

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ НЕФЕРМЕНТАТИВНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ

Осинкина Татьяна Владимировна

канд. биол. наук, ФГБОУ ВО «Оренбургский
государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения

osinkina12@mail.ru

ANALYSIS OF CHANGES IN THE PARAMETERS OF THE NON- ENZYMATIC ANTIOXIDANT SYSTEM OF HIGHER PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS

T. Osinkina

Summary. The article presents the results of a model experiment to assess the impact of PCBs: Sovol solution (a mixture of tetra-, penta- and hexa-PCBs) in concentrations of 0.0005; 0.001; 0.0012 mg/l on plants of the species annual sunflower (*Heliánthus ánnuus*) and shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik). The material for the study was sprouts, leaves and flowers of the studied plants of different ages. The content of pigments and hydroxycinnamic acids was determined in the samples by the spectrophotometric method, for lycopene and β -carotene against n-hexane, for chlorogenic and caffeic acids against ethyl alcohol. The aim of the work was to analyze the effect of PCBs on the indices of the non-enzymatic antioxidant system of annual sunflower (*Heliánthus ánnuus*) and shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) in a model experiment. For sunflower, by the flowering period, the amount of chlorogenic acid increased by 62 times, caffeic acid by 13.5 times. The increase in the content of β -carotene and lycopene was also characterized by positive dynamics: for β -carotene, the values varied within 0.0077–1.987 mg/l, for lycopene 0.0037–1.943 mg/l. By the time of flowering, the content of β -carotene increased by 25.8 times, lycopene by 22.3 times. The content indicators for hydroxycinnamic acids in shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) increased from the seedling stage to flowering: for chlorogenic acid within 0.005–0.07 %, for coffee acid 0.005–0.089 %. Based on the excess of lycopene in comparison with β -carotene, it follows that lycopene slowly cyclizes into β -carotene and, therefore, acts in the plant, apparently, together with antioxidant enzymes and hydroxycinnamic acids under the influence of elevated concentrations of PCBs — 0.001 mg / l and 0.0012 mg / l. It has been shown that PCBs affect the amount of β -carotene and lycopene even in the case of low concentrations of PCBs during their initial entry into the plant.

Keywords: lycopene, β -carotene, chlorogenic acid, caffeic acid, polychlorinated biphenyls, toxicants, shepherd's purse, sunflower.

Аннотация. В статье отражены результаты модельного эксперимента по оценке влияния ПХБ: раствор Совола (смесь тетра-, пента- и гекса-ПХБ) в концентрациях 0,0005; 0,001; 0,0012 мг/л на растения видов подсолнечник однолетний (*Heliánthus ánnuus*) и пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik). В качестве материала исследования выступили проростки, листья и цветки исследуемых растений разных возрастов. Содержание пигментов и гидроксициричных кислот определяли в образцах спектрофотометрическим методом, для ликопина и β -каротина против н-гексана, для хлорогеновой и кофейной кислот против этилового спирта. Цель работы — анализ воздействия ПХБ на показатели неферментативной антиоксидантной системы подсолнечника однолетнего (*Heliánthus ánnuus*) и пастушьей сумки обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) в модельном эксперименте. Для подсолнечника к периоду цветения количество хлорогеновой кислоты возросло в 62 раза, кофейной в 13,5 раза. Рост содержания β -каротина и ликопина характеризовался также положительной динамикой: для β -каротина значения варьировали в пределах 0,0077–1,987 мг/л, для ликопина 0,0037–1,943 мг/л. К моменту цветения содержание β -каротина возросло в 25,8 раза, ликопина в 22,3 раза. Показатели содержания для гидроксициричных кислот в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) росли от стадии проростков к цветению: для хлорогеновой кислоты в пределах 0,005–0,07 %, для кофейной 0,005–0,089 %. Исходя из превышения ликопина в сравнении с β -каротином, следует, что ликопин медленно циклизуется в β -каротин и, следовательно, действует в растении, по-видимому, совместно с антиоксидантными ферментами и гидроксициричными кислотами при действии повышенных концентраций ПХБ — 0,001 мг/л и 0,0012 мг/л. Показано, что ПХБ влияют на количество β -каротина и ликопина даже в случае малых концентраций ПХБ при их первичном поступлении в растение.

Ключевые слова: ликопин, β -каротин, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, полихлорированные бифенилы, токсиканты, пастушья сумка обыкновенная, подсолнечник однолетний.

