

УДК 616-099-092.9:546.81]:577.12

В.В.ПетриничБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ВПЛИВ СВИНЦЮ АЦЕТАТУ НА СТАН
ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ
ТА ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У
КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ В СТАТЕВОЗРІЛИХ
ЩУРІВ ІЗ РІЗНИМ ТИПОМ
АЦЕТИЛЮВАННЯ****Ключові слова:** ацетилювання,
свинцю ацетат, окиснювальна
модифікація білків, пероксидне
окиснення ліпідів, антиоксидант-
ний захист.**Резюме.** Вивчено показники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту (АОЗ) й окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у крові та печінці в статевозрілих щурів за умов підгострого впливу ацетату свинцю з урахуванням типу ацетилювання та дози введення. Встановлено, що при введенні свинцю ацетату в дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) в крові статевозрілих щурів як з „повільним” так і з „швидким” типами ацетилювання спостерігалось зростання показників ПОЛ, ОМБ, різноспрямовані зміни АОЗ, а у печінці – зниження ПОЛ, ОМБ та АОЗ.**Вступ**

Зростаюче антропогенне навантаження на об'єкти навколишнього середовища у вигляді сполук хімічної, фізичної та біологічної природи має досить серйозний характер. Серед багатьох чинників, що впливають на здоров'я людини та середовище її проживання, одну з основних позицій посідають хімічні забруднювачі [3]. Серед техногенних хімічних забруднювачів особливе місце посідають свинець та його сполуки, що характеризуються високою токсичністю та високою здатністю до кумуляції як в екосистемах, так і в організмі людини та тварин. Свинець у 1980 р. ВООЗ був віднесений до пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища, що підкреслює його значний вплив на здоров'я населення [10, 15].

Екологічно детерміновані захворювання проявляються далеко не у всіх членів популяції. Вони виникають тільки в тих, хто вирізняється підвищеною чутливістю до конкретних хімічних агентів. Існує думка, що варіації реагування різних індивідумів на фактори зовнішнього середовища можуть бути пов'язані з особливостями генотипу, зокрема з генетично запрограмованою системою біотрансформації, деградації та виведення ксенобіотиків [3]. Однак роль індивідуальної генетичної схильності як причини чутливості організму до впливу токсичних сполук, зокрема важких металів, на сьогодні вивчена недостатньо. Тому дослідження токсичного впливу свинцю ацетату залежно від швидкості ацетилювання є актуальним завданням, вирішення якого дозволить виз-

начити можливі маркери схильності організму до дії вказаної сполуки.

Мета дослідження

Визначити можливу роль фенотипу швидкості ацетилювання у формуванні токсичної дії свинцю ацетату за показниками ПОЛ, АОЗ та ОМБ в крові та печінки у щурів.

Матеріал і методи

Експериментальні дослідження проведені на білих конвенційних аутбредних статевозрілих щурах-самцях, яких утримували на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та в стабільних умовах віварію, згідно ОСТ 42 1-88 „Тварини лабораторні. Технологічний процес” з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Кількість тварин у статистичній групі становила 6.

Визначення ацетилюючої здатності тварин проводили за допомогою амідопіринового тесту [9]. За кількістю виділеного з сечею N-ацетил-4-аміноантипірину дослідних тварин було розподілено на групи „швидких” та „повільних” ацетиляторів. Підгостру інтоксикацію моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ацетату свинцю тваринам у дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) впродовж 28 діб.

Контрольним групам тварин замість ацетату свинцю вводили ізотонічний розчин натрію хлориду (внутрішньоочеревинно). Евтаназію щурів виконували через 24 години після останнього введення речовин шляхом декапітації.

Інтенсивність окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у крові щурів визначали за методом О.Ю.Дубініної та співавт. [8] у модифікації І.Ф. Мещишена [7]. Вміст у крові продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового альдегіду (МА) плазми та еритроцитів – визначали за методами Ю.А.Владимирова, А.І.Арчакова [2], дієнових кон'югатів (ДК) – за методом І.А.Волчегорського і співавт. [12].

