

УДК 615.9-616-091.8-001.5

ВИКОРИСТАННЯ АЛЬТЕРНАТИВНИХ МОДЕЛЕЙ *IN VITRO* ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ НЕФРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Самохіна Н.А.

Український НДІ медицини транспорту, Одеса; nata_marsam@mail.ru

Вивчення нефротоксичної дії важких металів на альтернативних моделях *in vitro* – тонкий кишечник та еритроцити крові, дозволяє встановити вираженість ефектів токсичної дії ртуті, кадмію, свинцю, кобальту, що проявляється в змінах маркерних показників. Блокуючі властивості мембранних каналів найбільш виражені у хлорида ртуті (0,1-1,0 мМ/л), а також — у нітрату кадмію в концентрації 0,3 мМ/л. Хлорид кадмію та нітрат свинцю не проявляють стабілізуючої дії на мембрани еритроцитів, а спричиняють токсичні, перш за все, гемолітичні ефекти.

Ключові слова: важкі метали, металонефропатії, моделі *in vitro*, глутатіонантиоксидантна система, осмотична резистентність.

Актуальність

Однією з важливих проблем збереження здоров'я населення України є зниження хімічної небезпеки і профілактика захворювань хімічної етіології [1, 2]. Як показують численні епідеміологічні дослідження, в тому числі і багаторічний досвід роботи нашої лабораторії [3-5], серед багатьох чинників, що викликають захворювання нирок і сечовивідної системи, важлива роль належить важким металам (ВМ), що надходять в організм людини з виробничих, екологічно зумовлених та побутових джерел. Небезпечність ВМ для людини обумовлена рядом причин, серед яких провідними являються такі, як незадовільний стан природного та антропогенно зміненого довкілля, професійно обумовлений контакт робітників з цими глобально розповсюдженими ксенобіотиками, порушення гомеостазу есенціальних металів, інфекційні хвороби, які також сприяють накопиченню ВМ в організмі. Проте, багато питань щодо механізмів дії ВМ, особливо у малих дозах і концентраціях, застосування цілеспрямованих заходів лікувально-профілактичного характеру залишаються розробленими недостатньо. Вірогідно, саме тому захворюваність сечовивідної системи займає одне з провідних місць серед загальних та професійно зумовлених хвороб та у великій кількості випадків призводить до тимчасової непра-

цездатності та інвалідизації значних контингентів населення нашої країни.

Метою нашої роботи було проведення комплексних досліджень з встановлення ролі важких металів у розвитку нефротоксикозів та нефропатій, експериментальне вивчення патогенетичних механізмів, що лежать в основі цих видів патології та пошук інформативних біомаркерів. В даному дослідженні наведені і проаналізовані матеріали особистих досліджень на альтернативних моделях.

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення особливостей клітинних механізмів токсичної дії ВМ були застосовані такі альтернативні моделі *in vitro*, як сегменти тонкої кишки білих щурів та еритроцити крові кролів. Для отримання сегментів тонкої киши щурів після попередньої підготовки декапітували під ефірним наркозом з дотриманням вимог біоетики. Швидко на холоді виділяли тонку кишку, яку ділили на відрізки по 5 см. На один край кожного відрізка накладали лігатуру і отримані «мішечки» заповнювали розчином солі важких та есенціальних металів в середовищі Хенкса відповідної концентрації (C_{Me}^{2+}) (по 5 фрагментів в паралельній пробі). Досліди проводили з такими солями: хлориду ртуті, хлориду кадмію у заповнюючому розчині (5,0 мг/л в фіз. розчині), ацетату свинцю (1,8 г/л в

фіз. розчині), хлориду кобальту (2,2 г/л в фіз.розчині). Після 120 хв. експозиції (при температурі 37 °С) в стінці фрагменту кишки вимірювали активність ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (К.Ф.1.15.1.1-СОД); глутатіонпероксидази (К.Ф.1.11.1.7-ГП), глутатіонредуктази (К.Ф.1.6.4.2-ГР), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (К.Ф.1.1.1.49-Г-6-ФДГ); стан перекисного окислення ліпідів – за кількістю малонового діальдегіду (МДА). Крім того, визначали число вільних SH-груп (контакт з сульфгідрильними отрутами); проникливість лізосомальних та цитоплазматичних мембран досліджували за показниками активності лужної (К.Ф.3.1.3.1-ЛФ) та кислої фосфатази (К.Ф.3.1.3.2-КФ), стан анаеробного гліколізу — за активністю лактатдегідрогенази (К.Ф.1.1.27-ЛДГ). Активність ферментів в гомогенатах перераховували по методу Лоурі-Фоліна.