Введение

Высшие растения, в соответствии с результатами многочисленных экспериментов, являются организмами, способными использовать аэрогенный механизм поглощать водо- и газопылевые фракции токсических соединений различного генеза из среды обитания [7, с. 201]. Однако поступление в растительный организм экзогенных ксенобиотиков вызывает разнообразные изменения физиолого-биохимических, морфологических, анатомических параметров: отклонения от биологических норм которых влекут за собой некоторые значительные перестройки метаболизма растений. В частности, подобные воздействия могут спровоцировать уменьшение выработки клетками растений защитных факторов — биологически активных веществ, служащих с одной стороны факторами иммунитета растений, с другой стороны, определяющие ценность растения для медицины и фармации. Данные изменения в конечном итоге могут отразиться и на жизнеспособности организма [9, с. 195].

Опасным последствием воздействия аэротехногенных выбросов горнодобывающей и перерабатывающей промышленности, а также транспорта на растительные организмы следует расценивать развитие окислительного стресса [9, с. 198]. Процесс запускается и, зачастую, поддерживается действием активных форм кислорода (АФК), образование которых сопровождается, как правило, проникновением в клетки организма различных поллютантов, способных вызывать и поддерживать свободнорадикальные процессы, перекисного окисления липидов (ПОЛ), окисления белков (стойкая окислительная денатурация), повреждение и искажение структуры ДНК [6, с. 268; 12, с. 1294].

Материалы и методы

Анализ состояние антиоксидантных систем наземных растений важен для изучения степени воздействия ПХБ в небольших концентрациях, обнаруживаемых в природных средах и, так или иначе, аккумулируемых растениями через почвенный слой. В модельном эксперименте при действии раствора Совола (смесь тетра-, пента- и гекса-ПХБ) с концентрацией 0,0005; 0,001; 0,0012 мг/л анализировались показатели пигментов и гидроксикоричных кислот в растениях на этапах «проростков», «вегетации» и «цветения». Данные концентрации соответствовали минимальному (0,0005 мг/л), максимальному содержанию (0,0012 мг/л) ПХБ в реке Урал, определенному ранее [5, с. 140]. В качестве тест-объектов для исследования были выбраны виды наземных растений — подсолнечник однолетний (*Heliánthus ánnuus*) и пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik), относящиеся к классу двудольных. Выбор растений определялся исходя из достаточно ши-

рокого распространения рассматриваемых видов и применения их в качестве источников биологически активных соединений.

Содержание гидроксикоричных кислот определяли спектрофотометрическим методом в соответствии со стандартными методиками пробоподготовки растительного сырья [4, с. 285–287].

Сумму гидроксикоричных кислот вычисляли по формуле:

$$X, \% = \frac{A \times 50 \times 100 \times 100}{E_{1\%1\text{ см}} \times m \times 1 \times 100 - w}$$

где A — оптическая плотность испытуемого раствора; — удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при длине волны 330 нм, равный 507; для кофейной кислоты 325 нм, m — навеска сырья, г; 1 — объем экстракта, взятого для разведения, мл; 100, 50 — объемы мерных колб, используемых для анализа, мл; W — влажность сырья, %.

Определение каротиноидов проводили спектрофотометрическим методом на приборе ПЭВИ 5300, измерения проводили в кюветах с длиной оптического пути 10 мм против гексана. Точное содержание отдельных каротиноидов устанавливали по формулам (Muratore et al, 2005), пробоподготовка растительного сырья осуществлялась в соответствии со стандартными методами [4, с. 288]:

$$C_k = 462 * D_{451} - 309 * D_{503} \text{ (для гексановых фракций)}$$

где C_k — концентрация каротиноидов (β -каротина) (мг/л), E_{451} — оптическая плотность каротиноидов при длине волны 451 нм, соответственно; E_{503} — оптическая плотность каротиноидов при длине волны 503 нм, соответственно.

Содержание пигмента ликопина (мг/л) определяют по формуле:

$$C_{lik} = 395 * D_{503} - 80,5 * D_{451}$$

где C_{lik} — концентрация ликопина (мг/л), E_{451} — оптическая плотность ликопина при длине волны 451 нм, соответственно; E_{503} — оптическая плотность ликопина при длине волны 503 нм, соответственно.

Статистическую обработку результатов эксперимента производили с использованием пакета MS Excel 2010 «Анализ данных» (Microsoft, USA).

Литературный обзор

Среди групп соединений, индуцирующих повышенный риск экзогенного окислительного стресса, следует

рассматривать группу ПХБ (полихлорированных бифенилов). Полихлорированные бифенилы — обширная группа органических соединений, относящихся к классу ароматических, химически инертных хлорированных углеводородов, включающая в себя все хлорзамещенные производные дифенила [10, с. 593].