Стан АОЗ в крові оцінювали за показниками глутатіонпероксидази (ГП) [6], каталази [5] та вмістом вільних HS-груп. В гомогенаті печінки за стандартними методиками визначали інтенсивність ОМБ за показниками АКДНФГОХ та АКДНФГНХ, вміст дієнових кон'югатів (ДК), МА, активність ГП, каталази та концентрацію вільних HS-груп [13]. Рівень дельта-амінолевулінової кислоти (δ -АЛК) у сечі визначали за реакцією з реактивом Ерліха після видалення порфобіліногену й інших речовин, що заважають визначенню, адсорбції їх на активованому вугіллі [4].

Експериментальні дані обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента. Відмінність між вибірками вважалася вірогідною при $p < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження

Результати наших досліджень свідчать, що введення ксенобіотика в дозі $1/100$ ДЛ₅₀ супроводжується зростанням у крові показників ОМБ,

ПОЛ та різноспрямованими змінами показників АОЗ у щурів з „повільним” та „швидким” типами ацетилювання. Так, рівень АКДНФГНХ зростав на 4,5 % та 6,8 % відповідно, АКДНФГОХ – на 4,6 % та 11,1 % відповідно, МА у плазмі – на 10,4 % та 14,2 % відповідно. Активність каталази збільшилася на 7,4 % лише у „повільних” тварин. Вміст HS-груп у щурів з „повільним” та „швидким” типами ацетилювання зменшився на 15,3 % та 11,8 % відповідно (рис. 1.А). Спостерігалася тенденція до зниження активності ГП у „повільних” та „швидких” ацетиляторів ($p > 0,05$).

Вміст гемоглобіну вірогідно знижувався в щурів з „повільним” (на 10,8 %) і „швидким” (8,6 %) типами ацетилювання, тоді як рівень загального білку вірогідно зменшився лише у „швидких” ацетиляторів (на 4,5 %).

У печінці щурів з „повільним” та „швидким” типами ацетилювання при введенні свинцю ацетату в дозі 2,5 мг/кг ($1/100$ ДЛ₅₀) виявлено зменшення вмісту АКДНФГНХ (на 20,4 % та 22,7 % відповідно), АКДНФГОХ (на 23,2 % та 27,7 % відповідно), ДК (на 44,1 % та 24,9 % відповідно), МА (на 22,3% та 15,2 % відповідно), активності каталази (на 15,8 % та 19,2 % відповідно), вмісту HS-груп (на 15,3 % лише у „повільних” ацетиляторів), що є свідченням зниження показників ОМБ, ПОЛ та АОЗ (рис. 1.Б).

Рівень загального білку в печінці вірогідно зріс у „повільних” ацетиляторів (на 13,6 %), тоді як у „швидких” ацетиляторів спостерігалася лише тенденція до його зростання.

Відомо, що при інтоксикації свинцем збільшується виділення із сечею δ -АЛК. У нашому дослідженні введення ацетату свинцю в дозі 2,5