Еритроцитарна модель передбачала визначення осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) при експозиції важкими металами, що проводили на суспензії еритроцитів кролів *in vitro* за уніфікованим методом у модифікації Л.І. Ідельсона [9]. Кров для дослідження у кролів (3-4мл) брали з вушної вени в стерильну пробірку з гепарином. В ряд центрифужних пробірок розливали по 5 мл суміші робочих розчинів NaCl в концентраціях від 0,9 до 0,1 %. Також готували розчини солей досліджених важких металів в концентраціях від 0,005 до 5 мМоль/л. В ряд пробірок, які містять розчин металу з відповідною концентрацією, добавляли по 0,02 мл гепаринізованої крові та залишали при кімнатній температурі на 30 хв. Контролем служили робочі розчини NaCl, які містили по 0,02 мл гепаринізованої крові. Після центрифугування при 1500 об/хв. 10 хв. в надосадовій рідині визначали рівень гемолізу на спектрофотометрі Ареї PD-303UV (Японія) при 530 нм в кюветі 10 мм проти холостої проби (1 % робочий розчин NaCl).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методами варіаційного та кореляційного аналізу за стандартним пакетом програм у Microsoft®

Office Excel 2003 (ліцензійний № 74017–640–0000106–57490) [6].

Результати та їх обговорення

Як відомо [7], чутливість епітелію проксимальних каналців нирок до хімічних подразників подібна епітелію тонкого кишечника, які є близькими за походженням, структурою і багатьма функціональними особливостями. Поряд з такими «класичними» токсичним ВМ, як Cd, Hg, Pb, виражена нефротоксична дія притаманна і ряду есенціальних металів. Так, кобальт, при надходженні до організму у підвищених до фізіологічно необхідних доз кількостях призводить до небажаних токсичних ефектів, в тому числі і з боку ниркової системи [10].

Оскільки одним із універсальних патогенетичних механізмів токсичної дії ксенобіотиків на клітинному рівні (поряд з мембранотоксичною, ферментотоксичною, гіпоксичною) вважається оксидативний стрес, нами було вивчено його ознаки при експозиції широким колом ВМ. На рис. 1 представлені прояви розвитку оксидативного стресу в сегментах тонкої кишки щурів *in vitro* при дії ртуті (HgCl₂), кадмію (CdCl₂), свинцю (Pb(CH₃COO)₂) та кобальту (CoCl₂).

Як видно з наведених на рисунку даних, всі досліджувані нефротоксиканти призводили до посилення процесів вільнорадикального окиснення та ПОЛ в стінці тонкої кишки з одночасною зміною активності ферментів систем антиоксидантного захисту. Найбільш виразно ознаки оксидативного стресу проявлялися при дії HgCl₂ та CdCl₂. Перш за все, відмічалось підвищення рівня МДА у гомогенаті кишки (в 2,5-2,2 рази відповідно по відношенню до контролю). Процес пероксидації ліпідів у меншій мірі проявлявся при дії Pb(CH₃COO)₂ та CoCl₂ (підвищення рівня МДА в 1,8-1,7 разів по відношенню до контролю). Одночасне дослідження стану системи антиоксидантного захисту показало зниження активностей ланок даної системи при дії досліджуваних нефротоксикантів. Найбільш чітко пригнічення систе-

ми антиоксидантного захисту проявлялось при дії HgCl_2 — зниження активності СОД на 36,5, ГП — на 53,6, ГР — на 37,5 %, відповідно. Як свідчать представлені дані, хлорид кобальту при надмірному надходженні також призводив до посилення процесів пероксидації ліпідів та пригнічення роботи ферментів системи антиоксидантного захисту.

Оскільки ВМ є тиоловими отрутами, важливим показником їх дії на біосистеми є вміст в них вільних SH-груп. Нефротоксична дія усіх досліджуваних ксенобіотиків в першу чергу проявлялась блокуванням сульфгідрильних груп активних центрів білкових молекул, що ілюструється даними на рис. 2, вміст яких знижувався у порядку – $\text{Hg} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Co}$.

Токсична дія ксенобіотиків впливає на стан цитоплазматичних та лізосомальних мембран, що виражається у зміні активності ферментів, зокрема, лужної та кислої фосфатази. Маркерним показником пошкодження цитоплазматичних мембран є змінення активності ЛФ, яка достовірно знижувалась при дії HgCl_2 та CdCl_2 – на 24,6 % та 17 % по відношенню до контролю. Слід відмітити, що дія ацетату свинцю на цитоплазматичні мембрани проявлялась тенденцією в активації досліджуваного показника, а також відмічалось достовірне підвищення активності ЛФ в гомогенаті кишки, експонованої CoCl_2 .

Дія ВМ на епітеліоцити кишечника призводила до пошкодження лізосомальних мембран, що характеризувалась підвищенням активності КФ, особливо в групах експонованих ртуттю та кадмієм (в 0,4-0,3 рази по відношенню до контролю), на відміну від дії CoCl_2 , де простежувалась тенденція в нормалізації активності даного показника.