Выраженная химическая инертность, незначительная летучесть, негорючесть, высокая диэлектрическая константа обеспечили ПХБ широкое распространение в различных отраслях промышленности [8, с. 10–12]. Впервые соединения стали производиться в 1929 г. и широко использовались в Японии, СССР, Восточной и Западной Европе до начала 1970 г. [2, с. 50–51]. Около 60–65 % ПХБ применялись в закрытых системах, связанных с переносом тепла и электроэнергии, 25 % — как пластификатор при изготовлении прозрачной копировальной бумаги и менее 6 % при производстве различных пестицидов [11, с. 646–647]. В настоящее время открытое применение ПХБ запрещено, но значительное количество их содержится в крупногабаритном оборудовании с длительным сроком эксплуатации (трансформаторы, конденсаторы). В клетки организма человека ПХБ и их компоненты поступают, в частности, с пищей (до 97 %) [8, с. 9]. Их выявляют в пищевых продуктах животного и растительного происхождения, значительно в грудном молоке и крови младенцев [3, с. 353]. Полихлорированные бифенилы — это выраженные суперэкоотоксиканты, оказывающие стойкое общетоксическое, мутагенное и канцерогенное действие, ухудшающие репродуктивную функцию различных организмов, а также нарушающие различные звенья работы и структуры эндокринной системы, в частности, железистую ткань. Важно, что степень токсического воздействия зависит от структуры молекул ПХБ и количества атомов хлора: наибольший токсический эффект оказывают планарные конденсированные соединения с 4, 5 или 6 атомами хлора, которые наиболее подвижны и реакционноспособны в данных положениях [7, с. 204; 10, с. 594]. Длитель-

ное воздействие ПХБ приводит к снижению иммунной устойчивости не только теплокровных организмов, но и растений, в частности. Так, в регионах, загрязненных ПХБ, фиксируется резкое уменьшение напряженности поствакцинального иммунитета против бактериальных инфекций: дифтерии, столбняка и кори у детей, прошедших вакцинацию по возрастным схемам. Установлено уменьшение численности детей, имеющих адекватные защитные титры антител, а также возрастает относительное число детей, практически не имеющих антител после иммунизации [6, с. 342; 1, с. 3]. В результатах экспериментов описан вероятный механизм токсического действия ПХБ, основанный на активизации содержащей цитохром Р-450 монооксигеназной системы. Она отвечает за окислительный метаболизм ксенобиотиков гидрофобной природы и способствует за счет увеличения числа гидроксильных групп повышению растворимости токсикантов и естественному выводу из организма [7, с. 202; 13, с. 35].

Результаты и обсуждение

По результатам анализа содержания гидрохлорогеновых кислот в пересчете на хлорогеновую и кофейную установлено, что количество хлорогеновой варьировало в пределах от 0,004 до 1,05 г/мл, кофейной от 0,002 до 0,0075 г/мл (рис. 1).

К периоду цветения количество хлорогеновой кислоты возросло в 62 раза, кофейной в 13,5 раза (рис. 2). Учитывая результаты экспериментов, проведенных ранее — активность антиоксидантных ферментов при повышении концентрации ПХБ до 0,0005 мг/л, снижалась, повышенное содержание хлорогеновой и кофейной кислот как активных соединений, обладающих выраженной антиоксидантной активностью выступало защитным механизмом для стабилизации и снижения уровня АФК (активных форм кислорода) и радикалов в клетках при цветении подсолнечника. Резкое повышение concentra-

