

УДК 612.015.348:612.82-092.9] : 574.4.

## ВПЛИВ АТМОСФЕРНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ГІРНИЧО-МЕТАЛУРГІЙНОГО РЕГІОНУ НА ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТВАРИН

*Богоявленська В.Ф., Харламова А.В., Бичова О.Г.  
ДП «Український НДІ промислової медицини», м. Кривий Ріг*

**Актуальність теми.** Під впливом техногенного навантаження відбуваються зміни у функціонуванні центральної нервової системи (ЦНС), які призводять до порушення психофізіологічної діяльності дитини і дорослої людини. Проблеми, присвячені експериментальним дослідженням щодо вивчення впливу екологічно несприятливих факторів довкілля на біохімічні процеси в головному мозку тварин, висвітлювалися не в повному обсязі. В роботах доведена значимість ембріонального періоду плоду в формуванні основних адаптаційних механізмів організму, таких функцій, як статеві диференціація мозку, реактивність організму, стан імунітету, які проявляються протягом постнатального онтогенезу [1,2]. Тому виникає необхідність в експериментальному вивченні впливу комплексу несприятливих аерогенних факторів довкілля під час ембріогенезу плоду на біохімічні показники головного мозку тварин в період постнатального розвитку.

**Мета досліджень:** експериментальне дослідження впливу основних антропогенних поллютантів у період внутрішньоутробного розвитку на біохімічні процеси в онтогенезі головного мозку тварин.

**Матеріали і методи дослідження.** В експериментальних дослідженнях використані методичні підходи, що відповідають сучасним міжнародним вимогам щодо проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин [3,4]. Догляд за тваринами здійснювали згідно загальноприйнятим вимогам за умов дотримання Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи №609 (1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3447-IV [5-7].

Піддослідних вагітних самиць з першого дня вагітності поміщали в затравочну

камеру, в якій 20 годин на добу діяли на тварин газовою сумішшю; період динамічної інгаляційної затравки становив 20 днів – строк виношування потомства щурами. У затравочній камері були змодельовані коливання концентрацій основних аерогенних хімічних поллютантів, оскільки їх концентрації в повітряному середовищі міста не є постійними величинами. Відбір проб повітря проводився в сельбищній зоні м. Кривого Рогу. Коливання концентрацій основних аерогенних ксенобіотиків у газовій суміші становили: для оксиду вуглецю – 1,8-20,6 мг/м<sup>3</sup>, для оксидів азоту – 0,54-6,8 мг/м<sup>3</sup>, для діоксиду сірки – 0,183-0,43 мг/м<sup>3</sup>, пилу – 0,6-2,31 мг/м<sup>3</sup>.

Контрольні вагітні самки були розміщені в спеціально обладнаній кімнаті, в якій коливання температури повітря знаходилося в межах 20-25°C, коливання вологості від 50-70%, освітлення було природнім.

Біохімічні показники головного мозку вивчалися в плодів, вилучених на 20-й день вагітності, та народженого своєчасно потомства віком один день, 14 днів, 1 місяць та 2,5 місяці. Умертвіння попередньо наркотизованих тварин здійснювали декапітацією [8]. Біохімічні показники гомогенату головного мозку тварин оцінювали за вмістом загального білку за допомогою біуретової реакції [9], фракційного складу розчинних білків мозкової тканини шляхом електрофорезу на папері за Гуревичем А.Є. [9], за вмістом сульфгідрильних груп [10]. Ферментативну активність визначали за рівнем активності аланінамінотрансферази (АлАТ) та холінестерази (ХЕ) у гомогенаті головного мозку за допомогою стандартних наборів “Lachema” (Чехія). Чисельність груп складала 6-10 тварин.