Токсичний вплив ВМ на клітини кишечника призводив також до змін в роботі ключових ферментів енергетичного обміну, яка супроводжувалась достовірним зниженням показника аеробного окиснення глюкози – Г-6-ФДГ при дії усіх досліджуваних токсикантів. Робота ферменту ана-

еробного гліколізу – ЛДГ відмічалась активацією даного показника при дії солей ртуті, кадмію та свинцю на 85,2 %, 78,9 % та 60,3 % відповідно по відношенню до контролю. Таким чином, спостерігалось зміщення аеробного/анаеробного гліколізу в бік анаеробного.

Отже, вивчення особливостей впливу важких металів на метаболічні процеси в досліджах *in vitro* на моделі тонкого кишечника дозволяє встановити вираженість ефектів токсичної дії ртуті, кадмію, свинцю та кобальту, що проявляється в змінах маркерних показників.

В патогенезі отруєнь важкими металами важливу роль грає гепато-ренальна система, яка виконує транспортну, детоксикаційну та екскреторну функції по відношенню до багатьох представників ксенобіотиків цього класу. Виконання цих функцій пов'язано з еритропоезом, регуляція якого здійснюється не тільки шляхом синтезу еритропоетину, але і динаміки осмотичного гомеостазу еритроцитів. Тому нами визначалась така важлива інтегральна фізіологічна функція клітин, як *осмотична резистентність* (ОР), зміни якої не тільки широко використовуються в якості маркера, який відображає стан клітинних мембран, а й відбиває важливі функції клітинного транспорту металів і їх молекулярні механізми.

Осмотична резистентність є важливою інтегральною фізіологічною функцією клітин, зміни якої широко використовуються в якості маркера, що віддзеркалює стан клітинних мембран, інтенсивність транспорту хімічних речовин і клітинного метаболізму [8]. Її визначення найчастіше здійснюють на еритроцитарних клітинах, оскільки вона достатньо чітко характеризує стан їх зовнішніх мембран. Якщо еластичність мембрани змінюється, її розрив і порушення цілісності клітини відбуваються при менш жорстких параметрах навколишнього середовища (розчину), що може служити маркером для оцінки ступеня (сили) шкідливої дії біологічної, фізичної або хімічної природи, а також свідчити про осмотичні процеси в нирці і інших органах.

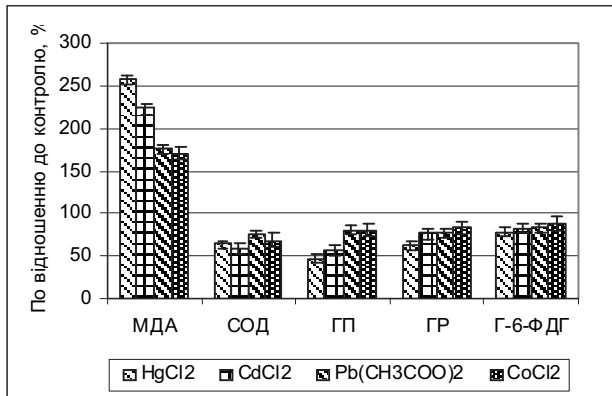


Рис. 1 Зміна показників ГАОС захисту та вмісту МДА при дії різних ксенобіотиків в сегментах тонкої кишки щурів *in vitro*.

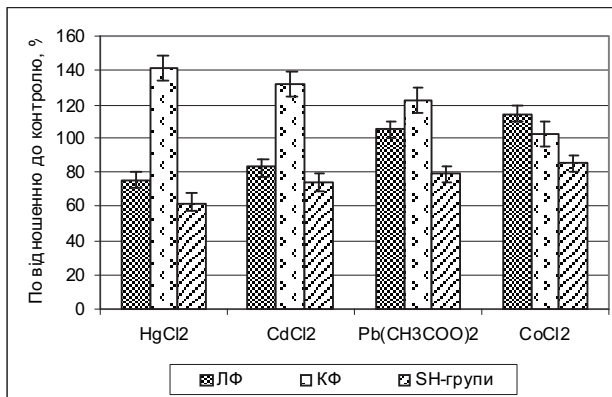


Рис. 2. Зміна активності ферментів ЛФ, КФ та вмісту вільних SH-груп при дії різних концентрацій ксенобіотиків в сегментах тонкої кишки щурів *in vitro*.

Досягши ОР критичної величини відбувається руйнування зовнішньої мембрани клітин і виходом вмісту в навколишнє середовище – гемоліз, інтенсивність якого є маркером ступеня пошкодження еритроцитів (Ер). Ізотонічним для еритроцитів є 0,85 % розчин NaCl, при зниженні концентрації якого до 0,55-0,46 % починається

гемоліз (Cosmmin), що досягає максимуму при концентрації NaCl 0,34-0,28 % (Cosmmax). ОР характеризує здатність Ер накопичувати і втрачати воду по осмотичному механізму без лізису кліток, перш за все, завдяки роботі специфічних водних каналів – аквапоринів, відкритих в 80-х роках минулого сторіччя роботами Gh. Benga, P. Agre і інших авторів [11-13].