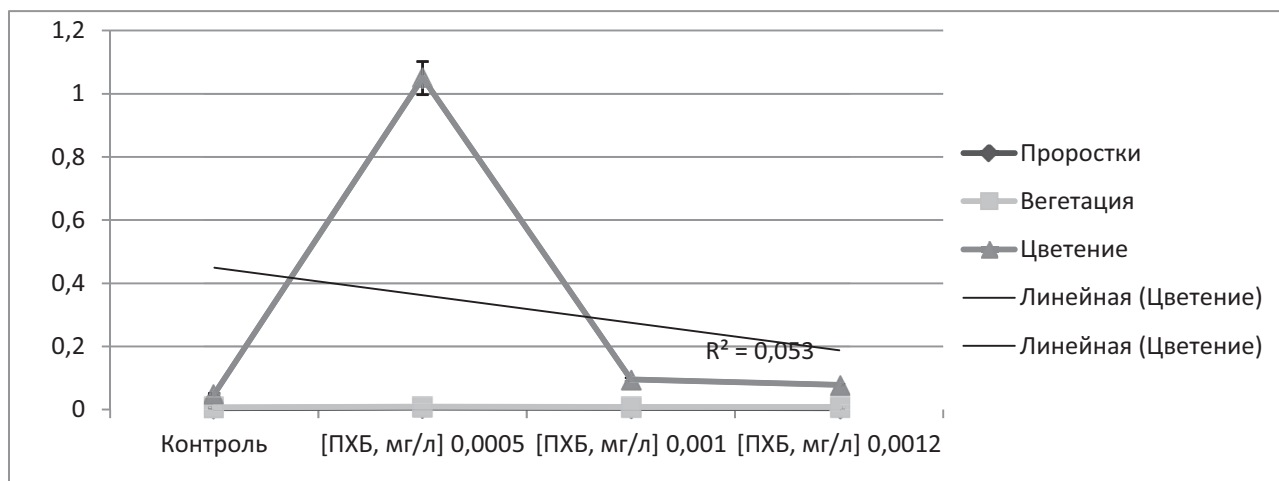
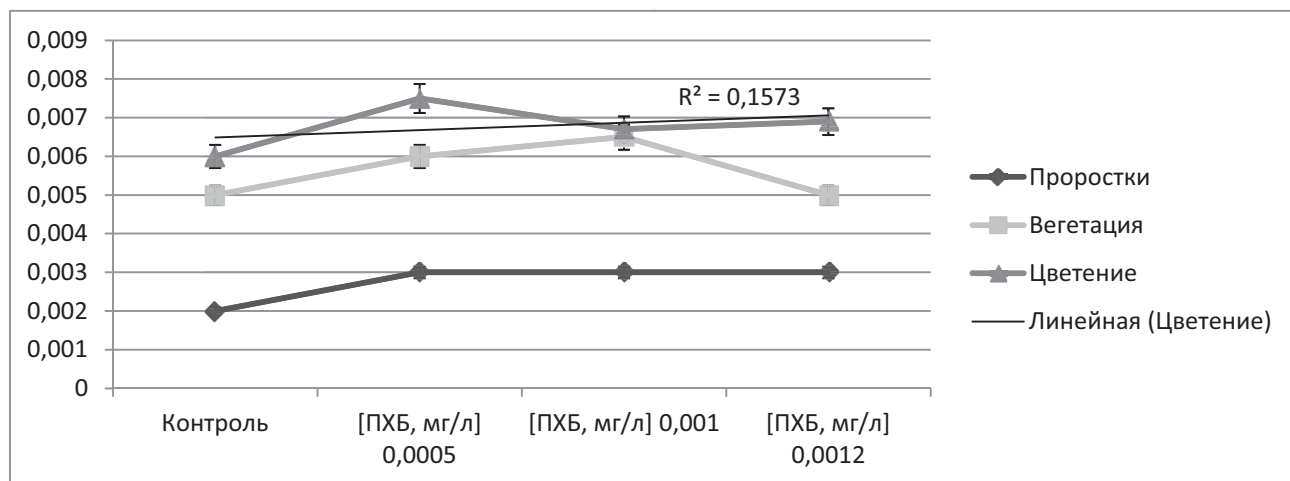
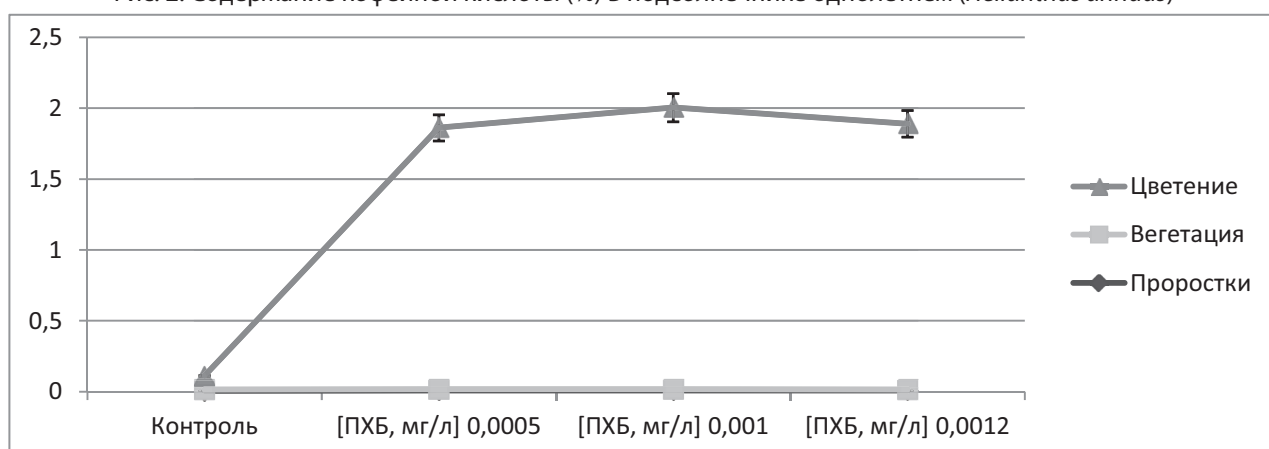
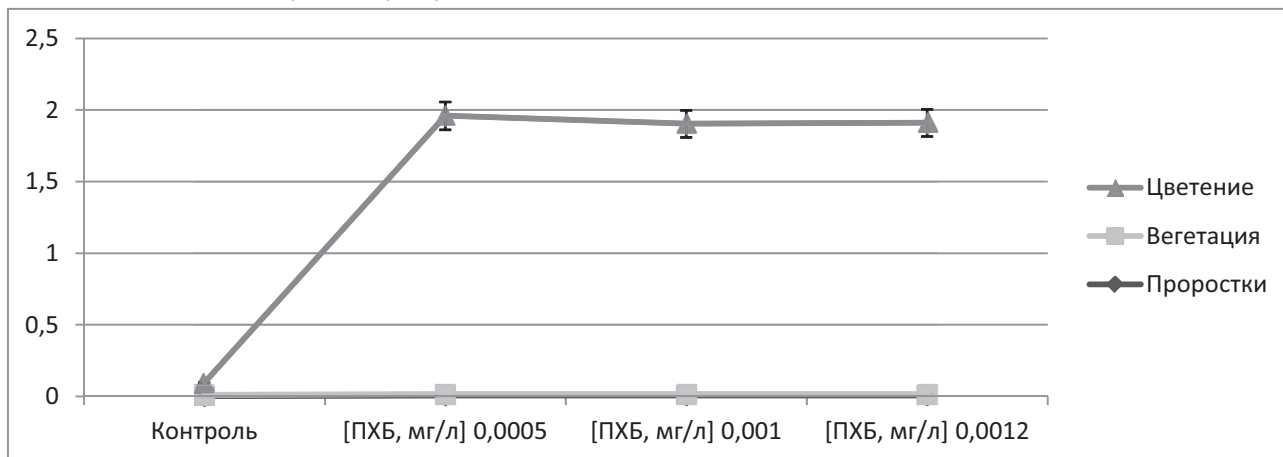


