

ВПЛИВ АЛЬФА-ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ НА ХАРАКТЕР КУМУЛЯЦІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В АЛЬВЕОЛЯРНОМУ ВІДРОСТКУ ТА ЕМАЛІ ЗУБІВ У ЩУРІВ

Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків)

Робота виконана в рамках НДР кафедри стоматології та терапевтичної стоматології «Клінічний перебіг основних стоматологічних захворювань з урахуванням соматичної патології в умовах екологічно-небезпечних факторів довкілля. Розробка схем профілактики, лікування та реабілітації хворих з використанням вітчизняних матеріалів», номер держреєстрації 0110U002440.

Вступ. У різних сферах своєї життєдіяльності людина контактує з великою кількістю хімічних речовин, які впливаючи на організм тривалий час в малих дозах і концентраціях, можуть кумулюватися в тканинах і чинити шкідливу дію. Одним з екологічно небезпечних факторів, що впливають на здоров'я людини, є важкі метали (ВМ). Як справедливо пише В. А. Исидоров (1999), словосполучення «важкі метали» більшістю людей сприймається як синонім поняття «токсичні метали», але деякі з них є життєво необхідними (есенціальними) для живих організмів [3]. Тому, на наш погляд, є об'єктивна необхідність зупинитися на характеристиці хімічних елементів цієї групи більш докладно.

До важких металів відноситься більше 40 хімічних елементів періодичної системи Д. І. Менделєєва, маса атомів яких становить понад 50 атомних одиниць. В певних концентраціях (як мікроелементи) вони беруть активну участь у біологічних процесах, входячи до складу багатьох ферментів [9]. Дуже вдало, на наш погляд, сказано про важкі метали В. В. Гнеденко і співавт. (2011), дослівне цитування яких ми наводимо у перекладі: «Не всі важкі метали токсичні, так як в цю групу входять: мідь, цинк, кобальт, марганець, що отримали назву мікроелементи і мають важливе біологічне значення в житті теплокровних, рослин і мікроорганізмів. Тому мікроелементи і важкі метали – поняття, що відносяться до одних і тих же елементів, засновані скоріше на їх утриманні у навколишньому середовищі. Справедливо використовувати поняття «важкі метали» коли мова йде про небезпечні концентрації цих елементів, і говорити про них же, як про мікроелементи тоді, коли вони знаходяться у малих концентраціях» [2].

Негативна дія окремих металів на організм більш-менш вивчена. Вплив на організм людини комбінації ВМ залишається найменш вивченим питанням. Але відомо, що різні комбінації хімічних елементів, їх складні взаємодії можуть надавати і різний вплив в результаті ефекту сумачії, синергізму і антагонізму між ними. Нашими дослідженнями встановлено, що

після потрапляння в організм щурів надлишку суміші солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr спостерігається не банальне накопичення цих металів в альвеолярному відростку і емалі зубів, а їх селективна кумуляція. Тобто, з боку одних ВМ йде підвищення їх концентрації в мінералізованих тканинах, а з боку інших, навпаки, визначається дефіцит в порівнянні з контрольною групою тварин [6, 7, 12].

Для корекції порушень, які виникають під дією ВМ, запропоновані препарати різної фармакологічної спрямованості. Серед розмаїття цих засобів, здатних нівелювати або зменшити наслідки інтоксикаційного навантаження важкими металами, особливе місце належить альфа-ліпоєвій кислоті (α -ліпоєва кислота, ALA). Як показали наші дослідження, ALA здатна надавати остеопротективну дію, зменшуючи резорбцію альвеолярної кістки та ущільнюючи її [4, 8], збалансовує прооксидантно-антиоксидантну систему [5, 13]. Позитивну дію ALA надає і при отруєнні важкими металами. Вона створює міцні хелатні зв'язки з іонами металів і, тим самим, сприяє детоксикації [14, 15].

