

Влияние интоксикации сероуглеродом на биохимические показатели крови и их коррекция растительными фенольными соединениями в эксперименте

Другова Е.С.^{1,2}, Кушнерова Н.Ф.¹, Мерзляков В.Ю.¹, Фоменко С.Е.¹, Спрыгин В.Г.¹, Момот Т.В.²

¹ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН (Владивосток)

²ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Владивосток)

Influence of carbon disulfide intoxication on blood biochemical parameters and their correction by plant phenolic compounds in experiment

Drugova E.S.^{1,2}, Kushnerova N.F.¹, Merzlyakov V.Yu.¹, Fomenko S.E.¹, Sprygin V.G.¹, Momot T.V.²

¹V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok)

²Far Eastern Federal University (Vladivostok)

АННОТАЦИЯ

Введение. Фенольные соединения, входящие в состав разнообразных фитопрепаратов, оказывают антирадикальное и антиоксидантное действие.

Цель. Изучение влияния интоксикации сероуглеродом на биохимические показатели крови крыс и возможности их коррекции природными растительными фенольными соединениями из калины.

Материалы и методы. Проведен эксперимент на белых крысах-самцах линии Вистар. Интоксикацию сероуглеродом (концентрация 2.0 мг/м³) проводили в специальной затравочной камере. Животные были разделены на 5 групп: 1-я — контроль (интактные животные); 2-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед; 3-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед с последующей отменой в течение 7 сут; 4-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед, далее введение экстракта из калины в течение 7 сут; 5-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед, далее введение силимарина в течение 7 сут. Препараты вводили в дозе 100 мг общих фенолов/кг массы животного.

Результаты. Интоксикация сероуглеродом сопровождалась развитием выраженной гиперхолестеринемии; увеличением фракции липопротеинов низкой плотности при одновременном снижении липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови. Отмечался рост уровня малонового диальдегида, снижение активности супероксиддисмутазы и величины восстановленного глутатиона, что свидетельствует об истощении системы антиоксидантной защиты организма. В период отмены интоксикации сероуглеродом в течение 7 сут биохимические показатели крови не восстановились, что свидетельствует о сохранении свободно-радикальных процессов. Введение экстракта из калины и препарата сравнения силимарина сопровождалось восстановлением до уровня группы контроля биохимических показателей крови после интоксикации сероуглеродом.

Заключение. Токсическое действие сероуглерода вызывает изменение исследуемых биохимических показателей крови. Введение экстракта из калины и силимарина сопровождалось их восстановлением до уровня группы контроля, но более выраженный эффект отмечался у экстракта из калины за счет присутствия в его составе олигомерных форм полифенолов.

Ключевые слова: сероуглерод, липопротеины, антиоксидантная защита, экстракт калины, силимарин

Поступила 25.12.2020
Принята 20.01.2021

Автор, ответственный за переписку
Кушнерова Наталья Федоровна: ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН. 690041, г. Владивосток, ул. Балтийская, 43.
E-mail: nkushnerova@poi.dvo.ru

Received 25.12.2020
Accepted 20.01.2021

Corresponding author
Kushnerova Natalya Fedorovna: V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, 43, Baltiyskaya str., Vladivostok, 690041, Russia.
E-mail: nkushnerova@poi.dvo.ru

ABSTRACT

Introduction. Phenolic compounds that are part of a variety of phytopreparations have an anti-radical and anti-oxidant effect.

Aim. Studying the influence of carbon disulfide intoxication on the rat blood biochemical parameters and the possibility of their correction with natural plant phenolic compounds from viburnum.

Materials and methods. The experiment was conducted on white Wistar male rats. Carbon disulfide intoxication (concentration 2.0 mg/m³) was implemented in a special exposure chamber. The animals were divided into 5 groups: the 1st group was control (intact rats); the 2nd group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks; the 3rd group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by discontinuation for 7 days; the 4th group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by administration of the viburnum extract for 7 days; the 5th group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by silymarin administration for 7 days. The drugs were administered at a dose of 100 mg of total phenols per kilogram of animal weight.

Results. Carbon disulfide intoxication was accompanied by the development of intense hypercholesterolemia; an increase in the fraction of low-density lipoproteins with simultaneous decrease in high-density lipoproteins in blood serum. There was an increase in the level of malondialdehyde, decrease in the superoxide dismutase activity and reduced glutathione amount, which indicates the depletion of the body's antioxidant defense system. During the withdrawal period of carbon disulfide intoxication for 7 days, the blood biochemical parameters did not recover, which indicates the preservation of free-radical processes. The administration of the viburnum extract and the comparison drug, silymarin, was accompanied by a recovery to the control group level of blood biochemical parameters after carbon disulfide intoxication.

Conclusion. The toxic effect of carbon disulfide causes a change in the studied blood biochemical parameters. The administration of the viburnum extract and silymarin was accompanied by their restoration to the level of the control group, but a more pronounced effect was observed in the viburnum extract due to the presence of oligomeric forms of polyphenols in its composition.

Keywords: carbon disulfide, lipoproteins, antioxidant protection, viburnum extract, silymarin.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из токсических веществ, применяемых в производственных условиях, является сероуглерод (CS₂). Он используется в производстве вискозных волокон, целлофана, в химической промышленности — как растворитель фосфора, жиров, резины [1]. Также это широко распространенный химический токсикант на производствах по переработке природного газа. При довольно высоком уровне автоматизации и механизации технологических процессов на данных производствах имеются отдельные операции, выполнение которых связано с интенсивным загрязнением рабочей зоны вредными веществами, превышающими предельно допустимые концентрации (ПДК) в 2 раза и более. Основным путем проникновения токсического вещества в организм является ингаляционный, также оно может всасываться через кожу.