Рис. 1. Содержание хлорогеновой кислоты (%) в подсолнечнике однолетнем (*Helianthus annuus*)

Рис. 2. Содержание кофейной кислоты (%) в подсолнечнике однолетнем (*Helianthus annuus*)Рис. 3. Содержание β-каротина (мг/л) в подсолнечнике однолетнем (*Helianthus annuus*)Рис. 4. Содержание ликопина (мг/л) в подсолнечнике однолетнем (*Helianthus annuus*)

ции хлорогеновой и кофейной кислот при первичном попадании ПХБ (0,0005 мг/л) в растении на этапе цветения подтверждает факт «включения» неферментативной антиоксидантной защиты подсолнечника однолетнего от оксидативного стресса в условиях снижения активности антиоксидантных ферментов, видимо, по причине токсического действия ПХБ на их активные центры. Это пример компенсаторного действия механизмов защиты

растения в условиях острой интоксикации экзогенными поллютантами.

К компонентам неферментативной антиоксидантной защиты также относятся β-каротин и его предшественник ликопин. Рост количеств β-каротина и ликопина характеризовалось сходной положительной динамикой: для β-каротина значения варьировали в пределах

0,0077–1,987 мг/л (рис. 3), для ликопина 0,0037–1,943 мг/л (рис. 4). К моменту цветения содержание β -каротина возросло в 25,8 раза, ликопина в 22,3 раза. Так как числовые значения пигментов различались незначительно и изменялись практически синхронно, следует предполагать активный метаболизм пигментов, направленный на защиту растения от АФК в условиях действия ПХБ.

Показатели количественного содержания для гидроокислоричных кислот в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) росли от стадии проростков к цветению: для хлорогеновой кислоты в пределах 0,005–0,07 % (рис. 5), для кофейной 0,005–0,089 % (рис. 6).

