

УДК 613.31:546.32 / 33-092.9

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ІЗОЛЬОВАНІЙ І КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ НА ТЛІ ВЖИВАННЯ ВОДИ З ВМІСТОМ СТЕАРАТІВ НАТРІЮ ТА КАЛІЮ

В.А. Кондратюк, О.Є. Федорів, О.В. Лотоцька, Г.А. Крицька

ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

Вступ

З кожним роком довілля зазнає все більшого антропогенного навантаження, особливо важкими металами, серед яких особливе місце займає свинець і його сполуки. Свинець – протоплазматична отрута кумулятивної дії. Найбільш раннім та загальним проявом є ушкодження лізосомального апарату клітини з підвищенням активності кислої фосфатази у сироватці крові та гомогенатах тканин. Важливим негативним впливом ксенобіотика на організм людини вважається зниження адаптаційної та гомеостатичної ролі імунної системи [1]. В організм людини велика частина свинцю надходить з продуктами харчування (від 40 до 70 %), а також з питною водою, атмосферним повітрям, при палінні, при випадковому попаданні в стравохід шматочків свинецьвмісної фарби або забрудненого свинцем ґрунту [2]. Він засвоюється з їжею дорослими на 10 %, а дітьми – на 20 %. Щоденно в організм людини потрапляє 70-400 мкг свинцю, з яких в організмі затримується до 16 мкг. Свинець проникає у кров і розподіляється в кістках (90 %), печінці та нирках. У середньому в організмі людини міститься 120 мкг свинцю, розподіленого в усіх органах, тканинах і кістках. Свинець викликає патологічні зміни в нервовій системі, кровотворних органах, системі травлення, нирках, впливає на органи розмноження, блокує роботу ферментних систем [3].

Свинець та його сполуки широко використовуються в промисловості: машино- та приладобудуванні, радіоелектроніці, в акумуляторному, кабельному, поліграфічному виробництві, виплавці кольорових металів, в чорній металургії, виробництві кристалю, фарб та емалі для порцелянової промисловості тощо. [4]. Вони характеризуються високою токсичністю і підвищеною здатністю до кумуляції, як в екосистемах, так і організмі людини і тварин, що зумовлює небезпечність його навіть у невеликих кількостях. Враховуючи значну поширеність сполук свинцю у навколишньому середовищі, дані дослідження мають значну соціальну та економічну значимість [5, 6].

Потрапляючи зі стічними водами у водойми, сполуки свинцю можуть контактувати з поверхнево-активними речовинами, в тому числі аніонними ПАВ, типу стеаратів натрію і калію, які здатні впливати як на токсичність так і проникність важких металів в організм теплокровних тварин.

Метою роботи було вивчити стан антиоксидантної системи (АОС) в організмі піддослідних тварин при ізольованій і комбінованій дії ацетату свинцю на тлі вживання води з вмістом стеаратів натрію та калію. Для цього вивчали в сироватці крові, гомогенатах печінки та

нирок такі біомаркери антиоксидантного захисту (АОЗ), як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), пероксидазна активність крові (ПАК) та церулоплазмін (ЦП) [7].

Матеріали і методи дослідження

Досліди проводились на чотирьох групах білих щурів-самок масою 150-200 г, по 7 тварин в кожній. Групи формували методом рандомізації. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, та норм біомедичної етики і „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [8].

Тварини знаходилися на загально прийнятому раціоні віварію в однакових умовах і відрізнялися лише за якістю питної води. Воду брали з Тернопільського міського водогону, який живиться з алювіального горизонту, розташованого на глибині 28-32 м. За хімічним складом вода гідрокарбонатно-кальцієвого класу і відповідає вимогам ДСанПіН України № 2.2.4-171-10 „Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною” [9]. Воду дехлорували і збагачували стеаратами натрію і калію.