Сероуглерод является политропным ядом; обладая наркотическим действием, он поражает высшие отделы центральной нервной системы, вызывает нарушения в работе сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, токсические гепатиты [2]. В качестве основного поражающего агента при интоксикации сероуглеродом выступает как сам токсикант, так и продукты его метаболизма в организме —

INTRODUCTION

Carbon dioxide (CS₂) is one of the toxic substances used in manufacturing conditions. It is used in the production of viscose fibers, cellophane, in the chemical industry — as a solvent for phosphorus, fats, rubber [1]. It is also a widespread chemical toxicant at natural gas processing plants. With a fairly high level of automation and mechanization of technological processes in these industries, there are certain operations, the implementation of which is associated with intensive contamination of the working area with harmful substances exceeding the maximum permissible concentrations (MPC) by 2 times or more. The main route of penetration of a toxic substance into the body is inhalational, it can also be absorbed through the skin.

Carbon disulfide is a polytropic poison, it has a narcotic effect, it affects the higher parts of the central nervous system, causes disturbances in the work of cardiovascular system, gastrointestinal tract, toxic hepatitis [2]. As the main damaging agent for carbon disulfide intoxication, both the toxicant itself and the products of its metabolism in the body — sulfates, oxidized and ether-bound sulfur fractions. The mechanism of the damaging action of carbon disulfide is diverse: it is able to bind to amino groups of proteins and amino acids, which leads to inactivation of enzyme systems containing func-

сульфаты, окисленные и эфирсвязанные фракции серы. Механизм повреждающего действия сероуглерода многообразен: он способен соединяться с аминоклупами белков и аминокислот, что приводит к инактивации ферментных систем, содержащих функционально-активные SH-группы, влияет на липидный обмен [3].

Перспективными средствами коррекции метаболических изменений, вызванных токсическими веществами, являются растительные фенольные соединения, оказывающие антирадикальное и антиоксидантное действие [4]. Природные ресурсы Дальнего Востока представляют широкие возможности для создания разнообразных фитопрепаратов. К таким препаратам относится водно-спиртовой экстракт из отжима (кожица, семена, оси соцветий) калины Саржента (*Viburnum sargentii* Koehne), в состав которого входит до 65 % фенольных соединений (олигомерные проантоцианидины, флавонолы, лейкоантоцианы, катехины и их полимерные формы, лигнин и др.). Экстракт из калины запатентован как средство, обладающее антирадикальной активностью (патент № 2220614).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния интоксикации сероуглеродом на биохимические показатели крови крыс и возможности их коррекции природными растительными фенольными соединениями из калины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракт из калины готовили с использованием в качестве экстрагента 40% этилового спирта. В процессе многократной реперколяции из 1 кг сырья выход экстракта составлял 1 л. Химический состав экстракта был исследован с помощью жидкостного хроматографа Controller LCC 500 (Pharmacia, Швеция). Содержание общих фенолов определяли с помощью реактива Фолина — Чокальтеу [5]. Готовый экстракт освобождали от спирта путем упаривания в вакууме, затем доводили дистиллированной водой до концентрации общих фенольных соединений в количестве 100 мг в 2 мл раствора. В качестве эталонного препарата сравнения использовали силимарин, который находится в капсулах коммерческого препарата Легалон® 140 (MADAUS AG, Германия). Лекарственная форма — капсулы (1 капсула Легалон® 140 содержит 173–188.7 мг сухого экстракта из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum*), эквивалентно 140 мг силимарина). Водный раствор экстракта калины вво-

дительно активные SH-группы; и affects lipid metabolism [3].

Plant phenolic compounds that have antiradical and antioxidant effects are promising agents of correcting metabolic changes caused by toxic substances [4]. The natural resources of the Far East provide ample opportunities for creating a variety of phytopreparations. Such preparations include water-alcohol extract from pomace and pressed plant material (skin, seeds, axes of inflorescences) of Sargent cranberrybush viburnum (*Viburnum sargentii* Koehne) which contains up to 65% of phenolic compounds (oligomeric proanthocyanidins, flavonoids, leucoanthocyanins, catechins and their polymer forms, lignin, etc.). The viburnum extract is patented as an anti-radical agent (patent No. 2220614).

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of carbon disulfide intoxication on the blood biochemical parameters of rats and the possibility of their correction with natural plant phenolic compounds from viburnum.

MATERIALS AND METHODS

The extract from viburnum was prepared using 40% ethyl alcohol as an extracting solvent. In the process of multiple repercolation from 1 kg of raw material, the extraction yield was 1 litre. The chemical composition of the extract was studied using a liquid chromatography Controller LCC-500 (Pharmacia, Sweden). The total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu phenol reagent [5]. The finished extract was freed from alcohol by evaporation in a vacuum, then brought with distilled water to a volume to achieve the concentration of total phenolic compounds 100 mg in 2 ml of solution. Silymarin, which is found in capsules of the Legalon® 140 commercial formulation (MADAUS AG, Germany), was used as a reference preparation for comparison. Dosage forms of the Legalon® 140 are capsules (1 capsule of Legalon® 140 contains 173–188.7 mg of dry extract from the fruits of milk thistle (*Silybum marianum*), equivalent to 140 mg of silymarin). An aqueous solution of the viburnum extract was administered intragastrically through a tube in an amount of 0.4 ml (100 mg of total phenols per 1 kg of animal weight) once a day. Silymarin was administered through a tube at the same dose as a suspension in 1% starch paste. The dose of 100 mg/kg corresponds to the known therapeutic dose for phenolic hepatoprotectors [6].