При проведенні статистичного аналізу обов'язковою умовою була перевірка отриманих результатів на нормальність. При но-

рмальному розподілу для оцінки розбіжностей використовували критерій Стьюдента; при розподілі, відмінному від нормального, використовували критерій Х Ван дер Вардена: якщо Х-критерій  $> X_{05}$ , різниці між вибірками, які порівнюються, признаються значимими [11]. Комп'ютерна обробка даних використовувалась із застосуванням ліцен-

зійної програми Office Excel 2003 №НК9ТК-GB4KD-3936D- 8R6C8-DJTND.

**Результати досліджень.** У статевозрілого потомства вміст загального білку в тканинах головного мозку склав  $13,1 \pm 1,4$  г/100 г в контролі та  $19,7 \pm 1,3$  г/100 г в досліді (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст загального білку в тканинах головного мозку білих щурів покоління F<sub>1</sub>.

Вік тварин	Статистичні показники	Загальний білок, г/100 г	
		контроль	дослід
Ембріони	n	10	6
	M±m	24,5±1,7	23,7±1,9
Новонароджені	n	8	8
	M±m	29,1±1,8	26,8±2,6
14-денні щури	n	10	6
	M±m	30,0±2,2	31,7±1,7
1-місячні щури	n	6	6
	M±m	41,6±1,3	34,2±2,8*
2,5-місячні щури	n	6	6
	M±m	13,1±1,4	19,7±1,3**

Примітки:

- \* – різниці між показниками контрольної та піддослідної груп тварин статистично значимі за критерієм Х Ван дер Вардена, Х-критерій  $> X_{05}$ ;
- \*\* – різниці між показниками контрольної та піддослідної груп тварин статистично значимі за критерієм Х Ван дер Вардена, Х-критерій  $> X_{01}$ .

Порівняльний аналіз показав статистично підтвержене зниження вмісту білку в тканинах головному мозку одномісячних піддослідних щурят у порівнянні з контрольними даними (Х-критерій  $> X_{05}$ ). При досягненні щурятами статевої зрілості (2,5 місяці) вказані зміни набували зворотного характеру: статистично підтвержене перевищення контрольних показників (Х-критерій  $> X_{01}$ ). Тобто в білковому метаболізмі головного мозку піддослідного потомства віком один місяць спостерігалась перевага катаболічних реакцій над анаболічними, в період 2,5 міс (період статевої зрілості), навпаки, накопичення пластичних речовин, що вказує на домінування білкових анаболічних реакцій.

За допомогою електрофорезу білки головного мозку розділили згідно зі своєю активністю на чотири фракції: альбумінову, α-, β- і γ-глобулінові. Такий розподіл є специфічним для білків головного мозку та узгоджується з даними літератури [13]. В усі

розглянуті періоди онтогенезу найбільшою фракцією білків визначені γ-глобуліни, їх вміст коливався в контрольній групі в межах 38,3-51%, у піддослідній – 32,7-50,4%, потім йдуть β-глобуліни, вони склали 24,5-33% в контролі та 24-31,8% в досліді. Вміст α-глобулінів відрізнявся у різні вікові періоди: при народженні вони визначені на рівні 8,6-9,2%, у віці 2,5 міс – 17,2-21,8%. В цілому, розподіл білкових фракцій тканин головного мозку в обох групах тварин знаходився в межах вікової фізіологічної норми, незначні коливання у певні періоди постнатального онтогенезу носили, можливо, адаптивний характер, що підтвердилися даними літератури [12].

Вміст загальних сульфгідрильних груп в тканинах головному мозку контрольних і піддослідних тварин у всі розглянуті періоди не відрізнявся, максимальний вміст визначений у одномісячних тварин – на рівні  $0,63 \pm 0,05$  мкмоль/100мг. Встановлено стати-

стично значиме збільшення вмісту небілкових сульфгідрильних груп у 20-денних ембріонів у порівнянні з контролем ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ). У вмісті білкових SH-груп не визначено статистично значимих різниць між контрольною і піддослідною групами тварин.