Експозиція вказаними металами (Cd, Pb і Hg), в концентраціях, що відрізняються на два порядки, показала наявність істотних відмінностей в зміні осмотичній резистентності еритроцитарних клітин, які по своєму характеру можна підрозділити на три групи: малий (0,005-0,05), середній (0,1-1,0) і високий (2,0-5,0) вміст. Такий підрозділ був обумовлений величиною вираженого гемолізу з оптичною щільністю $0,210 \pm 0,02$, що розглядається як Ed 50 (50 % гемоліз). Це виразно простежується при аналізі даних, наведених в табл. 1. В діапазоні низьких концентрацій (0,005 – 0,01мМ/л) спостерігалось зниження осмотичної стійкості еритроцитів. Величини Ed50 не істотно відрізнялись від контрольних і лежали в межах 0,48-0,44 % розчину NaCl.

Найбільш виражене зниження резистентності було зафіксовано при дії хлориду ртуті в концентрації 0,05 мМ/л на еритроцити в 0,6 % розчині NaCl. В цілому ж, характер динаміки наростання величини гемолізу під дією HgCl₂ в даному діапазоні концентрацій випереджає такий у відсутності блокатора. При підвищенні концентрації блокатора аквапоринів цей вид дії чітко просліджувався у послідовних гіпоосмічних розчинах NaCl. Навіть при зниженні концентрації осмоіонів у 5 разів вихід гемоглобіну практично не змінювався. При цьому слід та-

Таблиця 1

Зміна ОРЕ кролика при дії різних концентрацій HgCl₂

NaCl, %	Концентрації HgCl ₂ мМ/л, оптична щільність розчину								
	Контр.	0,005	0,01	0,05	0,1	0,2	1,0	3,0	5,0
0,1	0,386	0,496	0,41	0,452	0,026	0,132	0,296	0,329	0,277
0,2	0,383	0,473	0,418	0,308	0,038	0,12	0,399	0,517	0,181
0,3	0,406	0,468	0,481	0,312	0,074	0,027	0,15	0,3	0,173
0,32	0,388	0,6	0,34	0,317	0,029	0,032	0,118	0,358	0,169
0,36	0,405	0,384	0,397	0,408	0,032	0,073	0,015	0,32	0,193
0,4	0,322	0,382	0,268	0,304	0,06	0,013	0,087	0,220	0,178
0,44	0,255	0,312	0,152	0,328	0,096	0,073	0,032	0,11	0,184
0,48	0,112	0,245	0,212	0,322	0,087	0,024	0,042	0,098	0,19
0,52	0,035	0,125	0,137	0,388	0,082	0,021	0,027	0,12	0,206
0,56	0,008	0,054	0,076	0,394	0,048	0,015	0,016	0,01	0,246
0,6	0,007	0,023	0,064	0,220	0,041	0,011	0,014	0,01	0,021
1	0,004	0,005	0,043	0,125	0,034	0,01	0,013	0,011	0,019

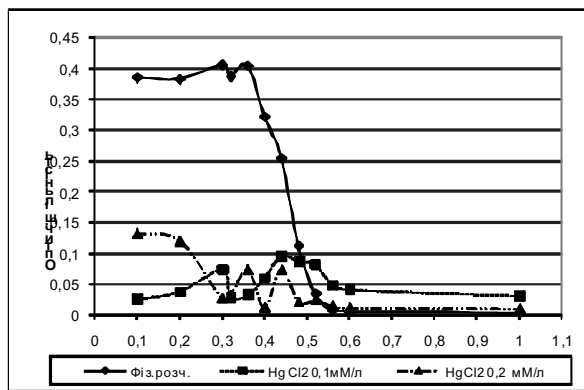


Рис. 3. Криві гемолізу еритроцитів при дії HgCl_2 в концентраціях 0,1-0,2 мМ/л

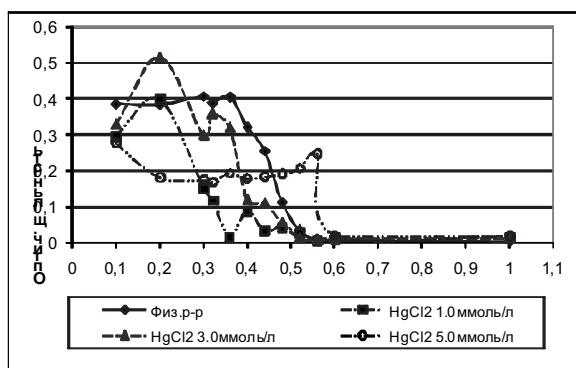


Рис. 4. Криві гемолізу еритроцитів при дії HgCl_2 в концентраціях 1,0-5,0 мМ/л

кож звернути увагу на той факт, що практично всі значення для експонованих ртуттю Ер лежали вище за дані контролю, тобто свідчать про зниження осмотичної резистентності клітин.