The experiment was performed on Wistar male rats weighing 180–200 g, that were kept in standard

дили через зонд внутрижелудочно в количестве 0.4 мл (100 мг общих фенолов на 1 кг массы животного) 1 раз в сутки. Силимарин вводили через зонд в той же дозе в виде взвеси в 1% крахмальном клейстере. Доза в 100 мг/кг соответствует известной терапевтической дозе для фенольных гепатопротекторов [6].

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Для интоксикации сероуглеродом животных помещали в специальную затравочную камеру, сконструированную по типу камер Б.А. Курляндского [7]. Концентрация сероуглерода в камере поддерживалась на уровне 2.0 мг/м³ (ПДК для сероуглерода в воздухе рабочей зоны составляет 1 мг/м³ (ГОСТ 12.1.005-88; ГН 2.2.5.1313-03)). Расход пропускаемого через камеру воздуха и сероуглерода равнялся не менее 10 л/мин. Время воздействия составляло 6 ч в сутки на протяжении 3 нед в монотонном режиме, кроме выходных дней, и определялось исходя из конкретных параметров моделирования условий труда на производстве.

В ходе эксперимента были сформированы 5 групп животных по 10 крыс в каждой: 1-я — контроль (интактные); 2-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед; 3-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед с последующей отменой в течение 7 сут; 4-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед, далее введение экстракта из калины в течение 7 сут; 5-я — интоксикация сероуглеродом в течение 3 нед, далее введение силимарина в течение 7 сут. Животных выводили из эксперимента методом декапитации под легким эфирным наркозом, после чего проводили взятие крови из шейной зоны с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

Состояние антиоксидантной системы оценивали по величине активности супероксиддисмутазы (код фермента (КФ) 1.15.1.1) [8], уровню восстановленного глутатиона, малонового диальдегида [9]. Активность β-галактозидазы (КФ 3.2.1.23) определяли по методу А.А. Покровского [10], активность аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2) — с помощью стандартных наборов BIO-LA-TEST (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехия). Определение содержания окисленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) проводили по методу, предложенному в [11, 12], содержание липопротеинов низкой и высокой

вивария conditions. For carbon disulfide intoxication, the animals were placed in a special exposure chamber designed according to the type of B.A. Kurlyandsky's chambers [7]. The concentration of carbon disulfide in the chamber was maintained at the level of 2.0 mg/m³ (MPC for carbon disulfide in the air of the working area is 1 mg/m³ (Nationalwide Standard 12.1.005-88; Hygienic Standards 2.2.5.1313-03)) [7]. The flow rate of air and carbon disulfide passed through the chamber was at least 10 l/min. The exposure time was 6 hours per day for 3 weeks in a monotonous mode, except for weekends, and was determined based on the specific parameters of working conditions modeling in the workplace.

During the experiment, 5 groups of animals were formed, 10 rats in each group: the 1st group was control (intact rats); the 2nd group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks; the 3rd group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by discontinuation for 7 days; the 4th group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by administration of the viburnum extract for 7 days; the 5th group was carbon disulfide intoxication for 3 weeks, followed by silymarin administration for 7 days. The animals were removed from the experiment by decapitation under brief ether anesthesia, after which the blood was taken from the neck vein in compliance with the rules and international recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and for Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The state of the antioxidant system was assessed by the activity of superoxide dismutase (Enzyme Commission number (EC number) 1.15.1.1) [8], the level of reduced glutathione, and malondialdehyde [9]. The activity of β-galactosidase (EC number 3.2.1.23) was determined by the A.A. Pokrovsky method [10], the activity of alanine aminotransferase (EC number 2.6.1.2) was determined using standard BIO-LA-TEST kits (PLIVA-Lachema Diagnostika, Czech Republic). The content of the oxidized form of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) was determined according to the method proposed in [11, 12], the content of low- and high-density lipoproteins was determined using standard Olvex Diagnostic kits (Russia). The content of total phospholipids in the extracts was determined by method of V.E. Vaskovsky et al. [13], the content of total cholesterol — by the method of one-dimensional microthin-layer chromatography [14]. The final result was expressed as a percentage of total lipids.

Statistical processing of the results of experimental studies was performed using the statistical

плотности — с помощью стандартных наборов «Ольвекс диагностикум» (Россия). Определение общих фосфолипидов в экстрактах проводили по методу V.E. Vaskovsky et al. [13], содержание общего холестерина — методом одномерной микротонкослойной хроматографии [14]. Окончательный результат выражали в процентах от количества общих липидов.

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили с использованием статистического пакета InStat 3.0 (GraphPad Software, США, 2005) с функцией проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий для межгрупповых сравнений в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-тест множественных сравнений Даннета, непараметрический *U*-критерий Манна — Уитни, а также *t*-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение биохимических показателей крови крыс после интоксикации сероуглеродом показало достоверные различия по сравнению с группой контроля. Отмечалось увеличение активности фермента печени аланинаминотрансферазы (АЛАТ) в 5 раз ($p < 0.001$) и цитозольного лизосомального фермента β -галактозидазы на 32 % ($p < 0.001$), т.е. интоксикация сероуглеродом сопровождалась увеличением проницаемости мембран гепатоцитов и лизосом, что способствует выходу ферментов в кровь (табл. 1).