Достоверный рост содержания хлорогеновой кислоты в соответствии с линией тренда по показателю аппроксимации отмечен для стадии проростков и вегетации: значение близко к 1 (0,766) в проростках и соответствует значению 0,695 для вегетации. Кофейная кислота в растении, как правило, сопровождается изомеры хлорогеновой кислоты и обладает выраженной анти-

оксидантной активностью при снижении pH клеточного сока в пределах 6,5–6,8 в случае роста концентраций H^+ в клетках при токсических или механических повреждениях растения.

Особо подобные явления характерны для периода наращивания вегетативной массы и подготовке к бутонизации, сопровождающейся выработкой растением абсцизовой, муравьиной кислот и ауксина.

В отношении содержания β -каротина и ликопина установлен скачкообразный рост их количества к моменту бутонизации и цветения для β -каротина в 28 раз (рис. 7), для ликопина в 269 раз (рис. 8).

Исходя из превышения ликопина в сравнении с β -каротином, следует, что ликопин медленно циклизуется в β -каротин и, следовательно, действует в растении, по-видимому, совместно с антиоксидантными ферментами и гидроокислоричными кислотами при действии повышенных концентраций ПХБ — 0,001 мг/л и 0,0012 мг/л. Показано также, что ПХБ влияют на ко-

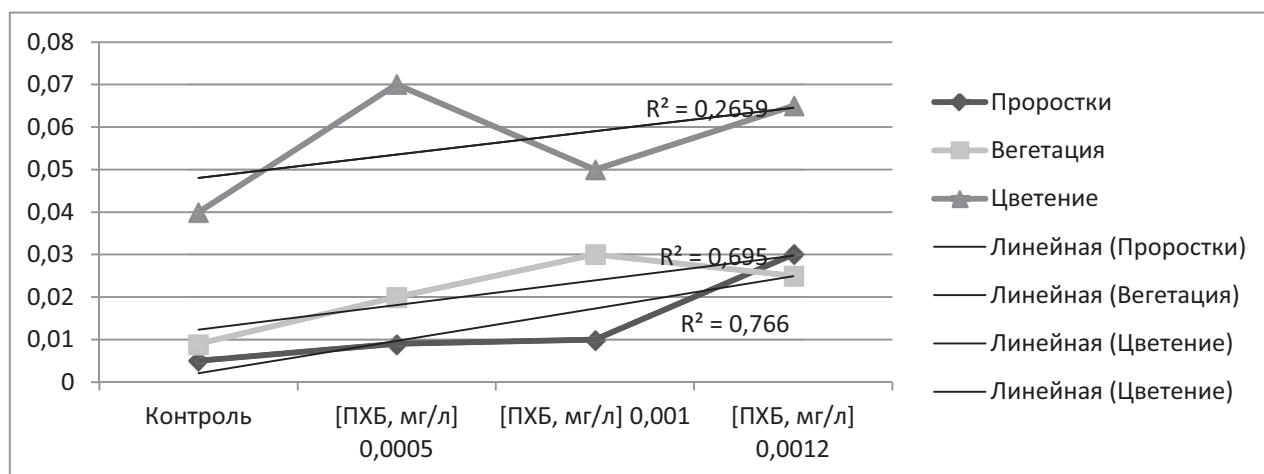


Рис. 5. Содержание хлорогеновой кислоты (%) в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik)