Картина істотно відрізняється при експонуванні HgCl_2 в концентраціях від 0,1-1,0 мМ/л. Початкові ознаки гемолізу з'являлись при NaCl порядку 0,52-0,48 %, проте повного гемолізу досягти не вдалось, навіть у виражених гіпотонічних умовах середовища (0,2-0,1 % NaCl). Це наочно демонструють графіки на рис. 3. При даних концентраціях ртуть проявляла блокуючу дію на аквапорини.

Слід відмітити, що концентрація ртуті 1,0 мМ/л можна вважати пороговою між двома групами концентрацій. Підвищення концентрації металу зверху 1,0 мМ/л приводило до різкого посилення гемолізу і зниження показника осмотичної резистентності, внаслідок чого відбувався повний розрив клітин (рис. 4).

Необхідно звернути увагу на гальмування процесів гемолізу до концентрації

NaCl 0,4 % при експозиції HgCl_2 на рівні 3,0 мМ/л, яке змінювалось підвищенням інтенсивності гемолізу, хоча не досягало таких контрольних значень.

Отримані дані можна трактувати як доказ того, що ртуть дійсно блокує аквапорини, порушує трансмембранне перенесення води і істотно впливає на ОРЕ. Наявність такого роду ефектів можна констатувати за наслідками порівняння трьох діапазонів концентрацій, причому, блокування аквапоринів найчіткіше проявляється HgCl_2 в концентраціях 0,1-1,0 мМ/л. Вищі концентрації ртуті знижували ОРЕ, що виявлялось в прогресивному наростанні гемолізу при ближчих до ізотонічних концентраціях NaCl . Особливо цікавими є дані про те, що найменші концентрації ртуті знижують осмотичну резистентність еритроцитів, а отже, збільшують трансмембранний перехід і накопичення в клітинах води.

Інша картина спостерігалась при експонуванні солями кадмію – хлориду і нітрату. Так, при дії CdCl_2 в діапазоні низьких концентрацій (0,005-0,1 мМ/л) спостерігалось зниження ОРЕ. Величина Ed_{50} знаходилась в межах 0,48 % розчину NaCl і не сильно відрізнялась від контрольних значень (табл. 2).

Повний гемоліз еритроцитів спостерігався при експозиції ксенобіотика в діапазоні високих концентрацій (3,0- 5,0 мм/л) на рівні 0,6 %-0,52 % NaCl . В даному випадку хлорид кадмію проявляв токсичну дію і в порівнянні з хлоридом ртуттю — стабілізуючого ефекту не спостерігалось.

Слід зазначити, що не менш вираженими блокуючими властивостями після хлориду ртуті, володіє нітрат кадмію, що добре видно з табл.3. Даний ефект можна спостерігати при експонуванні $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ в концентрації 0,3 мМ/л і величина Ed_{50} лежала в межах 0,32 % розчину NaCl .

У діапазоні низьких концентрацій (0,005-0,05) з'являлись перші ознаки гемолізу на рівні 0,4 % NaCl і криві гемолізу еритроцитів не відрізнялись від контрольних. Подальше збільшення концент-

Таблиця 2 Величина Ed50

Зміна OPE кролика при дії різних концентрацій CdCl₂

NaCl, %	Концентрації CdCl ₂ мМ/л, оптична щільність розчину							
	Контр.	0,005	0,01	0,1	0,5	1,0	3,0	5,0
0,1	0,478	0,335	0,405	0,46	0,394	0,321	0,412	0,187
0,2	0,464	0,337	0,384	0,35	0,305	0,311	0,372	0,181
0,3	0,451	0,38	0,37	0,35	0,267	0,273	0,345	0,321
0,32	0,46	0,316	0,366	0,34	0,278	0,261	0,317	0,387
0,36	0,404	0,4	0,334	0,33	0,293	0,278	0,358	0,312
0,4	0,427	0,391	0,334	0,34	0,27	0,276	0,308	0,372
0,44	0,413	0,223	0,305	0,32	0,216	0,234	0,328	0,363
0,48	0,206	0,172	0,163	0,22	0,226	0,247	0,346	0,378
0,52	0,038	0,044	0,019	0,06	0,136	0,223	0,24	0,457
0,56	0,074	0,032	0,023	0,06	0,082	0,089	0,198	0,253
0,6	0,052	0,036	0,021	0,02	0,019	0,004	0,104	0,337
1	0,024	0,028	0,014	0,02	0,006	0,003	0,094	0,028