Содержание НАД⁺ уменьшилось на 40 % ($p < 0.05$), что свидетельствует о снижении интенсивности реакций цикла Кребса и развитии тканевой гипоксии. При исследовании показателей системы антиоксидантной защиты отмечено снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) на 34 % ($p < 0.001$) и уровня восстановленного глутатиона (Г-SH) на 30 % ($p < 0.001$) при одновременном повышении количества малонового диальдегида (МДА) на 52 % ($p < 0.001$). Такое соотношение компонентов системы антиоксидантной защиты обусловлено ее истощением. Исследование липидной составляющей сыворотки крови после интоксикации сероуглеродом показало снижение общих фосфолипидов (ОФЛ) на 28 % ($p < 0.001$) при одновременном увеличении количества общего холестерина (ОХС) на 23 %

package InStat 3.0 (GraphPad Software Inc., USA, 2005) with the checking function of testing the samples for normality of distribution. To determine the statistical significance of the differences for intergroup comparisons depending on the distribution parameters the Dunnett parametric *t*-test of multiple comparisons, the Mann-Whitney nonparametric *U*-test, and the Student *t*-test were used. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

The study was approved by the Ethics Committee of the V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute.

RESULTS AND DISCUSSION

The study of the biochemical parameters of the rat blood after carbon disulfide intoxication showed significant differences compared to the control group. There was an increase in the activity of the liver enzyme, alanine aminotransferase (ALAT) by 5 times ($p < 0.001$) and the cytosolic lysosomal enzyme, β -galactosidase by 32% ($p < 0.001$), i.e., carbon disulfide intoxication was accompanied by an increase in the permeability of hepatocyte and lysosome membranes, which promotes the release of enzymes into the blood (Table 1).

The NAD⁺ content decreased by 40% ($p < 0.05$), which indicates a reduction in the intensity of the Krebs cycle reactions and the development of tissue hypoxia. The study of the antioxidant defense system's indicators showed a decrease in the activity of superoxide dismutase (SOD) by 34% ($p < 0.001$) and the level of reduced glutathione (G-SH) by 30% ($p < 0.001$), while the content of malondialdehyde (MDA) increased by 52% ($p < 0.001$). Such a ratio of the components of antioxidant defense system is due to its depletion. The study of the lipid profile of blood serum after carbon disulfide intoxication showed a decrease in total phospholipids (TP) by 28% ($p < 0.001$), while increasing the content of total cholesterol (TC) by 23% ($p < 0.001$). As a result, the TC/TP ratio increased by 71% ($p < 0.001$). These changes caused an increase in the content of low density lipoproteins (LDL) by 59% ($p < 0.001$), with a simultaneous decrease in high density lipoproteins (HDL) by 24% ($p < 0.001$). Thus, with carbon disulfide intoxication, dyslipidemia develops.

During the period of toxicant withdrawal (the 3rd group) within 7 days, the studied biochemical parameters did not recover to the control level (see Table 1). Thus, the ALAT activity was 4.7 times ($p < 0.001$), and the MDA value 55% ($p < 0.001$) higher in this group compared to the control. The values of NAD⁺, SOD, and G-SH remained at the level of those in the 2nd group, which was lower than the

Таблица 1. Биохимические показатели крови крыс в исследуемых группах ($M \pm m$)
Table 1. Biochemical parameters of the rat blood in the studied groups ($M \pm m$)

Показатели / Parameters	1-я группа (контроль) 1 st group (control)	2-я группа (CS ₂) 2 nd group (CS ₂)	3-я группа (CS ₂ с последующей отменой) 3 rd group (CS ₂ followed by discontinuation)	4-я группа (CS ₂ + экстракт калины) 4 th group (CS ₂ + viburnum extract)	5-я группа (CS ₂ + силимарин) 5 th group (CS ₂ + silymarin)
АЛАТ (мкмоль/мл · ч) АЛАТ (μmol/ml · h)	0.36 ± 0.03	1.89 ± 0.09 ³	1.71 ± 0.10 ³	0.40 ± 0.02 ^b	0.86 ± 0.05 ^{3c***}
β-галактозидаза (нмоль/мл · мин) β-galactosidase (nmol/ml · min)	5.86 ± 0.23	7.73 ± 0.21 ³	7.34 ± 0.26 ³	6.43 ± 0.31 ^a	6.97 ± 0.17 ²
НАД ⁺ (мкмоль/л) NAD ⁺ (μmol/l)	0.15 ± 0.01	0.09 ± 0.02 ¹	0.09 ± 0.01 ¹	0.14 ± 0.01 ^{1a}	0.12 ± 0.01 ^{1a}
СОД (ед./мг Hb) SOD (U/mg of Hb)	12.93 ± 0.78	8.52 ± 0.63 ³	7.47 ± 0.65 ³	11.86 ± 0.71 ^c	9.74 ± 0.57 ^{2a*}
Г-SH (нмоль/мг белка) G-SH (nmol/mg of protein)	1.76 ± 0.07	1.24 ± 0.02 ³	1.27 ± 0.04 ³	1.68 ± 0.03 ^c	1.42 ± 0.02 ^{3b***}
МДА (мкмоль/мл) MDA (μmol/ml)	6.20 ± 0.17	9.43 ± 0.28 ³	9.64 ± 0.24 ³	6.60 ± 0.13 ^c	8.11 ± 0.17 ^{3c***}
ОФЛ (% от общих липидов) TP (% from total lipids)	15.11 ± 0.49	10.87 ± 0.53 ³	10.8 ± 0.47 ³	14.64 ± 0.42 ^c	12.56 ± 0.38 ^{3b**}
ОХС (% от общих липидов) TC (% from total lipids)	13.78 ± 0.52	17.00 ± 0.54 ³	17.58 ± 0.40 ³	14.12 ± 0.45 ^c	15.61 ± 0.46 ^{1b*}
ОХС/ОФЛ TC/TP	0.91 ± 0.02	1.56 ± 0.03 ³	1.63 ± 0.03 ³	0.96 ± 0.03 ^c	1.24 ± 0.03 ^{3c***}
ЛПНП (г/л) LDL (g/l)	3.75 ± 0.12	5.97 ± 0.15 ³	6.20 ± 0.16 ³	4.04 ± 0.13 ^c	5.00 ± 0.08 ^{3c***}
ЛПВП (г/л) HDL (g/l)	3.19 ± 0.11	2.42 ± 0.09 ³	2.28 ± 0.05 ³	3.40 ± 0.10 ^c	2.76 ± 0.05 ^{2c***}