Перша група тварин була контрольною і споживала дехлоровану воду з міського водогону. Друга група споживала дехлоровану воду з міського водогону з наступним введенням ацетату свинцю (Вода+AcPb). Третя та четверта групи тварин протягом 40 днів споживали воду відповідно одна з вмістом стеарату натрію, інша - стеарату калію в дозі 1/250 ЛД₅₀ з наступним введенням ацетату свинцю в дозі 70 мг/кг - відповідно групи (StK+AcPb) і (StNa+AcPb). Через три доби тварин виводили з експерименту шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом з дотриманням правил біоетики. Для вивчення антиоксидантного захисту досліджували активність супероксиддисмутази (СОД) за методом Чеварти (Чеварта и др., 1985) [10]. Активність КАТ в сироватці крові визначали по здатності перекису водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [11]. Наявність ПАК в крові – за реакцією окиснення бензидину в присутності пероксиду водню [12]. Вміст ЦП в сироватці крові – за здатністю п-фенілендіаміну в присутності ЦП окиснювати фермент з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору [13].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 4.5, результати визначали у вигляді середніх арифметичних та їх стандартних помилок, вірогідність різниці між величинами, що порівнювали, визначали за t-критерієм. Достовірність оцінювали за методом Mann-Whitney UTest [14]. Кореляційний аналіз, дивізивний і аддитивний варіанти розрахунку коефіцієнту

сумісної дії за показниками центральної тенденції, варіабельності та оцінок вірогідності за М. Ю. Антомоновим [15].

Результати дослідження та їх обговорення

В організмі ссавців проявам негативного впливу вільних радикалів і перекисних сполук запобігає багатоконпонентна антиоксидантна система, яка пригнічує вільнорадикальне окиснення або нейтралізує вже утворені вільні радикали чи ліпоперекиси.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що вживання питної води з вмістом субтоксичних концентрацій стеарату натрію і калію та наступним пероральним введенням ацетату свинцю призвело до зростання активності СОД у сироватці крові та гомогенатах печінки і нирок білих щурів (рис. 1), найбільш виражене у щурів 3-ї групи – в 6,2 рази ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою. У тварин 2-ї групи концентрація СОД була у 6,1 рази вищою, а у тварин 4-ї групи – у 5,5 разів ($p < 0,001$).

Як видно з рис. 1, стеарати натрію і калію проявляли виражену дію на токсичність ацетату свинцю в печінці тварин. Так, у експериментальних тварин 3-ї і 4-ї груп, що вживали воду із стеаратами натрію та калію, активність СОД в 6,3 та 8,4 рази відповідно ($p < 0,001$) перевищувала активність даного ферменту у тварин контрольної групи. У тварин 2-ї групи, яким вводили стеарат свинцю на тлі вживання звичайної питної води, активність СОД була в 4,3 рази вищою, ніж у інтактних тварин ($p < 0,001$).

Отримані результати свідчать, що зміни хімічного складу води впливали на токсичність ацетату свинцю. У тварин 3-ї та 4-ї груп активність СОД була у 1,5 і 2,0 рази більшою, ніж у тварин 2-ї групи ($p < 0,001$).

Як видно з рис. 1 при споживанні води із стеаратами натрію та калію і з подальшим пероральним введенням ацетату свинцю відбувалося статистично недостовірне підвищення активності СОД у гомогенатах нирок у тварин 2-ї, 3-ї та 4-ї груп в порівнянні з контрольною групою: в 1,3, 1,7 та 1,3 рази відповідно ($p > 0,05$).

При комбінованій дії води зі стеаратами натрію та калію і з подальшим пероральним введенням ацетату свинцю відбувалося статистично недостовірне підвищення активності КАТ в сироватці крові в порівнянні з контрольною групою тварин (рис. 2).

У сироватці крові тварин 2-ї групи, яким вводили ацетат свинцю на тлі вживання звичайної води, активність КАТ зменшилася в 1,1 рази, у тварин 3-ї групи на тлі вживання води зі стеаратом натрію зросла в 1,5 рази, а 4-ї в 1,4 порівнянні з контрольною групою.