Таблиця 3

Зміна OPE кролика при дії різних концентрацій Cd(NO₃)₂

%	контр.	Концентрації Cd(NO ₃) ₂ мМ/л, оптична щільність розчину								
		0,005	0,01	0,05	0,1	0,2	0,3	1	3	5
0,1	0,332	0,443	0,419	0,527	0,668	0,438	0,251	0,264	0,523	0,15
0,15	0,34	0,424	0,399	0,384	0,495	0,3	0,281	0,289	0,192	0,208
0,2	0,346	0,357	0,36	0,392	0,617	0,192	0,179	0,298	0,33	0,154
0,25	0,337	0,339	0,426	0,2	0,339	0,314	0,209	0,286	0,366	0,177
0,3	0,328	0,34	0,422	0,408	0,394	0,24	0,206	0,253	0,363	0,21
0,32	0,324	0,36	0,353	0,312	0,632	0,485	0,221	0,386	0,231	0,176
0,36	0,311	0,296	0,383	0,391	0,485	0,288	0,153	0,358	0,218	0,162
0,4	0,302	0,186	0,207	0,244	0,407	0,273	0,264	0,35	0,263	0,209
0,44	0,202	0,078	0,086	0,103	0,356	0,241	0,222	0,345	0,208	0,211
0,48	0,09	0,036	0,026	0,035	0,155	0,099	0,055	0,236	0,181	0,447
0,52	0,034	0,01	0,004	0,002	0,077	0,066	0,027	0,215	0,265	0,529
0,56	0,02	0,12	0,003	0,025	0,043	0,042	0,022	0,106	0,183	0,545
0,6	0,018	0,01	0,032	0,026	0,042	0,059	0,021	0,087	0,186	0,41
0,8	0,015	0,001	0,016	0,023	0,022	0,023	0,03	0,032	0,051	0,242
1	0,019	0,026	0,024	0,015	0,017	0,031	0,023	0,013	0,025	0,064

рації ксенобіотика в інкубаційному середовищі приводило до пониження осмотичної стійкості еритроцитів.

У діапазоні високих концентрацій спостерігалась зміна забарвлення реакційного середовища, що супроводжувалась повним гемолізом еритроцитів. Величина Ed50 знаходилась на рівні 0,6 % NaCl, при цьому мінявся спектр поглинання гемоглобіну. Таким чином можна припустити, що ртуть і кадмій володіють не тільки мембранотоксичною дією, але і деструктивною — на гемоглобін.

Як відомо, еритроцити серед клітин крові є однією із найбільш чутливих до впливу свинцю. Так при дії нітрату свинцю в дозах менших (0,005-0,25 мМ/л) ніж солі ртуті та кадмію, спостерілось зниження OPE.

відміну від ртуті стабілізуючого ефекту дії металу не спостерігалось.

Отриманні дані можна трактувати як доказ того, що важкі метали (ртуть, кадмій та свинець) можуть надавати блокуючої і токсичної дії на аквапорини, порушують трансмембранне перенесення води і істотно впливають на OPE. Слід підкреслити, що блокуючі властивості найбільш виражені у хлориду ртуті (0,1-1,0 мМ/л), за ним слідує нітрат кадмію, концентрацією 0,3 мМ/л. Хлорид кадмію та нітрат свинцю не проявляли стабілізуючої дії на мембрани еритроцитів, а надавали токсичної дії. Причому свинець, в концентраціях на порядок менших за кадмій, сприяв зменшенню OPE.

Таким чином наявність такого роду

відмінностей свідчить про елементи вибіркової дії і наявності в токсикогенезі механізмів, не пов'язаних безпосередньо з блокуванням ВМ SH-груп. Вищі концентрації ксенобіотиків знижували ОРЕ, що виявлялась в прогресивному наростанні гемолізу при ближчих до ізотонічних концентраціях NaCl. Також можна побачити відмінності у впливі солей кадмію — хлориду і нітрату на ОРЕ. І саме аніонний ліганд вносить свій внесок в зміну резистентності еритроцитів.

Висновки

1. Дослідження механізмів нефротоксичної дії ВМ на моделі *in vitro* (сегменти тонкої кишки білих щурів) показало вираженість ефектів токсичної дії ртуті, кадмію, свинцю та кобальту, що проявлялась в змінах маркерних показників оксидативного стресу та стану антиоксидантних систем.
2. У механізмі токсичної дії ВМ на клітину важлива роль належить їх впливу на осмотичну резистентність клітин, що переконливо показано на прикладі еритроцитів периферичної крові кролика. Встановлена залежність осмотичної стійкості еритроцитів від концентрацій ВМ.
3. Блокуючи дія мембранних каналів найбільш виражена у хлорида ртуті (0,1-1,0 мМ/л), а також — у нітрата кадмія концентрацією 0,3 мМ/л. Хлорид кадмію та нітрат свинцю не проявляли стабілізуючої дії на мембрани еритроцитів, а надавали токсичної дії.
4. Використання альтернативних моделей *in vitro* підтверджують дані літератури і дозволяють більш ґрунтовно розкрити патогенетичні механізми нефротоксичної дії важких металів.
5. Застосування інформативних високочутливих та достатньо специфічних альтернативних моделей для вивчення механізмів нефротоксичності є перспективним методичним підходом для вирішення широкого кола завдань сучасної нефрології, клінічної та профілактичної токсикології.