Примечания: Различия статистически значимы при: ¹ $p < 0.05$, ² $p < 0.01$, ³ $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ по сравнению с 3-й группой, ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$ по сравнению с 4-й группой.

АЛАТ — аланинаминотрансфераза; НАД⁺ — никотинамидадениндинуклеотид; СОД — супероксиддисмутаза; Г-SH — восстановленный глутатион; МДА — малоновый диальдегид; ОФЛ — общие фосфолипиды; ОХС — общий холестерин; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ЛПВП — липопротеины высокой плотности.

Note. The differences are statistically significant in: ¹ $p < 0.05$, ² $p < 0.01$, ³ $p < 0.001$ in comparison with the control; ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ in comparison with the 3rd group, ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$ in comparison with the 4th group.

АЛАТ — alanine transaminase; NAD⁺ — nicotinamide adenine dinucleotide; SOD — superoxide dismutase; G-SH — reduced glutathione; MDA — malondialdehyde; TP — total phospholipids; TC — total cholesterol; LDL — low density lipoproteins; HDL — high density lipoproteins.

($p < 0.001$). В результате соотношение ОХС/ОФЛ выросло на 71 % ($p < 0.001$). Эти изменения обусловили увеличение содержания липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) на 59 % ($p < 0.001$) с одновременным снижением липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) на 24 % ($p < 0.001$). Таким образом, при интоксикации сероуглеродом развивается дислипидемия.

В период отмены токсиканта (3-я группа) в течение 7 суток изученные биохимические показатели не восстановились до контрольного уровня (см. табл. 1). Так, активность АЛАТ в 4.7 раза ($p < 0.001$), а значение МДА на 55 % ($p < 0.001$) были выше в этой группе по сравнению с контролем. Значения НАД⁺, СОД и Г-SH остались на уровне таковых во 2-й группе, что было ниже контроля на 40 % ($p < 0.05$), 42 % ($p < 0.001$) и 28 % ($p < 0.001$) соответственно. Количество ОФЛ было также ниже, чем в группе контроля, на 29 % ($p < 0.001$), а количество ОХС — выше, чем в группе контроля, на 28 % ($p < 0.001$). В результате коэффициент ОХС/ОФЛ был на 79 % ($p < 0.001$) выше по сравнению с группой контроля. При этом величина ЛПНП возросла на 65 % ($p < 0.001$), тогда как значение ЛПВП уменьшилось на 29 % ($p < 0.001$). Таким образом, в период отмены токсиканта сохраняется дислипидемия.

Анализ биохимических показателей крови крыс при введении экстракта калины в период отмены интоксикации сероуглеродом (4-я группа) показал отсутствие статистически достоверных отклонений от группы контроля, тогда как при введении силимарина (5-я группа) отмечались достоверные отличия по ряду показателей (см. табл. 1). Так, активность АЛАТ в группе 5 была выше по сравнению с группой контроля в 2.3 раза ($p < 0.001$), а активность СОД была ниже на 25 % ($p < 0.01$). Величина Г-SH была снижена на 20 % ($p < 0.001$) при одновременно повышенном уровне МДА (на 31 %, $p < 0.001$), т.е. в период отмены не происходило полного восстановления системы антиоксидантной защиты организма. Значение НАД⁺ было ниже в сравнении с группой контроля на 20 % ($p < 0.05$), что свидетельствует о сохранении тканевой гипоксии. Количество ОФЛ было снижено на 17 % ($p < 0.001$), тогда как количество ОХС было выше по сравнению с группой контроля на 13 % ($p < 0.05$), что обусловило повышенное значение соотношения ОХС/ОФЛ. Величина ЛПНП была на 13 % ($p < 0.001$) выше, чем в группе контроля, тогда как уровень ЛПВП был ниже на 14 % ($p < 0.01$). Таким образом, при введении силимарина в период отмены интоксикации сохраняется состояние дислипидемии.

control by 40% ($p < 0.05$), 42% ($p < 0.001$), and 28% ($p < 0.001$) respectively. The TP level was also 29% lower than in the control group ($p < 0.001$), while the TC — 28% higher than in the control group ($p < 0.001$). As a result, the TC/TP ratio was 79% ($p < 0.001$) higher than in the control group. At the same time, the LDL value increased by 65% ($p < 0.001$), while the HDL value decreased by 29% ($p < 0.001$). Thus, during the withdrawal period dyslipidemia persists.