У тварин 3-ї та 4-ї груп, які вживали воду із стеаратами натрію та калію відповідно та з наступним пероральним введенням ацетату свинцю, активність КАТ у сироватці крові статистично достовірно ($p < 0,001$) збільшилась у 1,7 та 1,6 рази в порівнянні з тваринами 2-ї групи, що вживали звичайну воду без стеаратів. А активність КАТ в гомогенаті печінки білих щурів у 2-й групі зросла в 2,4,

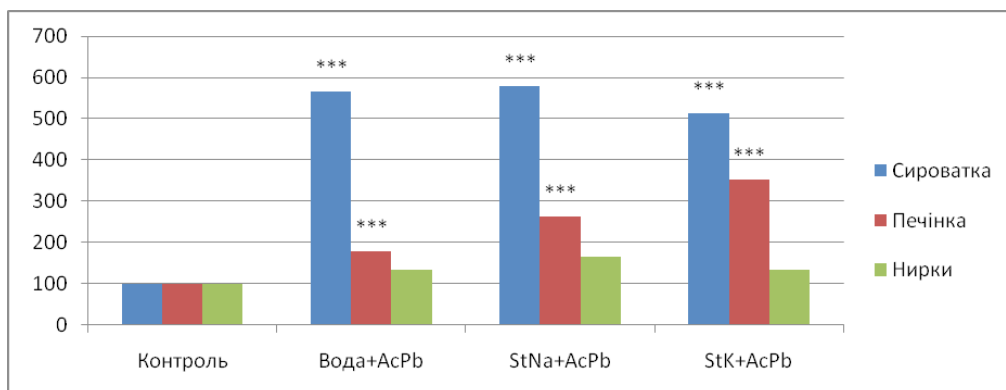


Рис. 1 – Активність супероксиддисмутази у сироватці крові, гомогенатах печінки та нирок білих щурів під дією ацетату свинцю при вживанні питної води та води з вмістом стеаратів натрію і калію (у %)

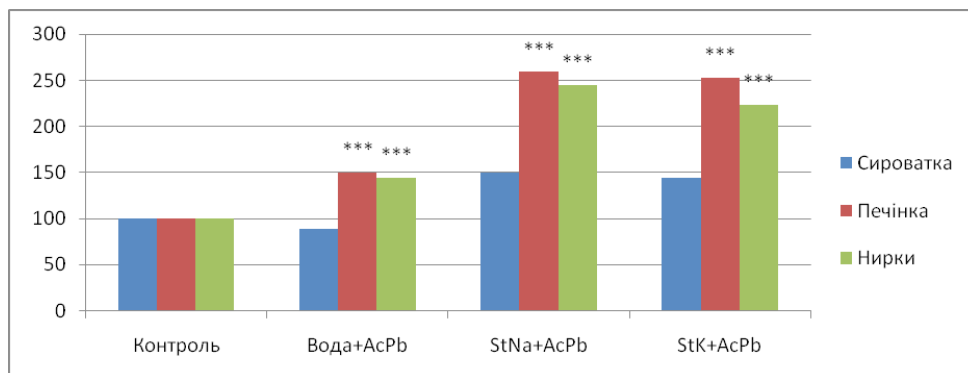


Рис. 2 – Активність КАТ в сироватці крові, печінці та нирках білих щурів при вживанні питної води та води з вмістом стеаратів натрію і калію в поєднанні з ацетатом свинцю (у %).

в 3-й групі – в 2,5 разів, а в 4-й – в 2,3 рази ($p < 0,001$) в порівнянні з контрольною групою. Причому, активність КАТ в сироватці крові та гомогенатах печінки при вживанні води з вмістом стеарату натрію була вища, ніж зі стеаратом калію.

Аналогічні зміни спостерігалися і в гомогенатах нирок. Так, у тварин 2-ї групи, які вживали звичайну питну воду без стеаратів з наступним пероральним введенням ацетату свинцю, активність КАТ у гомогенатах нирок була у 2,3 рази більшою, ніж у тварин контрольної групи ($p < 0,001$). У щурів 3-ї групи, що споживали воду із стеаратом натрію, активність КАТ була у 2,7 разів більшою ($p < 0,001$), а у тварин 4-ї групи, які вживали воду із стеаратом калію – у 2,3 рази більшою ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактними тваринами.