Даних про вплив α -ліпоєвої кислоти на метаболізм важких металів в кістковій тканині та емалі зубів ми не знайшли. Тому **метою дослідження** було вивчення особливостей накопичення важких металів (Cu, Cr, Mn, Zn, Pb, Fe) в цих тканинах при надлишковому їх надходженні у суміші солей під протекцією альфа-ліпоєвої кислоти.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилося на 30 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях з вихідною масою 180-200 г. протягом 30 діб. Всі тварини були поділені на три групи: 1 групу (n = 10) становили контрольні щури, які отримували питну воду. Тварини 2 групи (n = 10) отримували питну воду з комбінацією солей важких металів: цинку ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \times 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. Щури 3 групи паралельно з солями важких металів отримували препарат альфа-ліпоєвої кислоти «Альфа-ліпон» (ВАТ «Київський вітамінний завод», Україна) з розрахунку 100 мг/кг ваги 1 раз на добу. Доступ до води вільний. Через 30 діб під ефірним наркозом тварин декапітували, щелепи скелетували, альвеолярні кістки очищали від м'язової тканини, сколювали емаль молярів. Зразки кісткової тканини і емалі знежирювали спиртом, промивали дистильованою водою та зважували з

Таблиця 2

Вміст важких металів в альвеолярному відростку щелеп, мкг/г (M±m)

| Метали | Група тварин | | |
|--------|--------------|---------------|-------------------|
| | 1 (n = 10) | 2 (n = 10) | 3 (n = 10) |
| Cu | 10,05±1,80 | 2,03±0,52* | 16,59±1,90** **** |
| Zn | 194,19±22,55 | 336,02±56,37* | 266,44±29,57 |
| Cr | 251,17±38,44 | 136,36±14,35* | 184,85±33,13 |
| Mn | 18,10±3,53 | 9,25±1,40* | 11,49±1,90 |
| Pb | 0,13±0,04 | 4,02±0,68* | 0,38±0,12** |
| Fe | 136,37±28,16 | 300,98±43,27* | 100,63±48,65** |

Примітка: * – статистично значуща відмінність між II та I гр., ** – III та II, **** – III та I.

точністю до 0,001 г. Потім кістку і емаль спалювали в муфельній печі при температурі 450°С для видалення органічної матриці. Після отримання попелу проводили його розчинення в суміші соляної (2,0 мл) та азотної (1,0 мл) кислот та доводили об'єм розчину до 10,0 мл бідистильованою водою. Отриманий розчин аналізували на спектрофотометрі С115-01 з полум'яним та електротермічним атомізатором. Вибір методу атомізації ґрунтувався на концентрації елемента в розчині. Перед визначенням кожного елемента будували калібрувальний графік, використовуючи стандартні розчини елементів. При калібруванні використовували не менше чотирьох відомих концентрацій. Після проведення процедури визначення вмісту елемента в розчині, вводили масу зразка та отримували концентрацію елемента в 1,0 г досліджуваної тканини: міді (довжина хвилі – 324,7 нм); марганцю (довжина хвилі – 279,5 нм); цинку (довжина хвилі – 213,9 нм); свинцю (довжина хвилі – 285,3 нм); заліза (довжина хвилі – 276,3 нм), хрому (довжина хвилі – 357,9 нм). Виміри та розрахунки проводили в програмному продукті AAS-SPECTR в Лабораторії атомно-абсорбційного аналізу Центру морфологічних досліджень СумДУ.

Статистичну обробку матеріалу здійснювали за параметричними критеріями (середнє значення – M, стандартна похибка – m), статистичну значущість відмінності між показниками двох незалежних груп – непараметричним критерієм (W-критерій Вілкоксона) за допомогою пакету статистичної програми AtteStat 10. 8. 4. for MS Excel. Статистично значущими вважали відмінності при p<0,05.

Під час експерименту лабораторних тварин утримували відповідно до правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовують для експерименту і наукових завдань (Страсбург, 1986 р.) та «Загальних етичних правил експериментів над тваринами», затверджених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. Як показали наші попередні дослідження, при надмірному надходженні в організм 2 групи щурів суміші солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr такі метали як Cu, Cr, Mn накопичувалися в альвеолярному відростку та емалі зубів в менших концентраціях за контроль [6, 7, 12].

Таблиця 1

Вміст важких металів в емалі, мкг/г (M±m)

| Метали | Група тварин | | |
|--------|--------------|---------------|-----------------------|
| | 1 (n = 10) | 2 (n = 10) | 3 (n = 10) |
| Cu | 35,99±9,25 | 15,18±2,08* | 24,72±2,27** |
| Zn | 69,66±10,05 | 555,00±98,80* | 238,95±47,84** *** |
| Cr | 575,39±70,38 | 397,56±59,75 | 313,66±44,40*** |
| Mn | 58,74±4,53 | 43,65±5,15* | 57,91±18,79 |
| Pb | 0,14±0,05 | 0,73±0,09* | 0,26±0,06** |
| Fe | 616,48±91,59 | 1013,4±141,60 | 558,64±21,46** |

Примітка: * – статистично значуща відмінність між II та I гр., ** – III та II, *** – III та I.