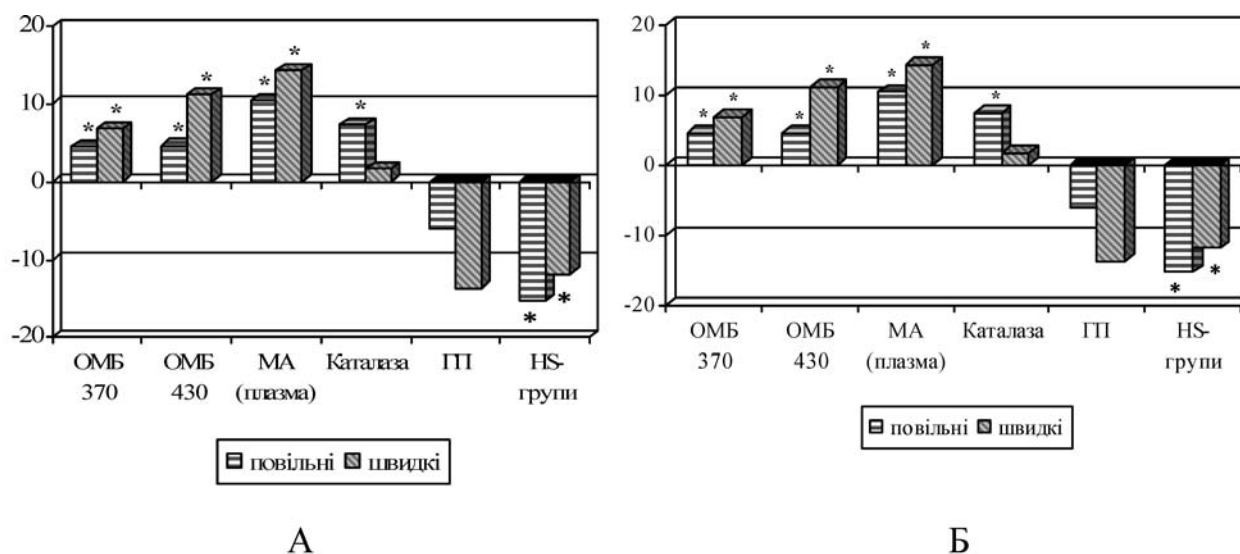


Рис. 1. Стан ОМБ, ПОЛ та АОЗ в крові (А) та печінці (Б) щурів з різним типом ацетилювання при введенні ацетату свинцю в дозі $1/100$ ДЛ₅₀ (% по відношенню до контрольних значень)

Примітка. * – різниця вірогідна порівняно з показником у групі контролю ($p < 0,05$)

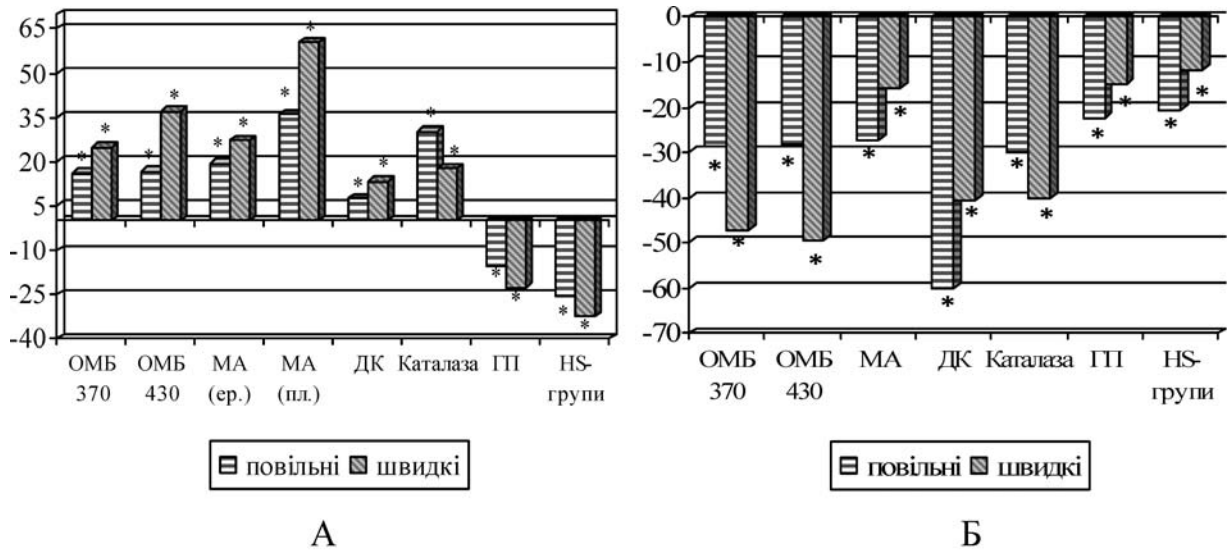


Рис. 2. Стан ОМБ, ПОЛ та АОЗ в крові (А) та печінці (Б) щурів з різним типом ацетилювання при введенні ацетату свинцю в дозі 1/16 ДЛ₅₀ (% по відношенню до контрольних значень)

Примітка. * – різниця вірогідна порівняно з показником у групі контролю (p<0,05)

мг/кг супроводжувалося вірогідним зростанням рівня δ-АЛК в сечі „повільних” та „швидких” ацетиляторів порівняно з контрольними групами. Так, середнє значення вмісту δ-АЛК в сечі тварин з „повільним” типом ацетилювання, яким вводили ацетат свинцю, становило 8,80±0,51 мкмоль/г креатиніну, що на 35,4 % вірогідно вище, ніж у групі контролю (6,50±0,32 мкмоль/г креатиніну). У тварин із „швидким” типом ацетилювання рівень δ-АЛК в сечі становив 10,40±0,55 мкмоль/г креатиніну, що вірогідно перевищувало показник у „швидких” ацетиляторів контрольної групи (6,70±0,39 мкмоль/г креатиніну) на 55,2 %. Отже, вагоміше зростання показника δ-АЛК в сечі спостерігалось в тварин з „швидким” типом ацетилювання.