Література

1. Кундиев Ю.И. Химическая безопасность в Украине / Ю.И. Кундиев, И.М. Трахтенберг // Ежегодные чтения, посвященные памяти Евгения Игнатьевича Гончарука. – К.: Авиценна, 2007. – С.72.
2. Стусь В.П. Вміст важких металів у нирках мешканців Дніпропетровської обл. / В.П. Стусь // Довкілля та здоров'я. – 2009. — № 2(49). – С. 20-25.
3. Гоженко А.И., Шафран Л.М., Насибуллин Б.А. Нефротоксичность тяжелых металлов: феноменология и патогенез / Тези доп. 2 з'їзду Токсикологів України. — К.,2004.—С.40.
4. А.И. Гоженко. Патогенез токсических нефропатий // Ж. Актуальные проблемы транспортной медицины, 2006. 2(4). С. 9-13
5. Шафран Л.М., Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г. Токсикология металлов в решении задач охраны здоровья населения и окружающей среды // Ж. Причерноморский экологичний бюлетень, 2003. – № 1(7) – С. 93-100.
6. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / Антомонов М. Ю. – Киев, 2006 – 558 с.
7. Нефрология: Руководство для врачей / Под ред. И.Е. Тареевой. — М.: Медицина, 2000. — 2-е изд., перераб. и доп. — с. 580-595.
8. Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты. – Минск: Белорус. наука, 2007. – 239.
9. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: ПИТЕР, 2003. – С. 115-118.
10. Механизмы токсического влияния хлорида кобальта на биохимические и функциональные показатели в эксперименте / Ф.С. Дзугкоева, Е.А. Такоева, С.Г. Дзугкоев [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. — Т. 13, № 1(7). – С. 1698 – 1701.
11. Szekely D., Yau T.W., Kuchel P.W. Human erythrocyte flickering: temperature, ATP concentration, water transport, and cell aging, plus a computer simulation // Eur. Biophys. J., 2009. — May 31.
12. Fujise H, Higa K, Kanemaru T, Fukuda M, Adragna NC, Lauf P. GSH depletion, K-Cl cotransport, and regulatory volume decrease

in high-K/high-GSH dog red blood cells // Am. J. Physiol. Cell Physiol., 2001. – Vol. 281. — C2003-2009.

13. Ochiai H., Hishiyama N., Hisamatsu S., Kanemaki N. Aquaporin 1 expression in tissues of canines possessing inherited high K⁺ erythrocytes // J. Vet. Sci., 2008. – Vol. 9. – No. 2. – P. 203-205.

References

1. Kundiev Y.I. Chemical Safety in Ukraine / Y.I. Kundiev, I.M. Trachtenberg // Annual readings in memory of Eugene Ignatievitch Goncharuk. — K.: Avicenna, 2007. — P.72.
2. Stus V.P. The content of heavy metals in the kidney residents of Dnipropetrovsk region. / V.P. Stus // Environment and Health. — 2009. — № 2 (49). — P. 20-25.
3. Gozhenko A.I., Shafran L.M., Nasibullin B.A., Nephrotoxicity heavy metals: phenomenology and pathogenesis / Theses. 2 Congress of Toxicology Ukraine. -K., 2004, p.40. Al Gozhenko. The pathogenesis of toxic nephropathy // J. Actual problems of transport medicine, 2006. 2 (4). S. 9-13
4. A.I. Gozhenko. The pathogenesis of toxic nephropathy // J. Actual problems of transport medicine, 2006. 2 (4). S. 9-13
5. Shafran L.M., Bolhoi D.V., Pykhiteeva E.G., Toxicology of metals in the solution of problems of public health and the environment // J. Prichernomorsky ekologichnyy bulletin, 2003. — № 1 (7) — P. 93-100.
6. M.Y. Antomonov Mathematical processing and analysis of medical and biological data / Antomonov M. Yu — Kiev, 2006 — 558 p.
7. Nephrology: A Guide for Physicians / Ed. IE Tareyeva. — M.: Medicine, 2000. — 2nd ed., Rev. and add. — С. 580-595.
8. Titovets E.P. Aquaporins humans and animals: basic and clinical aspects. — Minsk: Belarusian. Science, 2007. — 239. Shafran L.M. Professionally caused metallonefropatii transport: etiology and pathogenesis, diagnosis, prevention / L.M.Shafran, A.I. Gozhenko // Bulletin ESSC SB RAMS. — 2009. — №1 (65). — S.141-146.
9. Reference Laboratory Methods / Ed. LA Danilova. — SPb.: Peter, 2003. — S. 115-118.
10. Mechanisms of toxic effects of cobalt chloride on biochemical and functional indicators in the experiment / FS Dzugkoeva, EA Takoeva, SG Dzugkoev [et al.] // Bulletin of Samara Scientific Center of the Russian

Academy of Sciences. — 2011. — V. 13, № 1 (7). — S. 1698 — 1701.