При ізольованій і комбінованій дії ацетату свинцю на фоні вживання води з вмістом стеаратів натрію та калію відбувалося збільшення активності ПАК в сироватці крові (табл. 1).

Таблиця 1

Показники ПАК та ЦП у тварин при введенні ацетату свинцю на тлі вживання звичайної води та води із стеаратами натрію та калію (ммоль/х.дм3) ($M \pm m$)

Показник	1 група контроль	2 група, вода + Ац	3 група, StNa + Ац	4 група StK+ Ац
ПАК	166,26 \pm 2,81	299,87 \pm 9,85***	216,78 \pm 3,04***	222,06 \pm 13,33**
ЦП	5,66 \pm 0,24	9,57 \pm 0,26***	10,01 \pm 0,36***	13,47 \pm 0,78***

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Найбільшою активність ПАК була у тварин 2-ї групи, які вживали звичайну воду та 1,8 рази перевищувала контрольні величини ($p < 0,001$). У щурів 3-ї і 4-ї груп, які вживали воду із стеаратами натрію і калію відповідно, ПАК була в 1,3 рази вищою в порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,001$). В порівнянні з тваринами 2-ї групи у цих тварин активність була нижчою в 1,4 і 1,3 разів ($p < 0,001$) відповідно.

При оцінці ізольованої дії ацетату свинцю та комбінованої на тлі вживання води з вмістом стеаратів натрію та калію на антиоксидантну систему організму піддослідних тварин значну увагу приділяли ЦП, враховуючи його роль у підтримці функціональної активності різних систем протидії токсичним продуктам ВРО для збереження клітинного метаболізму та те, що дана речовина синтезується у печінці.

Згідно табл. 1 у тварин 4-ї групи, які вживали воду зі стеаратом калію з подальшим пероральним введенням ацетату свинцю, рівень ЦП був майже в 2,4 рази вищим, ніж у тварин контрольної групи ($p < 0,001$). У тварин 3-ї групи, які вживали воду зі стеаратом натрію, вміст ЦП був в 1,8 рази вищим, ніж у інтактних тварин ($p < 0,001$), а у тварин 2-ї групи – в 1,7 рази ($p < 0,001$). У тварин 4-ї групи, в порівнянні з тваринами 3-ї групи, рівень ЦП перевищував в 1,3 рази. У експериментальних тварин 4-ї групи, що споживали воду із стеаратом калію, вміст ЦП у

1,4 рази був більшим, ніж у тварин 2-ї групи, які вживали звичайну питну воду ($p < 0,001$).

Провівши кореляційний аналіз, дивізивний і аддитивний варіанти розрахунку коефіцієнту сумісної дії за показниками центральної тенденції, варіабельності та оцінок вірогідності, ми встановили, що комбінований вплив стеарату натрію та ацетату свинцю, стеарату калію та ацетату свинцю за вмістом каталази в сироватці крові та гомогенатах печінки і нирок характеризувався переважно незалежною дією (табл. 2). Комбінована дія стеарату натрію та ацетату свинцю за вмістом СОД у органах-мішенях печінки та нирках перебігала по типу потенціювання. Комбінований вплив стеарату калію та ацетату свинцю на вміст ЦП у крові також характеризувався потенціюючим ефектом.

Висновки

1. При ізольованій та комбінованій дії ацетату свинцю при пероральному введенні в дозі 70 мг/кг на тлі вживання води з вмістом стеаратів натрію та калію в субтоксичних дозах відбувалося підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту організму (супероксиддисмутази, каталази, пероксидазної активності крові та церулоплазміну у сироватці крові, гомогенатах печінки і нирок піддослідних тварин). Зміни показників були більш виражені при вживанні води з субтоксичними дозами стеаратів натрію, ніж стеаратів калію.

2. Комбінований вплив стеарату натрію та ацетату свинцю, стеарату калію та ацетату свинцю за вмістом каталази в сироватці, печінці і нирках характеризувався переважно незалежною дією, стеарату натрію та ацетату свинцю в гомогенатах печінки та нирок і ЦП у сироватці крові перебігала по типу потенціювання.