При введенні свинцю ацетату в дозі 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) у крові щурів з „повільним” типом ацетилювання спостерігалось зростання показників ОМБ (вміст АКДНФГНХ та АКДНФГОХ збільшився на 15,9 % та 16,6 % відповідно), ПОЛ (рівень ДК зріс на 7,6 %, МА в еритроцитах – на 19,6 %, МА в плазмі – на 36,1 %), активності каталази – на 30,2 %, знизилась активність ГП (на 15,5 %) та вміст НС-груп (на 25,5 %) порівняно з контролем.

У крові щурів з „швидким” типом ацетилювання рівень АКДНФГНХ вірогідно зріс на 25 %, АКДНФГОХ – на 37,1 %, вміст ДК – на 13,5 %, МА в еритроцитах та у плазмі – на 27,3 % і 60,4 % відповідно. Активність каталази збільшилася на 17,6 %, у той же час активність ГП вірогідно зменшилася на 22,7 %, вміст НС-груп – на 32,3 % порівняно з контролем (рис. 2.А).

Вміст загального білку в крові вірогідно знизився в щурів з „повільним” (на 4,7 %) і

„швидким” (8,3 %) типами ацетилювання. Рівень гемоглобіну в дослідних тварин вірогідно зменшився на 13,6 % та 11,5 % відповідно.

У печінці щурів з „повільним” та „швидким” типами ацетилювання при введенні свинцю ацетату в дозі 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) виявлено зниження показників ОМБ, ПОЛ та АОЗ. Так, вміст АКДНФГНХ у „повільних” та „швидких” ацетиляторів вірогідно зменшувався (на 28,5 % та 47,3 % відповідно), АКДНФГОХ (на 28,2 % та 49,5 % відповідно), ДК (на 59,9 % та 40,6 % відповідно), МА (на 27,3 % та 15,9 % відповідно), знижувались активність каталази (на 30,1 % та 40,2 % відповідно), ГП (на 22,3 % та 14,9 % відповідно), вміст НС-груп (на 20,8 % та 11,8 % відповідно) (рис. 2.Б).

Рівень загального білку в печінці вірогідно зріс у „повільних” (на 27,6 %) та „швидких” (на 26,7 %) ацетиляторів порівняно з контрольними групами.

Введення ацетату свинцю в дозі 15,5 мг/кг супроводжувалося вірогідним зростанням рівня δ-АЛК в сечі тварин з „повільним” та „швидким” типом ацетилювання порівняно з контрольними групами. Середнє значення вмісту δ-АЛК в сечі тварин з „повільним” типом ацетилювання, яким вводили ацетат свинцю, становило 12,1±0,47 мкмоль/г креатиніну, а у тварин із „швидким” типом ацетилювання – 13,30±0,45 мкмоль/г креатиніну. У „повільних” та „швидких” ацетиляторів контрольних груп рівень δ-АЛК в сечі становив відповідно 6,50±0,32 мкмоль/г креатиніну та 6,70±0,39 мкмоль/г креатиніну. Отже, рівень δ-АЛК в сечі дослідних тварин перевищував показники контролю на 86,2 % та 98,5 % відповідно. Таким чином, показник δ-АЛК в сечі тварин зі „швидким” типом ацетилювання зростав вагоміше.

Порушення функціонування клітин при надлишку свинцю в організмі зазвичай пов'язують з універсальним механізмом активації ПОЛ та одночасним пригніченням АОЗ й розвитком оксидативного стресу [1, 14]. Наше дослідження підтверджує даний факт, оскільки при введенні свинцю ацетату в дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) в крові статевозрілих щурів як з „повільним” так і з „швидким” типами ацетилювання спостерігалось зростання показників ПОЛ, ОМБ, зниження активності ГП, вмісту HS-груп та компенсаторне збільшення активності каталази.