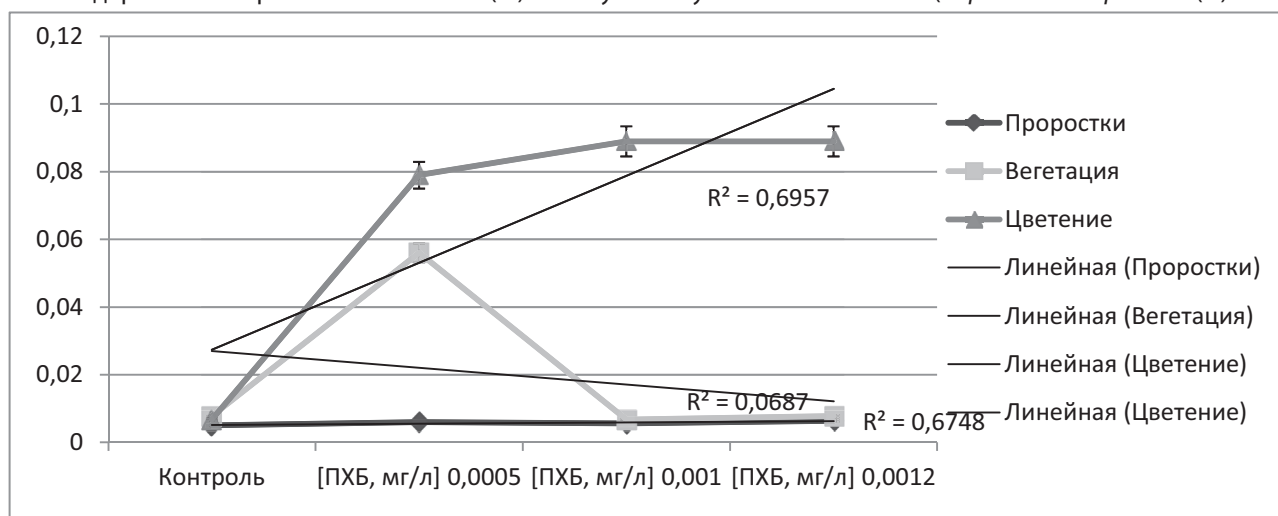
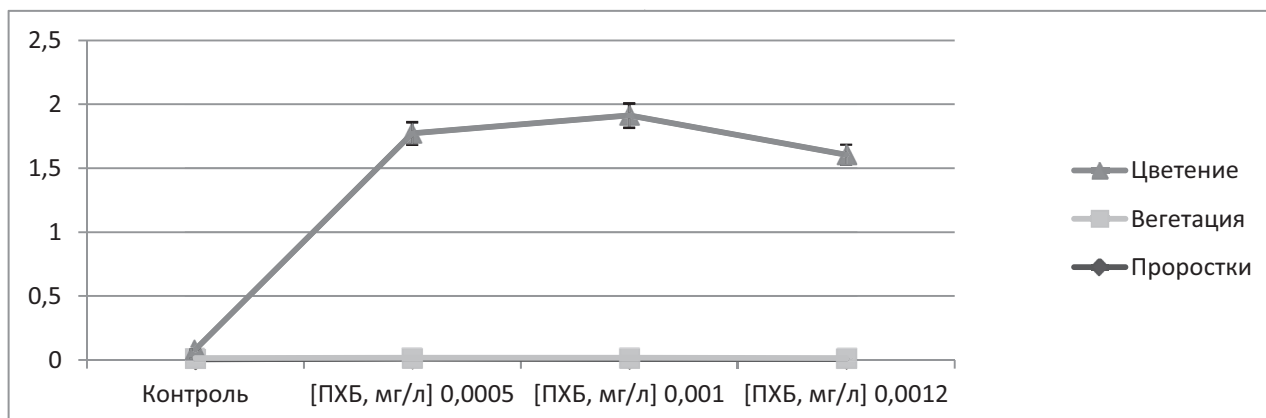
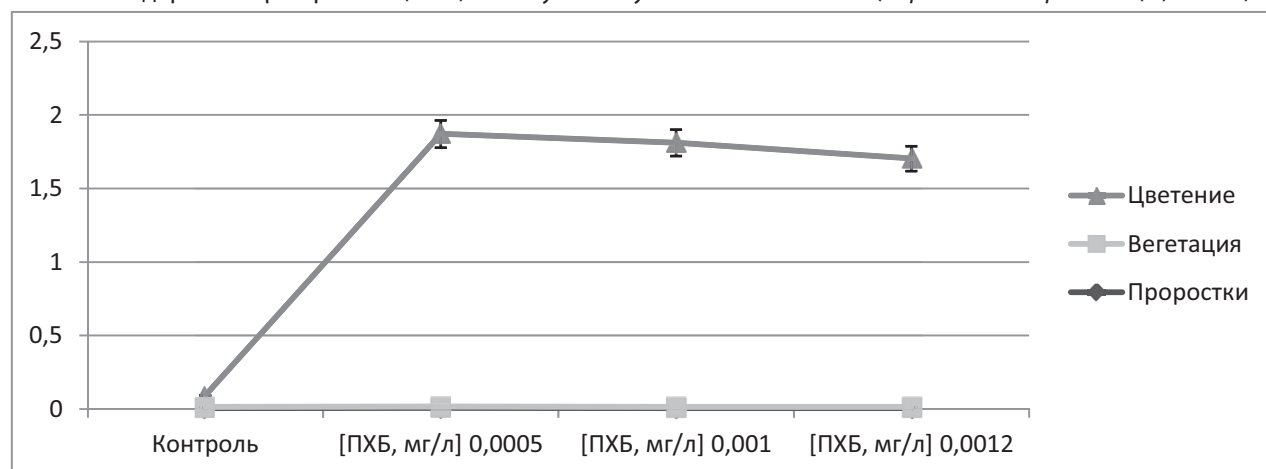