3. Встановлені дані свідчать про необхідність більш детального вивчення комбінованої дії на організм теплокровних тварин токсичних і нетоксичних речовин в різних середовищах.

Таблиця 2

Типи комбінованої дії стеарату натрію та ацетату свинцю, стеарату калію та ацетату свинцю у тварин за змінами показників антиоксидантної системи в сироватці, печінці і нирках

Показник	Органи	Варіант розрахунку	Стеарат натрію + ацетат свинцю	Стеарат калію + ацетат свинцю
Каталаза	Сироватка	R	Незалежна дія	Незалежна дія
		D	Незалежна дія	Незалежна дія
	Печінка	R	Незалежна дія	Незалежна дія
		D	Незалежна дія	Незалежна дія
	Нирки	R	Незалежна дія-Потенціювання	Незалежна дія
		D	Незалежна дія	Незалежна дія
СОД	Сироватка	R	Незалежна дія	Незалежна дія
		D	Незалежна дія	Незалежна дія
	Печінка	R	Потенціювання	Незалежна дія
		D	Потенціювання	Потенціювання
	Нирки	R	Потенціювання	Незалежна дія
		D	Потенціювання	Незалежна дія
Церулоплазмін	Сироватка	R	Незалежна дія	Потенціювання
		D	Незалежна дія	Потенціювання

Література

1. Особливості імунологічної реактивності у працівників експонованих свинцем / Карлова Е. А. та ін. // Вісник проблем біології і медицини – 2014 – Вип. 3, Том 1 (110) – с.148-152
2. Трахтенберг И. М. Роль свинца и железа, как техногенных химических загрязнителей, в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / И. М. Трахтенберг, И. П. Лубьянова, Е. Л. Апыхтина // *Therapia*. – 2010. – № 7–8 (49). – С. 36–39.
3. Стежка В. А. Науково обґрунтовані принципи і підходи до вторинної медико-біологічної профілактики екологічно обумовленої та професійної патології, пов'язаної з впливом на людину сполук свинцю. Частина I. Шляхи надходження до організму, особливості токсикокінези і токсикодинаміки свинцю / В. А. Стежка // *Современные проблемы токсикологии*. – 2005. – № 4. – С. 63–69.
4. Параняк Р.П. Шляхи надходження важких металів в довкілля та їх вплив на живі організми / Р.П. Параняк, Л.П. Васильцева, Х. І. Макух // *Біологія тварин*. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 83–89.
5. Ergurhan-Ilhan I. Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead / I. Ergurhan-Ilhan, B. Cadir, M. Koyuncu-Arslan [et al.] // *Pediatr Int*. – 2008. – Vol. 50, № 1. – P. 45–50.
6. Patrick L. Lead toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity / L. Patrick // *Alternative Medicine Review*. – 2006. – Vol. 11, № 2. – P. 114–127
7. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: [методические рекомендации] / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина; под ред. проф. В. Х. Хавинсона. – СПб: ИПК «Фолиант», 2000. – 104 с
8. Етика біомедичного експерименту / А.Я. Циганенко, М.В. Кривонос, Ю.С. Парашук [та ін.]; за ред.Ю.І. Кундієва // *Антологія біоетики*. – Львів: Бак, 2003. – С. 399 – 404.
9. Про затвердження Державних санітарних норм та правил "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною" 2.2.4-171– 10. – Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 12 травня 2010 року N 400. – Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 1 липня 2010 р. за N 452/17747.
10. Чеварти С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С.Чеварти, И. Чаба, И. Секей // *Лабораторное дело*. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
11. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, А. И. Иванова, И. Т. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело*. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
12. Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы / А.Н. Бояркин // *Биохимия*. – 1951. – Т. 16. – С. 352 – 355.
13. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – Москва: МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.
14. Гельман В.Я. Медицинская информатика: практикум. – СПб. Питер, 2001. – 480 с.
15. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М. Ю. Антомонов. – К., 2006. – 558с.