Активність ферментів визначали починаючи з 14-денного віку, оскільки в ранньому постнатальному періоді встановлена низька активність ферментів головного мозку, її визначення на цьому етапі розвитку вважали недоцільним [13]. Відомо, що амінотрансферази відіграють велику роль в утворенні набору амінокислот, які необхідні

для білкового синтезу. Найбільша активність АлАт в гомогенаті головного мозку виявлена у одномісячних тварин –  $281,8 \pm 19,3$  мкмоль/год $\times$ г в досліді і  $270,0 \pm 14,1$  мкмоль/год $\times$ г в контролі (табл. 2). Найвища активність АлАТ співпадає з піком максимального вмісту загальних білків в головному мозку: в обох групах тварин їх максимуми припали на віковий період один місяць. Встановлене статистично підтвержене збільшення активності АлАТ в гомогенаті головного мозку піддослідного потомства у порівнянні з контрольним ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ).

Таблиця 2. Ферментативна активність тканин мозку білих щурів покоління F<sub>1</sub>.

Вік тварин	Стат. показники	Холінестераза, мкмоль/(г $\times$ хв)		Аланін-амінотрансфераза, мкмоль/год $\times$ г	
		контроль	дослід	контроль	дослід
14 денні	n M $\pm$ m	6 376,8 $\pm$ 31,2	6 300,7 $\pm$ 28,2	6 206,7 $\pm$ 5,5	6 240,0 $\pm$ 13,1*
Одномісячні	n M $\pm$ m	6 393,8 $\pm$ 40,8	6 367,7 $\pm$ 35,5	6 270,0 $\pm$ 14,1	6 281,8 $\pm$ 19,3
2,5-місячні	n M $\pm$ m	6 502,4 $\pm$ 64,4	6 417,3 $\pm$ 31,4	9 155,0 $\pm$ 6,7	9 171,7 $\pm$ 5,9

Примітка. \* – різниця між показниками контрольної та піддослідної груп тварин статистично значима за критерієм  $X$  Ван дер Вардена,  $X$ -критерій  $> X_{05}$ .

Максимальна активність ХЕ зареєстрована в гомогенаті головного мозку статевозрілого потомства:  $502,4 \pm 64,4$  мкмоль/(г $\times$ хв) (контрольна група) і  $417,3 \pm 31,4$  мкмоль/(г $\times$ хв) (піддослідна група), мінімальна у 14-денних тварин – відповідно  $376,8 \pm 31,2$  мкмоль/(г $\times$ хв) і  $300,7 \pm 28,2$  мкмоль/(г $\times$ хв). Вікове збільшення активності ХЕ в гомогенаті головного мозку тварин знаходиться в прямому зв'язку із виникненням рефлекторних рухів, біоелектричною активністю нервових клітин і т.і [13].

Зниження активності ХЕ в гомогенаті головного мозку піддослідних тварин у порівнянні з контрольними спостерігається у всі розглянуті періоди, найбільша різниця визначена у 2,5-місячних тварин.

Таким чином, в білковому метаболізмі тканин головного мозку піддослідної групи тварин віком один місяць спостерігалась перевага катаболічних реакцій над анаболічними, в період 2,5 міс (період статевої зрілості) – зниження рівня обміну до низького, енергетично вигідного з мінімальною кількістю витрат пластичних речовин. Найбільші різниці у вмісті небілкових сульфгідрильних груп виявлені у гомогенаті мозку 20-денних піддослідних ембріонів – статистично значиме перевищення контрольних показників ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ).

У 14-денного піддослідного потомства активність АлАТ в гомогенаті головного мозку достовірно збільшена у порівнянні з контрольними тваринами ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ).

## Висновки

1. Онтогенетичне дослідження вмісту білку в тканинах головного мозку тварин показало його зменшення у піддослідних щурів віком один місяць ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ), а у стате-

возрілого потомства його збільшення ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ) у порівнянні з контрольними тваринами. Аналіз вмісту сульфгідрильних груп виявило збільшення їх небілкової фракції у гомогенаті мозку 20-денних піддослідних ембріонів ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ) у порівнянні з контрольними тваринами.