Рис. 6. Содержание кофейной кислоты (%) в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik)

Рис. 7. Содержание β-каротина (мг/л) в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik)Рис. 8. Содержание ликопина (мг/л) в пастушьей сумке обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik)

личество β-каротина и ликопина даже в случае воздействия малых концентраций ПХБ при их первичном поступлении в растение. Для β-каротина на этапах проростков, вегетации и цветения рост показателя составил в среднем в 9,1 раза, для ликопина в 8,3 раза.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного модельного эксперимента установлено:

1. Подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus*) и пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik) реагируют в модельном эксперименте на присутствие полихлорированных бифенилов выраженными изменениями показателей неферментативной антиоксидантной защиты — содержанием гидроксикоричных кислот (хлорогеновой и кофейной) и пигментов (β-каротина и ликопина);
2. Для подсолнечника однолетнего в период цветения содержание хлорогеновой кислоты возросло

в 6 раз, по сравнению с кофейной, содержание β-каротина в 2,5 раза в сравнении с ликопином;

3. Для пастушьей сумки в период цветения содержание хлорогеновой кислоты возросло в 14 раз, в случае β-каротина и ликопина установлен скачкообразный рост их количества к моменту бутонизации и цветения для β-каротина в 28 раз, для ликопина в 269 раз. Показано, таким образом, что пастушья сумка обыкновенная реагирует на воздействие ПХБ более выражено и остро;
4. Учитывая, что пастушья сумка обыкновенная является фармакопейным видом, при планировании сбора растительного сырья следует учитывать возможную аккумуляцию токсических соединений, в частности ПХБ, в среде произрастания данного вида и ограничивать сбор на территориях, расположенных в зонах риска по наличию ПХБ в верхних горизонтах почв.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аскаров И.Р. Сравнительное изучение содержания каротиноидов в различных экоформах шафрана // *Universum: химия и биология: электрон. научн. журн.* 2023. С. 1–5.
2. Бровар Т.Г. Влияние почвенной засухи на содержание фотосинтетических пигментов в растениях ячменя // *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* № 3. 2020. С. 46–53
3. Ефремов Г.И. Влияние содержания каротиноидов и активности гена каротиноид-цис-транс-изомеразы *crts1* на окраску плода томата // *Физиология растений.* 2022. Т. 69. № 4. С. 352–362.
4. Ковалева Н.А. Исследование состава пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) листьев облепихи крушиновидной методом ТСХ // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2022. Т. 22. № 3. С. 284–298.
5. Курдюков Е.Е. Количественное определение суммы каротиноидов в плодах дерезы китайской *Lycium chinense* mill. // *Химия растительного сырья.* 2020. №3. С. 139–144.
6. Курегян А.Г. Теоретическое и экспериментальное обоснование получения индивидуальных каротиноидов и создание на их основе лекарственных средств: дис. доктор биол. наук. Пермь. 2020. 379 с.
7. Севостьянов С.М. Пространственно-временные аспекты распределения полихлорированных бифенилов в почвенном покрове г. Серпухова // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2010. т. 2. № 1. С. 201–204.
8. Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях с изменениями на 10 мая 2019 года / URL: <https://docs.cntd.ru/document/901821036> (дата обращения 11.08.2021)
9. Суянова А.Б. Исследование мышечной ткани рыб, отловленных в Каспийском море, на содержание хлорорганических пестицидов // *Вестник ОмГАУ.* 2016. Т. 2. № 22. С. 194–199.
10. Шилов В.В. Биомониторинг воздействия вредных химических веществ на основе современных биомаркеров. Обзор литературы // *Гигиена и Санитария.* 2019. Т. 98. № 6. С. 591–596.
11. Филюшин М.А. Зависимость окраски плодов перца от соотношения основных пигментов и профиля экспрессии генов биосинтеза каротиноидов и антоцианов // *Физиология растений.* 2020. Т. 67. № 6. С. 644–653.
12. Puri R.K. Studies of parameters affecting translocation of tetrachlorodibenzo-p-dioxin in soil // *Chemosphere.* 1989. v.18: 1291–1296
13. Othman R. Characterization of Carotenoids Content and Composition of Saffron from Different Localities // *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences.* 2020. 10. 34–40.

© Осинкина Татьяна Владимировна (osinkina12@mail.ru)

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»