Поряд з цим, у печінці „повільних” та „швидких” ацетиляторів при свинцевій інтоксикації виявлено зниження показників ОМБ, ПОЛ та АОЗ, що можливо відбулося за рахунок зростання процесів протеолізу (призвело до зниження ОМБ) та інтенсифікації з подальшим виснаженням роботи АОЗ (зумовило зменшення показників ОМБ, ПОЛ, АОЗ).

Існує припущення, що маркером схильності до дії несприятливих факторів навколишнього середовища, зокрема солей важких металів, може бути „швидкий” тип ацетилювання. Встановлено, що при різноманітних нефропатіях в умовах забруднення навколишнього середовища важкими металами, домінуючим є саме „швидкий” тип [11]. У нашому дослідженні на користь більшої схильності до токсичної дії свинцю ацетату „швидких” ацетиляторів свідчить виразніше зростання ОМБ та ПОЛ в крові зі зменшенням активності ГП, вагомніше зменшення показників ОМБ та активності каталази у печінці, значніше зростання вмісту δ-АЛК в сечі. Тоді як у крові „повільних” ацетиляторів виразніше зростала активність каталази, а у печінці – вагомніше знижувались ПОЛ, активність ГП та вміст HS-груп.

Таким чином, вивчення впливу типу ацетилювання на формування біомаркерів шкідливої дії за умов інтоксикації свинцем ацетату є актуальним і надасть можливість визначити оптимальні шляхи захисту найбільш вразливих груп населення.

Висновки

1. При введенні свинцю ацетату в дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) у „швидких” ацетиляторів на кінець експерименту встановлено виразніше зростання ОМБ та ПОЛ в крові зі зменшенням активності ГП, вагомніше зменшення рівня загального білку в крові, показників ОМБ та активності каталази у печінці та зростання вмісту δ-АЛК в сечі.

2. У „повільних” ацетиляторів при введенні свинцю ацетату в дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) значніше зростає активність каталази в крові, знижується ПОЛ, активність ГП та вміст HS-груп в печінці.

3. Збільшення дози токсиканта від 1/100 ДЛ₅₀ до 1/16 ДЛ₅₀ супроводжується виразнішими змінами процесів ОМБ, ПОЛ, АОЗ в крові та печінці, значнішим зростанням вмісту загального білку в печінці, δ-АЛК в сечі як у „повільних” так і у „швидких” ацетиляторів.

Перспективи подальших досліджень

Полягають у вивченні захисного впливу засобів біопрофілактики за умов підгострого впливу свинцю ацетату на експериментальних біологічних моделях з різним типом ацетилювання.

Література. 1. Апихтіна О.Л. Дослідження мембранотоксичної дії важких металів на моделі еритроцитів крові in vitro / О.Л.Апихтіна // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – № 1-2. – С. 65-69. 2. Владимирюв Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимирюв, А.И.Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с. 3. Гнайтеко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З.Гнайтеко, Н.С.Лук'яненко // Безпека життєдіяльності. – 2008. – № 5-6. – С. 32-38. 4. Клінічна лабораторна діагностика патології печінки та жовчних шляхів / [Пішак В.П., Ротар В.І., Мислицький В.Ф. та ін.]. – Чернівці: Медуніверситет, 2006. – 313 с. 5. Метод определения активности каталазы / М.А.Королюк, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. 6. Мещишен И.Ф. Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови / И.Ф.Мещишен // В кн.: Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135-136. 7. Мещишен И.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків (сироватки) крові / І.Ф. Мещишен // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156-158. 8. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26. 9. Попов Т.А. Метод оценки активности оксидаз печени / Т.А.Попов, О.Б.Леоненко // Гигиена и санитария. – 1977. – № 9. – С. 56-59. 10. Розанов В.А. Нейротоксичность свинца в детском возрасте: эпидемиологические, клинические и нейрохимические аспекты / В.А.Розанов // Український медичний часопис. – 2000. – № 5. – С. 9-17. 11. Соблирова Ж.Х. Быстрый тип ацетилирования – возможный маркер предрасположенности к заболеваниям органов мочевой системы / Ж.Х.Соблирова, Е.А.Харина // Нефрология и диализ. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 14-17. 12. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А.Волчегорский, А.Г.Налимов, Б.Г.Яровинский [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131. 13. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії буковинської державної медичної академії / [В.М.Магальс, А.О.Міхеев, Ю.С.Роговий та ін.] – Методичний посібник. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с. 14. Цудзевич Б.О. Антиоксидантна система в тканинах щурів за умов інтоксикації важкими металами / Б.О.Цудзевич, І.В.Калінін, Н.А.Петрук // Сучасні проблеми токсикології. – 2012. – № 2. – С. 36-39. 15. Diagnosis, evaluation, and treatment of lead poisoning in general population / H.S.D'souza, S.A.Dsouza, G.Menezes, T.Venkatesh // Indian J. Clin. Biochem. – 2011. – Vol. 26, № 2. – P. 197-201.