2. У 14-денного піддослідного потомства активність АЛАТ в гомогенаті головного мозку вірогідно збільшена у порівнянні з контрольними тваринами ( $X$ -критерій  $> X_{05}$ ). Протягом розглянутого періоду онтогенезу виявлене зниження активності ХЕ в тканинах головному мозку піддослідних тварин, але через велику розбіжність результатів різниці між двома групами тварин не підтверджені статистично.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга / А.Г. Резников. – К.: Наукова думка, 1982. – 252 с.
2. Слоним А.Д. Среда и поведение / А.Д. Слоним. Л.: Наука, – 1976. – 211 с.
3. Guidelines for reproductive Toxicity Risk Assessment. EPA/630/R-96/009: Sept. 1996. – 163 p.
4. Principles for evaluating health risks to progeny associated with exposure to chemicals during pregnancy / Environmental health criteria 30. – Geneva: WHO, – 1984. – 177 p.
5. Morrison A.R. Methods and Welfare Consideration in Behavioral Research with Animals: Report of a National Institutes of Health Workshop / NIH Publication No. 02-5083. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, – 2002. – 101 p.
6. European convention for the protection of vertebrate animals for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, – 1986. – 53 p.
7. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes // Official Journal of the European Communities. – L358. – P. 1-29.
8. The ethics of research involving animals / Nuffield Council on Bioethics. – London. (ISBN 1 904384 10 2). – 2005. – 336 p.
9. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А. Покровского. – М.: Медицина. – 1969. – 652 с.
10. Фоломеев В.Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка / В.Ф. Фоломеев // Лабораторное дело. – 1981. – №1. – С. 33-35.
11. Статистические методы исследования в медицине и здравоохранении / Под ред. Л.Е. Полякова. – Л.: Медицина, – 1971. – 199 с.
12. Трахтенберг И.М. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко. – М.: Медицина. – 1991. – 208 с.
13. Возрастная физиология / Руководство по физиологии. – Л.: Наука, – 1975. – С. 109-259.

#### **ВЛИЯНИЕ АТМОСФЕРНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ГОРНО-МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО РЕГИОНА НА ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ**

*Богоявленская В.Ф., Харламова А.В., Бичева Е.Г.*

*Изучено влияние основных аэрогенных ксенобиотиков горно-металлургического комплекса в период внутриутробного развития на биохимические показатели головного мозга животных в процессе онтогенеза. Онтогенетическое исследование содержания белка в тканях мозга животных показало его уменьшение у одномесечных подопытных крыс ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ), а у половозрелого потомства его увеличения ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ) в сравнении с*

контрольными животными. Анализ содержания сульфгидрильных групп обнаружало увеличение их небелковой фракции в гомогенате мозга 20-дневных подопытных эмбрионов ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ) в сравнении с контрольными животными.

У 14-дневного подопытного потомства активность АлАТ в гомогенате головного мозга достоверно увеличена в сравнении с контрольными животными ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ).

**INFLUENCE OF THE ATMOSPHERIC CONTAMINATION IN MINER-METALLURGICAL REGION ON PARTICULARITIES OF THE BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE CEREBRUM ANIMAL**

*V.F. Bogoyavlenska, A.V. Kharlamova, O.G. Bicheva*

*Influence of atmospheric contamination of miner-metallurgical complex on the biochemical indexes of cerebrum of animals in the process of ontogenesis. Ontogenetic research of maintenance of protein in fabrics of brain of animals rotined his diminishing for one-month experimental rats ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ), and at animals in age 2,5 month of his increase ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ) by comparison to control animals. The increase of their nonprotein fraction found out the analysis of maintenance of SH- groups in homogenate the brain of 20-daily experimental embryos ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ) by comparison to control animals.*

*At 14-daily experimental posterity activity of alanine aminotransferase in homogenate of cerebrum for certain is increased by comparison to control animals ( $X$ -критерий  $> X_{05}$ ).*

Куратор розділу – д. мед. наук Турос О.І.