З таблиці 1, 2 видно, що при одночасному вживанні ALA і надходженні солей ВМ і у щурів 3 групи спостерігалось підвищення Cu в альвеолярному відростку на 717% (p = 0,008) і в емалі на 62,8% (p = 0,009) в порівнянні з 2 групою тварин. В результаті цього концентрація міді в кістці була на 65,1% (p = 0,07) вище значень контрольної групи, а в емалі хоч і підвищувалася, але не досягала контрольних значень і була на 31,3% (p = 0,4) нижче контролю.

При надходженні ВМ Cr як і Cu менше накопичувався в кістці і емалі від значень 1 групи. Під дією ALA рівень його кумуляції в кістці збільшувався на 35,6% (p = 0,2), а в емалі продовжувалось його зниження на 21,1% (p = 0,4) за показники 2 групи. Однак концентрація хрому не досягала значень контрольної групи в кістці, залишалася на 26,4% (p = 0,3) нижчою, а в емалі була на 45,5% (p = 0,01) менша.

Кумуляція Mn в тканинах при надлишковому надходженні солей ВМ знижувалася. Альфа-ліпоєва кислота сприяла підвищенню його рівня в кістковій тканині на 24,2% (p = 0,4) і в емалі на 32,7% (p = 0,2). Проте вміст цього елемента під протекцією ALA також не досягав контрольних значень і був менше на 36,5% (p = 0,2) в кістці і на 1,4% (p = 0,8) в емалі.

Нами було встановлено, що Zn, Pb, Fe при їх надмірному надходженні в організм 2 групи щурів у суміші солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr накопичувалися в альвеолярному відростку та емалі зубів в більших концентраціях за контроль [6, 7, 12].

Введення ALA сприяло зниженню Zn в альвеолярній кістці на 21,2% (p = 08) і емалі на 57% (p = 0,04). Тим не менш, його концентрація все рівно перевищувала значення контрольної групи тварин. У кістці вона була вище на 37,2% (p = 0,07), а в емалі на 243% (p = 0,01).

Прийом ALA викликав зниження концентрації Pb в альвеолярному відростку на 90,5% (p = 0,0008) і емалі на 64,4% (p = 0,009) в порівнянні з 2 групою тварин. Але вміст цього елемента залишався підвищеним відносно контрольної групи – в кістці на 192% (p = 0,09) і емалі на 85,7% (p = 0,1).

Неоднозначний вплив надавала ALA на кумуляцію Fe. Його концентрація в кістці знижувалася на 66,6% (p = 0,03) і емалі на 45,0% (p = 0,04). Ця неоднозначність полягала в тому, що зниження було

настільки вираженим, що відзначалося подальше зменшення концентрації елемента від значень контрольної групи в кістці на 26,2% ($p = 0,5$) і емалі на 9,4% ($p = 0,6$).

Відомо, що головною складовою неорганічної частини емалі є кристали гідроксиапатиту, які здатні сорбувати метали. Апатити можуть мати велику кількість вакансій і, тим самим, дозволяти собі кілька іонних заміни, які потім визначають їх реакційну здатність та біологічні властивості. На відміну від інших біомінералів вони мають унікальну пристосованість до різних біологічних функцій. Спеціальні механізми компенсації заряду роблять можливим молекулярні та іонні вставки і заміни, які в подальшому і визначають властивості поверхні кристалів апатиту з хімічної (розчинність, здатність до іонного обміну, іонним вставкам, адсорбція і вставки молекул) та фізичної (поверхневий заряд міжфазної енергії) точки зору [10]. У кристалах гідроксиапатиту емалі визначається більше 40 елементів [16]. Аналіз структури гідроксиапатиту, коли центральний атом кальцію замінюється одним з іонів металів (Mg, Cu, Zn, Fe, Cr, Mn) показує, що гетеро-іонний обмін у кристалах апатиту впливає на його склад і призводить до деформації кристалів. Заміна супроводжується змінами довжини зв'язку між киснем і атомами кальцію в молекулі гідроксиапатиту і переміщенням груп атомів, що оточують центральний атом кальцію [11].