Analysis of the biochemical parameters of the rat blood with the administration of the viburnum extract during the withdrawal of carbon disulfide intoxication (the 4th group) showed no statistically significant deviations from the control group, while with the administration of silymarin (the 5th group) there were significant differences in a number of parameters (see Table 1). Thus, the activity of ALAT in the 5th group was 2.3 times higher compared to the control group ($p < 0.001$), and that of SOD was 25% lower ($p < 0.01$). The value of G-SH was lower by 20% ($p < 0.001$) with a simultaneous increase in MDA level (by 31%, $p < 0.001$), i.e., during the withdrawal period there was no complete recovery of the body's antioxidant defense system. The NAD⁺ value was 20% lower in comparison with the control group ($p < 0.05$), which indicates the tissue hypoxia persistence. The TP level decreased by 17% ($p < 0.001$), while that of TC was 13% higher as compared to the control group ($p < 0.05$), which led to an increase of the TC/TP ratio. The LDL value was 13% ($p < 0.001$) higher than in the control group, while the HDL level was 14% lower ($p < 0.01$). Thus, when silymarin is administered during the withdrawal of intoxication, the state of dyslipidemia persists.

At the same time, when comparing the studied biochemical parameters in the group with the subsequent withdrawal of intoxication (the 3rd group) with the 4th and 5th groups, the animals of which were injected with the viburnum extract and silymarin respectively, significant differences were revealed. Thus, the activity of ALAT with the administration of viburnum extract compared to the same indicator in the 3rd group was reduced by 77% ($p < 0.001$), and with the administration of silymarin — by 50% ($p < 0.001$). The activity of β -galactosidase decreased by 12% ($p < 0.05$) when the viburnum extract was administered, and by 5% — when silymarin was administered. The level of oxidized NAD⁺ with the administration of the viburnum extract increased by 44% ($p < 0.01$), and with the administration of silymarin — by 22% ($p < 0.05$). The activity of SOD in the rat blood of the 4th group increased by 59% ($p < 0.001$), while in the 5th group — by 30%

В то же время при сравнении исследованных биохимических показателей в группе с последующей отменой интоксикации (3-я группа) с группами 4 и 5, животным которых вводили экстракт калины и силимарин, были выявлены достоверные отличия. Так, активность АЛАТ при введении экстракта калины по сравнению с аналогичным показателем в 3-й группе была снижена на 77 % ($p < 0.001$), а при введении силимарина — на 50 % ($p < 0.001$). Активность β -галактозидазы при введении экстракта калины снизилась на 12 % ($p < 0.05$), а при введении силимарина — на 5 %. Уровень окисленного НАД⁺ при введении экстракта калины увеличился на 44 % ($p < 0.01$), а при введении силимарина — на 22 % ($p < 0.05$). Активность СОД в крови крыс 4-й группы увеличилась на 59 % ($p < 0.001$), тогда как в 5-й группе — на 30 % ($p < 0.05$). Значение Г-SH в крови крыс 4-й группы возросло на 32 % ($p < 0.001$), а в 5-й группе — на 12 % ($p < 0.01$). Содержание МДА снизилось на 32 % ($p < 0.001$) при введении экстракта калины, тогда как при введении силимарина — на 16 % ($p < 0.001$). Следует отметить, что в 4-й группе количество ОФЛ выросло на 36 % ($p < 0.001$), а количество ОХС снизилось на 20 % ($p < 0.001$). В 5-й группе количество ОФЛ увеличилось на 16 % ($p < 0.01$), а количество ОХС снизилось на 11 % ($p < 0.01$). Обращает на себя внимание тот факт, что значение соотношения ОХС/ОФЛ в 4-й группе было ниже аналогичного показателя в 3-й группе на 41 % ($p < 0.001$), тогда как в 5-й группе — на 24 % ($p < 0.001$). Величина ЛПНП в 4-й группе уменьшилась на 35 % ($p < 0.001$) при одновременном увеличении количества ЛПВП на 49 % ($p < 0.001$). В 5-й группе значение ЛПНП снизилось на 19 % ($p < 0.001$), а ЛПВП увеличилось на 21 % ($p < 0.001$).

При сравнении величин исследованных биохимических показателей между 4-й и 5-й группами отмечались достоверные различия, которые свидетельствовали о большей эффективности экстракта калины в коррекции метаболических изменений по сравнению с препаратом сравнения силимарином.