УДК 613.31:546.32 / 33-092.9

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ІЗОЛЮВАНІЙ І КОМБІНОВАНИЙ ДІЇ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ НА ТЛІ ВЖИВАННЯ ВОДИ З ВМІСТОМ СТЕАРАТИВ НАТРІЮ ТА КАЛІЮ

В.А. Кондратюк, О.Є. Федорів, О.В. Лотоцька, Г.А. Крицька

ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

Метою роботи було вивчення дії ацетату свинцю ізолювано і у комбінації зі стеаратами натрію і калію на

антиоксидантну систему організму (АОС) білих щурів. Для цього вивчали в сироватці крові, гомогенатах печінки і нирок активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), пероксидазної активності крові (ПАК) і церулоплазміну (ЦП).

Встановлено, що при пероральному введенні 70 мг/кг ацетату свинцю, як ізольовано на фоні вживання питної води з міського водопроводу, так і в комбінації з водою, що містить стеарати натрію і калію в субтоксичних дозах відбувалося підвищення активності АОС. За зміною більшості показників спостерігали незалежний тип комбінованої дії. Комбінована дія стеарату натрію і ацетату свинцю за змістом СОД в органах-мішенях (печінці і нирках) і ЦП у сироватці крові протікала по типу потенціювання.

Ключові слова: ацетат свинцю, питна вода, стеарат натрію, стеарат калію, антиоксидантний захист, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазна активність крові, церулоплазмін.

УДК 613.31:546.32 / 33-092.9

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ОРГАНИЗМЕ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЦЕТАТА СВИНЦА НА ФОНЕ УПОТРЕБЛЕНИЯ ВОДЫ С СОДЕРЖАНИЕМ СТЕАРАТОВ НАТРИЯ И КАЛИЯ

**В. А. Кондратюк, О. Е. Федорив,
Е. В. Лотоцкая, Г.А. Крицкая**

ГВУЗ „Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского” МЗ Украины

Целью работы было изучение действия ацетата свинца изолированно и в сочетании со стеаратами натрия и калия на антиоксидантную систему организма (АОС) белых крыс. Для этого изучали в сыворотке крови, гомогенатах печени и почек активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазной активности крови (ПАК) и церулоплазмينا (ЦП).

Установлено, что при пероральном введении 70 мг / кг ацетата свинца как изолированно на фоне употребления питьевой воды из городского водопровода, так и в комбинации с водой, содержащей стеараты натрия и калия в субтоксических дозах, происходило повышение активности АОС. По изменению большинства показателей наблюдали независимый тип комбинированного действия. Комбинированное действие стеарата натрия и ацетата свинца по содержанию СОД в органах-мишенях (печени и почках) и ЦП в сыворотке крови протекала по типу потенцирования.

Ключевые слова: ацетат свинца, питьевая вода, стеарат натрия, стеарат калия, антиоксидантная защита, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазная активность крови, церулоплазмин.

ANTIOXIDANT SYSTEM IN EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER THE EFFECT OF LEAD ACETATE DURING DRINKING WATER CONTAINING SODIUM STEARATE AND POTASSIUM

**V.A. Kondratjuk, O.E. Fedoriv, O.V. Lototska,
G.A. Krytska**

SHEI “Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky Health Ministry of Ukraine”

The aim of our work was to study the action of lead acetate in isolation and in combination with sodium and potassium stearate on the antioxidant system of the body (AOS) white rats. To this was studied in the serum, liver and kidney homogenates of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), the peroxidase activity of the blood (PAA) and ceruloplasmin (CP).

It is found that the oral administration of 70 mg/kg of lead acetate isolated on a background using of potable water from the municipal water supply, or in combination with water containing sodium and potassium stearates in subtoxic doses AOS occurred raising activity. The change most indicators observed independent type of combined action. The combined effect of sodium stearate and lead acetate on content of SOD in liver and kidney and CP in serum proceeded by potentiating type.

Keywords: lead acetate, water, sodium stearate, potassium stearate, antioxidant protection, superoxide dismutase, catalase, peroxidase activity of blood, ceruloplasmin.