Встановлено, що найбільша кількість біометалів кумулюється у кістковій тканині. Альвеолярний відросток щелеп є чи не головною складовою комплексу тканин, які утворюють пародонт. Його стан визначає ступінь тяжкості запальних захворювань тканин

пародонта та їх деструкцію. Оскільки низка мікроелементів приймає участь у каталізі ферментативних реакцій, які відбуваються в остеогенних клітинах, їх нестача чи дисбаланс порушує остеобластичну і остеокластичну диференціацію, процеси утворення кристалів апатиту, міжклітинну взаємодію, що призводить до зрушень фізіологічного та репаративного ремоделювання кістки [1].

Кісткову тканину і емаль зубів об'єднує хімічна схожість їх неорганічної складової – кристали апатиту. Отже, нормалізація балансу біометалів в кристалах має велике значення в попередженні порушень хімічних і фізичних їх властивостей. Альфа-ліпоева кислота в певній мірі усуває дисбаланс в метаболізмі металів в мінералізованих тканинах.

Висновки. Введення щурам альфа-ліпоевої кислоти одночасно з сумішшю солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr гармонізує баланс акумуляції металів в альвеолярному відростку щелеп і емалі зубів. Альфа-ліпоева кислота підвищує вміст Cu, Mn та Cr в кістковій тканині, Cu і Mn в емалі, концентрація яких під дією важких металів знижувалася та знижує вміст Zn, Pb і Fe, які накопичувалися в цих тканинах в надмірній кількості. Призначення альфа-ліпоевої кислоти не призводить до повної нормалізації вмісту вказаних елементів.

Перспективи подальших досліджень. В експерименті досліджено протективний вплив альфа-ліпоевої кислоти, яка призначалася паралельно з вживанням солей важких металів. Залишаються невирішеними питання оцінки ALA як коректора, для усунення порушеного метаболізму важких металів в емалі та кістковій тканині.

Список літератури

1. Бельская Л. В. Оптимизация методики синтеза гидроксипапатита для биомедицинских целей / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, А. П. Солоненко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія: фізика. – 2009. – Т. 22 (61), № 1. – С. 170-181
2. Гнеденко В. В. Современное состояние и тенденции изменения содержания тяжелых металлов в почвах Самарской области / Гнеденко В. В., Обущенко С. В. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 10. – С. 42-44.
3. Исидоров В. А. Введение в химическую экотоксикологию: уч. пособие. – СПб: Химиздат, 1999. – 144 с.
4. Лахтін Ю. В. Зміни оптичної щільності альвеолярного відростка щелеп щурів та її корекція на тлі дії солей важких металів / Ю. В. Лахтін // Світ медицини та біології. – 2012. – № 2. – С. 117-119.
5. Лахтін Ю. В. Корекція оксидативного стресу в яснах щурів на тлі дії солей важких металів / Ю. В. Лахтін // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 2, Т. 1 (92). – С. 172-174.
6. Лахтін Ю. В. Накопичення важких металів в емалі щурів при їх надмірному надходженні / Ю. В. Лахтін // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, Т. 1 (94). – С. 142-144.
7. Лахтін Ю. В. Особливості кумуляції важких металів в альвеолярному відростку щурів при їх надмірному надходженні / Ю. В. Лахтін // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 69-74.
8. Лахтін Ю. В. Остеопротекторні можливості альфа-ліпоевої кислоти при дії солей важких металів / Ю. В. Лахтін // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 2 (40). – 86-89 с.
9. Пастухова Н. Л. Детоксикация тяжелых металлов у растений. / Н. Л. Пастухова, Е. А. Мартынова // Вісник Донецького інституту соціальної освіти. – 2007. – Т. 3. – С. 20-34.
10. Chemical Diversity of Apatites / C. Rey, C. Combes, Ch. Drouet, H. Sfihi // Advances in Science and Technology. – 2006. – Vol. 49. – P. 27-36.
11. Gutowska I. The role of bivalent metals in hydroxyapatite structures as revealed by molecular modeling with the HyperChem software / I. Gutowska, Z. Machoy, B. Machaliński // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2005. – Vol. 75A. – № 4. – P. 788-793.
12. Lakhtin Yu. V. Accumulation of heavy metals alveolar ridge on rats' jaws during excessive inflow of heavy metals / Yu. Lakhtin // Teoretyczne i praktyczne innowacje w nauce: materiały Międzynarodowej Naukowo-Praktycznej Konferencji (Gdańsk, 28-30.04 2012). – Gdańsk, 2012. – S. 97-98.