Известно, что при химическом стрессе в результате инактивации катехоламинов и радикалов химических токсикантов в системе цитохрома Р-450 избыточно образуются супероксиданионы, что обуславливает истощение системы антиоксидантной защиты организма. В то же время интенсивный распад глюкозы под действием стресса приводит к накоплению восстановленных никотинамидных эквивалентов (НАДН и НАДФН) и дефициту их окисленной формы, что

($p < 0.05$). The value of G-SH in the rat blood of the 4th group increased by 32% ($p < 0.001$), and in the 5th group — by 12% ($p < 0.01$). The MDA content decreased by 32 % ($p < 0.001$) with the administration of the viburnum extract, while with silymarin administration — by 16% ($p < 0.001$). It should be noted that in the 4th group, the TP level increased by 36% ($p < 0.001$), and TC decreased by 20% ($p < 0.001$). In the 5th group, the TP increased by 16% ($p < 0.01$), and TC decreased by 11% ($p < 0.01$). It is noteworthy that the TP/TC ratio in the 4th group was lower than the same indicator in the 3rd group by 41% ($p < 0.001$), while in the 5th group — by 24% ($p < 0.001$). The LDL values in the 4th group decreased by 35% ($p < 0.001$), while the HDL increased by 49% ($p < 0.001$). In the 5th group, LDL decreased by 19% ($p < 0.001$), and HDL increased by 21% ($p < 0.001$).

When comparing the values of the studied biochemical parameters between the 4th and 5th groups significant differences were noted, which indicated a greater effectiveness of viburnum extract in correction of metabolic changes in comparison with the reference preparation, silymarin.

It is known that under chemical stress, as a result of inactivation of catecholamines and radicals of chemical toxicants, superoxide anions are formed in the cytochrome P-450 system excessively, which leads to the depletion of the body's antioxidant defense system. At the same time, the intensive glycolysis under the influence of stress leads to the accumulation of reduced nicotinamide equivalents (NADH and NADPH) and a deficiency of their oxidized form, which causes a shift in the balance of the redox system [15]. As a result, aerobic glycolysis processes are blocked and the ATP synthesis by the carbohydrate pathway is decreased. The increase in cholesterol levels can be explained by the activation of its synthesis from the resulting acetyl-CoA during lipolysis since its oxidation to CO₂ and H₂O in the Krebs cycle is blocked due to a decrease in the activity of NAD⁺-dependent dehydrogenases.

One of the most important mechanisms of action of phenolic complexes is the inhibition of the processes of lipid peroxidation, due to their ability to scavenge free oxygenic and peroxy radicals, which hindered the processes of lipid peroxidation. The phenomenon of cholesterol decrease is explained by the fact that the molecules of phenolic compounds activate the enzyme 7 α -cholesterol hydroxylase: it is involved in the oxidation of cholesterol to bile acids [16], and favors the reversal of dyslipidemia.

The comparison preparation, silymarin, showed a lower effect in the course of the study than

вызывает сдвиг баланса окислительно-восстановительной системы [15]. В результате блокируются аэробные процессы гликолиза и снижается синтез АТФ по углеводному пути. Увеличение уровня холестерина можно объяснить активацией его синтеза из образующегося ацетил-КоА при липолизе, так как блокируется его окисление до CO_2 и H_2O в цикле Кребса из-за снижения активности NAD^+ -зависимых дегидрогеназ.

Одним из важнейших механизмов действия фенольных комплексов является угнетение процессов перекисного окисления липидов, благодаря их способности улавливать свободные оксигенные и пероксильные радикалы, что сдерживает процессы перекисного окисления липидов. Феномен снижения уровня холестерина объясняется тем, что молекулы фенольных соединений активируют фермент 7α -холестерингидроксилазу, участвующую в окислении холестерина в желчные кислоты [16], что способствует устранению дислипидемии.

Препарат сравнения силимарин показал в ходе проведенного исследования меньший эффект, чем экстракт калины. Известно, что в состав силимарина входит активная группа изомерных флавоноидных соединений (силибинин, силикретин, силидианин), не образующих олигомерных форм. В составе экстракта калины входят олигомерные формы проантоцианидинов, обладающие высокой биодоступностью и антирадикальной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Токсическое действие сероуглерода вызывает изменение исследуемых биохимических показателей крови. Введение экстракта из калины и силимарина сопровождалось их восстановлением до уровня контрольной группы, но более выраженный эффект отмечался у экстракта из калины за счет присутствия в его составе олигомерных форм полифенолов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дашина М.Г., Тимошников Н.Н., Новикова Ю.Ю. Нарушения психической деятельности у больных с хронической интоксикацией сероуглеродом // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2010. Т. 5, № 1. С. 324–327.
2. Liu C.H., Huang C.Y., Huang C.C. Occupational neurotoxic diseases in Taiwan // Saf. Health Work. 2012. Vol. 3 (4). P. 257–267.
3. Wrońska-Nofer T., Chojnowska-Jezierska J., Nofer J.R., Hałatek T., Wiśniewska-Knypl J. Increased oxidative stress in subjects exposed to carbon disulfide

the viburnum extract. It is known that silymarin contains an active group of isomeric flavonoid compounds (silybinin, silychristin, silydianin) that do not create oligomeric forms. Oligomeric forms of proanthocyanidins, which have high bioavailability and anti-radical activity are a part of the viburnum extract.

CONCLUSION

The toxic effect of carbon disulfide causes a change in the studied biochemical parameters of the blood. The administration of the viburnum extract and silymarin was accompanied by their recovery to the level of the control group, but a more pronounced effect was observed in the viburnum extract due to the presence of oligomeric forms of polyphenols in its composition.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out within the framework of Effect of Natural and Anthropogenic Factors on Biogeochemical Processes and the State of Biota in Marine Ecosystems scientific program of the V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Registration No. AAAA-A17-117030110038-5.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено за счет бюджетных средств по научной программе Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева «Влияние природных и антропогенных факторов на биогеохимические процессы и состояние биоты в морских экосистемах», регистрационный номер AAAA-A17-117030110038-5.