11. Szekely D., Yau T.W., Kuchel P.W. Human erythrocyte flickering: temperature, ATP concentration, water transport, and cell aging, plus a computer simulation // Eur. Biophys. J., 2009. — May 31.
12. Fujise H, Higa K, Kanemaru T, Fukuda M, Adragna NC, Lauf P. GSH depletion, K-Cl cotransport, and regulatory volume decrease in high-K/high-GSH dog red blood cells // Am. J. Physiol. Cell Physiol., 2001. – Vol. 281. — C2003-2009.
13. Ochiai H., Hishiyama N., Hisamatsu S., Kanemaki N. Aquaporin 1 expression in tissues of canines possessing inherited high K⁺ erythrocytes // J. Vet. Sci., 2008. – Vol. 9. – No. 2. – P. 203-205.

Резюме

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ МОДЕЛЕЙ *IN VITRO* ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Самохина Н.А.

Украинский НДИ медицины транспорта, Одесса

Изучение нефротоксического действия тяжелых металлов на альтернативных моделях *in vitro* — тонкий кишечник и эритроциты крови позволяет установить выраженность эффектов токсического действия ртути, кадмия, свинца и кобальта проявляется в изменениях маркерных показателей. Блокирующие свойства мембранных каналов наиболее выражены в хлорида ртути (0,1-1,0 ммоль/л), а также — у нитрата кадмия концентрацией 0,3 ммоль/л. Хлорид кадмия и нитрат свинца не проявляют стабилизирующего действия на мембраны эритроцитов, а оказывают токсическое действие.

Ключевые слова: модели *in vitro*, тяжелые металлы, металлонефропатии, глутатионантиоксидантная система, осмотическая резистентность

Summary

USE OF ALTERNATIVE MODELS FOR *IN VITRO* RESEARCH NEPHROTOXICITY HEAVY METALS

Samokhina N.A.

Ukrainian Scientific and Research Institute of Transport Medicine, Odessa

Study nephrotoxicity heavy metals on alternative models in vitro — small intestine and red blood cells allows you to set the severity of the effects of the toxic effect of mercury, cadmium, lead and cobalt manifested in changes of marker indicators.

The blocking properties of membrane channels is expressed as mercuric chloride (0.1-1.0 mmol / l), and — in cadmium nitrate concentration 0.3 mmol / L. Cadmium chloride and lead nitrate show no stabilizing effect on the membrane of red blood cells, and have a toxic effect.

Keywords: *model in vitro, heavy metals, metalonephropaty, glutathione antioxidant system, osmotic resistance*

Впервые поступила в редакцию 04.06.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.31-018-092+616.379-008-64

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АДАПТОГЕНОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОРАЖЕНИЙ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Скиба А.В., Левицкий А.П., Хромагина Л.Н., Скиба В.Я.

*Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Одесса
flavan@mail.ru*

В эксперименте на белых крысах воспроизводили сахарный диабет 2 типа и проводили лечебно-профилактические мероприятия адаптогенами. Результаты показали, что при диабете 2 типа в исследованных тканях отмечается усиление процессов СРО липидов на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты и повышение уровня маркеров воспаления (содержания малонового диальдегида, общей протеолитической активности и активности кислой фосфатазы). Применение адаптогенов стимулирует адаптационно-трофическую систему организма и повышает устойчивость тканей полости рта к воздействию различных этиологических факторов.

Ключевые слова: *сахарный диабет 2 типа, адаптогены, слизистая оболочка щеки, печень, сыворотка крови, динамика развития, воспаление, перекисное окисление липидов.*

Введение

Сахарный диабет – хроническое заболевание, при котором нарушаются все виды обмена – углеводного, белкового, жирового, минерального и ранним развитием ангиопатий, возникающих в результате токсического действия высоких концентраций глюкозы [1].

При этом важная роль в патогенезе сосудистых осложнений отводится окислительному стрессу [2]. Активные формы кислорода усугубляют инсулинорезистентность, способствуют развитию ангиопа-

тий. При сахарном диабете у больных отмечается также истощение баланса антиоксидантно/прооксидантных систем, что приводит к нарушению структурно-функциональной целостности мембран клеток тканей организма.

Повышение уровня конечных продуктов гликолиза приводит к увеличению проницаемости сосудистой стенки, гипоксии. Одной из ведущих концепций патологии является признание важной роли структурно-функциональной дестабилизации клеточных мембран в патогенезе воспали-