ВЛИЯНИЕ СВИНЦА АЦЕТАТА НА СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В КРОВИ И ПЕЧЕНИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ

В.В.Петринич

Резюме. Изучено показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантной защиты (АОЗ) и окислительной модификации белков (ОМБ) в крови и печени половозрелых крыс в условиях подострого влияния свинца ацетата с учетом типа ацетилирования и дозы введения. Установлено, что при введении свинца ацетата в дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) и 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) в крови половозрелых крыс как с „медленным” так и с „быстрым” типами ацетилирования наблюдалось увеличение показателей ПОЛ, ОМБ, разнонаправленные изменения АОЗ, а в печени – снижение ПОЛ, ОМБ и АОЗ.

Ключевые слова: ацетилирование, свинца ацетат, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

UDC 616-099-092.9:546.81]:577.12

THE EFFECT OF LEAD ACETATE ON THE STATE OF LIPID PEROXIDATION AND OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE BLOOD AND LIVER OF SEXUALLY MATURE RATS WITH A DIFFERENT TYPES OF ACETYLATION

V.V.Petrynych

Purpose: Determine the possible role of the phenotype of the speed of acetylation in the formation of the toxic effect of lead acetate on indicators of lipid peroxidation (LPO), antioxi-

dant protection (AOP) and oxidative modification of proteins (OMP) in the blood and liver of rats.

Design / approach: Experimental studies were conducted on white conventional outbred sexually mature male rats, which were divided into two groups: with «fast» and «slow» type of acetylation by the test with amidopyryn. Subacute intoxication was modeled by means of intraperitoneal injection of lead acetate to experimental animals at doses of 2,5 mg/kg (1/100 DL50) and 15,5 mg/kg (1/16 DL50) for 28 days. Isotonic solution of sodium chloride (intraperitoneally) was injected to control groups of animals instead of lead acetate.

Results: The introduction of lead acetate at a dose of 2,5 mg / kg (1/100 DL50) and 15,5 mg / kg (1/16 DL50) in the blood of sexually mature rats both with „slow” and „fast” types of acetylation was accompanied by increase of LPO, OMP parameters, opposite changes of AOP, and reducing lipid peroxidation, OMP and the AOP in the liver. When introducing lead acetate at a dose of 2,5 mg / kg (1/100 DL50) and 15,5 mg / kg (1/16 DL50) clearly increase of OMP and LPO with a decrease in the activity of glutathione peroxidase, more significant reduction in the level of total protein in the blood, indices of OMP and catalase activity in the liver and an increased content of δ -aminolevulinic acid in urine was observed in animals with «fast» type of acetylation at the end of experiment.

Conclusion: Animals with «fast» type of acetylation can be considered more susceptible to toxic effects of lead acetate.

Key words: acetylation, lead acetate, oxidative modification of proteins, lipid peroxidation, antioxidant protection.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
Theatre Sq., 2
Chernivtsi
UA-58002
Ukraine**

e-mail: petrynych.volodymyr@bsmu.edu.ua

Clin. and experim. pathol.- 2012.- Vol.11, №4 (40).-P.115-119.

*Надійшла до редакції 07.02.2012
Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький
© .В.Петринич, 2012*