REFERENCES

1. Dashina M.G., Timoshnikova N.N., Novikova Yu.Yu. (2010). Mental disorders in patients with chronic carbon disulfide intoxication. *Health is the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve*, 5, 1, 324–327. In Russ.
2. Liu C.H., Huang C.Y., Huang C.C. (2012). Occupational neurotoxic diseases in Taiwan. *Saf. Health Work*, 3 (4), 257–267.
3. Wrońska-Nofer T., Chojnowska-Jezierska J., Nofer J.R., Hałatek T., Wiśniewska-Knypl J. (2002). Increased oxidative stress in subjects exposed to carbon

- (CS₂) — an occupational coronary risk factor // Arch. Toxicol. 2002. Vol. 76. P. 152–157.
4. Packer L., Rimbach G., Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 27 (5–6). P. 704–724.
 5. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // Meth. Enzym. 1999. Vol. 299. P. 152–178.
 6. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатопротективных средств // Вестник Фарм. Комитета. 1999. № 2. С. 9–12.
 7. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / под ред. И.В. Санюцкого. М.: Медицина, 1970. 344 с.
 8. Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts // Anal. Biochem. 1986. Vol. 154 (2). P. 536–541.
 9. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «Перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита» в биологических жидкостях: учеб. пособие. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2003. 80 с.
 10. Биохимические методы исследования в клинике / под ред. А.А. Покровского. М.: Медицина, 1969. 652 с.
 11. Klingenberg M. Determination of NAD⁺ // Methods of Enzymatic Analysis / ed. by H.U. Bergmeyer. Basel: Verlag Chemie, 1983. Vol. 7. P. 253–257.
 12. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Минск: Беларусь, 1982. 336 с.
 13. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. 1975. Vol. 114 (1). P. 129–141.
 14. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. 1964. Vol. 5 (2). P. 270–272.
 15. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95, № 7. С. 678–681.
 16. Yang T.T., Koo M.W. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal excretion // Life Sci. 2000. Vol. 66 (5). P. 411–423.
 - disulphide (CS₂) — an occupational coronary risk factor. Arch. Toxicol., 76, 152–157.
 4. Packer L., Rimbach G., Virgili F. (1999). Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. Free Radic. Biol. Med., 27 (5–6), 704–724.
 5. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Meth. Enzym., 299, 152–178.
 6. Vengerovsky A.I., Markova I.V., Saratikov A.S. (1999). Preclinical study of hepatoprotective agents. Journal of Pharmaceutical Committee, 2, 9–12. In Russ.
 7. Sanotsky I.V. (ed.) (1970). Methods for the Determination of Toxicity and Danger of Chemicals (Toxicometry). Moscow, 344 p. In Russ.
 8. Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. (1986). A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. Anal. Biochem., 154 (2), 536–541.
 9. Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yankova V.I. (2003). Guide to Methods for Studying the Parameters of the "Lipid Peroxidation — Antioxidant Protection" System in Biological Fluids. Vladivostok, 80 p. In Russ.
 10. Pokrovsky A.A. (ed.) (1969). Biochemical Research Methods in the Clinic. Moscow, 652 p. In Russ.
 11. Klingenberg M. (1983). Determination of NAD⁺ (pp. 253–257). In Bergmeyer H.U. Methods of Enzymatic Analysis. Basel: Verlag Chemie.
 12. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. (1982). Clinical Chemistry Handbook. Minsk, 336 p. In Russ.
 13. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. (1975). A universal reagent for phospholipid analysis. J. Chromatogr., 114 (1), 129–141.
 14. Amenta J.S. (1964). A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. J. Lipid Res., 5 (2), 270–272.
 15. Momot T.V., Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A. (2016). Prevention of deteriorations of blood biochemical indices in experimental stress in rats. Hygiene and Sanitation, 95, 7, 678–681.
 16. Yang T.T., Koo M.W. (2000). Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion. Life Sci., 66 (5), 411–423.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Другова Елена Сергеевна — доцент Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Владивосток); научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

Кушнерова Наталья Федоровна — д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

Мерзляков Валерий Юрьевич — научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

ABOUT THE AUTHORS

Drugova Elena Sergeevna — Associate Professor, Far Eastern Federal University, School of Biomedicine; Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

Kushnerova Natalya Fedorovna — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

Merzlyakov Valery Yuryevich — Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

Fomenko Svetlana Evgenyevna — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

Sprygin Vladimir Gennadyevich — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

Фоменко Светлана Евгеньевна — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

Спрыгин Владимир Геннадьевич — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

Момот Татьяна Викторовна — д-р мед. наук, директор департамента медицинской биохимии и биофизики Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Владивосток).

Образец цитирования: Другова Е.С., Кушнерова Н.Ф., Мерзляков В.Ю., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Влияние интоксикации сероуглеродом на биохимические показатели крови и их коррекция растительными фенольными соединениями в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 2. С. 15–25.

Momot Tatyana Viktorovna — Dr. Sci. (Med.), Head, Medical Biochemistry and Biophysics Department, Far Eastern Federal University, School of Biomedicine (Vladivostok).

Citation example: Drugova E.S., Kushnerova N.F., Merzlyakov V.Yu., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Momot T.V. (2021). Influence of carbon disulfide intoxication on blood biochemical parameters and their correction by plant phenolic compounds in experiment. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 2, 15–25.