13. Lakhtin Yu. V. Effect of Alpha Lipoic acid on oxidative stress in rats' gums in case of chronic intoxication with salts of heavy metals / Yu. Lakhtin // European Science and Technology: materials of the II international research and practice conference, Vol. II, (Wiesbaden, May 9th–10th, 2012). – publishing office «Bildungszentrum Rodnik e. V.». – с. Wiesbaden, Germany, 2012. – P. 468-473.
14. Lipoic acid: a novel therapeutic approach for multiple sclerosis and other chronic inflammatory diseases of the CNS / S. Salinthon, V. Yadav, D. N. Bourdette, D. W. Carr // Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. – 2008. – Vol. 8, № 2. – P. 132-142.
15. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: part I: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity / Lyn Patrick // Alternative Medicine Review. – 2002. – Vol. 7, № 6. – P. 456-471.
16. Љутало Ј. Патологија и терапија тврдиh зубних tkивa / Ј. Љутало. – Zagreb: Naklada Zadro, 1994. – 558 S.

УДК 581.5:616.314.13:616.716.4]:615.036

ВПЛИВ АЛЬФА-ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ НА ХАРАКТЕР КУМУЛЯЦІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В АЛЬВЕОЛЯРНОМУ ВІДРОСТКУ ТА ЕМАЛІ ЗУБІВ У ЩУРІВ

Лахтін Ю. В.

Резюме. В експерименті методом атомно-абсорбційної спектрометрії було визначено концентрацію важких металів (Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr) в альвеолярному відростку щелеп і емалі зубів щурів та особливості їх накопичення під впливом альфа-ліпоєвої кислоти. Встановлено, що введення альфа-ліпоєвої кислоти з одночасним надходження солей важких металів сприяло гармонізації балансу накопичення металів в тканинах. Альфа-ліпоєва кислота підвищувала вміст Cu, Mn та Cr в кістковій тканині, Cu і Mn в емалі, концентрація яких під дією важких металів зменшувалась та знижувала вміст Zn, Pb і Fe, які накопичувалися в цих тканинах в надмірній кількості.

Ключові слова: солі важких металів, альвеолярний відросток, емаль зубів, альфа-ліпоєва кислота

УДК 581.5:616.314.13:616.716.4]:615.036

ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ХАРАКТЕР КУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В АЛЬВЕОЛЯРНОМ ОТРОСТКЕ И ЭМАЛИ ЗУБОВ КРЫС

Лахтин Ю. В.

Резюме. В эксперименте методом атомно-абсорбционной спектрометрии была определена концентрация тяжелых металлов (Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr) в альвеолярном отростке челюстей и эмали зубов крыс и особенности их накопления под влиянием альфа-липоевой кислоты. Установлено, что введение альфа-липоевой кислоты с одновременным поступлением солей тяжелых металлов способствовало гармонизации баланса накопления металлов в тканях. Альфа-липоевая кислота повышала содержание Cu, Mn и Cr в костной ткани, Cu и Mn в эмали, концентрация которых под действием тяжелых металлов уменьшалась и снижала содержание Zn, Pb и Fe, которые накапливались в этих тканях в избыточном количестве.

Ключевые слова: соли тяжелых металлов, альвеолярный отросток, эмаль зубов, альфа-липоевая кислота

UDC 581.5:616.314.13:616.716.4]:615.036

Effect of Alpha-Lipoic Acid on Accumulation Character of Heavy Metals in Jaw Alveolar Bone of Rats

Lakhtin Yu. V.

Summary. In the research with the help of atomic absorption spectrometry the concentration of heavy metals (Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr) in jaw alveolar bone and teeth enamel of rats and peculiarities of their accumulation under effect of α -lipoic acid were determined. It was proved that intake of α -lipoic acid simultaneously with heavy metal salts leads to harmonization of metal accumulation balance in tissues. α -lipoic acid increased the content of Cu, Mn and Cr in bone tissue, Cu and Mn in enamel, the concentration of which decrease under effect of heavy metals and decreased the content of Zn, Pb and Fe had accumulating in these tissues in oversize volume.

Key words: salt of heavy metals, alveolar bone, teeth enamel, α -lipoic acid.

Стаття надійшла 29.10.2012 р.

Рецензент – проф. Скрипніков П. М.