влияние на антиоксидантные преимущественно глутатионовую) системы, что лежит в основе их мембранотропного действия. Антиоксидантные эффекты в малых концентрациях ($1*10^{-8}$-$1*10^{-5}$М) сменяются прооксидантными в более высоких($1*10^{-4}$-$1*10$М). На основании проведенных исследований обоснованы и утверждены дифференцированные ПДК р.з. для резорцина - 5; гидрохинона - 1 и пирокатехина - 0.5 мг/м^3.

Ключові слова:

Дифеноли, токсичність, антиоксидантна та прооксидантна дія, гігієнічні регламенти, перекисне окислення ліпідів, ГДК.

Simetskaja S.O.Hygienic role of lipids peroxidatin indices and state of antioxidant systems for reasoning treshold limited values of diphenols in the air of working zone.

Dissertation for degree of Candidate of Biology in speciality 14.00.07-Hygiene. Transport Medicine Reserch Institute, Odessa 1994.

In experements in vitro and in vivo dependency on doses and chronotropic ability of diphenols to stimulation or depression of peroxide oxidation of lipids are stated, as well as their influence on antioxidant (mainly glutation) systems, which is the basis of their membranotropic effects. Antioxidant effect in low concentrations ($1*10^{-8}$-$1*10^{-5}$M) are replased by prooxidant ones ir higher ($1*10^{-4}$- $1*10$M). On the basis of done research, diferentiated TLV are stated for Resorcine - 5; Hydroquinone - 1, and Catechol - 0.5 mg/m^3.

Подп.к печати I8.I0.94г. Формат 60х84 I/I6.
Об"ем 0,8уч.изд.л. I,25п.л. Заказ № I00I. Тираж I00экз.
Гортипография Одесского управления по печати,цех№3.
Ленина 4°.

455429

Ав 31.180