

ВПЛИВ КАДМІЮ ХЛОРИДУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ У КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЇХ ТОКСИЧНОГО ОТРУЄННЯ

Чечуй О.Ф.¹, Мілевський А. Д.²

*Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди¹,
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна²*

Одноразове введення CCl_4 та CdCl_2 призводить до підвищення вільно радикальних реакцій та посилення процесів окислення ліпідів, білків, токсичних продуктів, які викликають розвиток ендогенної інтоксикації, деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран. Це призводить до змін ліпідних та білкових компонентів внаслідок активації внутрішньоклітинних гідролаз (зокрема, фосфоліпази А2) та зміни активності ферментів антиоксидантного захисту. Визначення вищевказаних показників можна рекомендувати для оцінки ступеня важкості інтоксикації за умов отруєння організму тетрахлоретаном у поєднанні з отруєнням хімічними токсинами, зокрема кадмію хлоридом.

Ключові слова: метаболічні порушення, тетрахлорметан, кадмія хлорид.

Influence of cadmium chloride on metabolic indices in blood and liver of rats in condition of intoxication. Chechui H.F., Milevsky A.D. – Activation of free radical processes in the organisms is found. It is accompanied with increasing of protein and lipid peroxydation. Single introduction of CCl_4 and CdCl_2 brings to increase of free radical reactions and activization of peroxidation of lipids, proteins, toxic products, which cause the development of endogenic intoxication, destruction of plasmatic and cytoplasmic membranes. It brings to the changes in lipid and protein components in result of activation of intracellular hydrolases (particularly, phospholipase A2) and change of activity of antioxidant enzymes. It is recommended to evaluate these indices for estimation of intoxication level caused by combined action of CCl_4 and CdCl_2 .

Key words: metabolic imbalance, tetrachlormethan, cadmium chloride.

ВСТУП

В останній час внаслідок збільшення антропогенного навантаження відбувається забруднення навколишнього середовища іонами важких металів, одним з яких є кадмій та його сполуки, що робить вельми актуальним вивчення механізмів впливу даного важкого металу на організм.

Одна з первинних реакцій на дію іонів та сполук важких металів, зокрема кадмію, є інтенсифікація вільно радикальних процесів перекисного окислення ліпідів, кінцевими продуктами яких є альдегіди, кетони, гідро перекиси, що виявляють токсичну дію. Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) є нормальним фізіологічним процесом, що відбувається у клітинах, але його підвищення вказує на ушкодження біомембран [3]. Відомо, що шкідливі мембранотропні фактори порушують не тільки ліпідну структуру мембран, а й білкові компоненти [6], що проявляється у зміні активності ферментів, а також структури деяких білків.

Активация ПОЛ внаслідок дії кадмію зумовлює реактивне підсилення антиоксидантного потенціалу клітин, а після вичерпування його ресурсів сприяє деструкції мембран і є однією із причин загибелі організму [10].

При надходженні сполук кадмію до організму розвивається гемічна гіпоксія, порушується процес перенесення кисню кров'ю, знижується рівень гемоглобіну в ній. Кадмія хлорид у реакції з оксигемоглобіном викликає гіперпродукцію активних форм кисню (АФК): H_2O_2 , O_2 , OH , NO_2 [18], які пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси ПОЛ. Активні форми кисню беруть участь у метаболічних процесах організму, пов'язаних з обміном ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, у синтезі простагландинів, лейкотрієнів, тромбосанів [15]. Вважають, що в стані окислювального стресу змінам за рахунок АФК підлягають, у першу чергу не ліпіди, а білки плазматичних мембран, що призводить до деполімеризації останніх та лізису клітини [11]. Ряд авторів цей процес розглядають як одну з можливих причин зміни у структурній організації білків, інактивації ферментів [11], що спричиняє порушення їх функцій.

Виходячи з вищезазначеного та враховуючи токсичну дію кадмію хлориду та його високу токсичність, а також токсичний ефект тетрахлорметану на печінку, ми поставили за мету – дослідити вміст продуктів ПОЛ, похідних альдегідо- та кетобілків, показники ендогенної інтоксикації та стан ферментативної антиоксидантної системи організму щурів за умов їх гострого отруєння CCl_4 та CdCl_2 .

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проводили на щурах лінії Вістар масою 170-180 г, які утримувались на звичайному раціоні віварію ХНУ імені В. Н. Каразіна. Щурів було поділено на дві групи: 1- інтактні тварини; 2- тварини, яким вводили CCl_4 та CdCl_2 .

Кадмія хлорид вводили внутрішньочеревинно у дозі 7 мг/кг маси тіла щурів. Відразу після CdCl_2 вводили внутрішньочеревинно в дозі 0,4 мл 50 % масляного розчину (однократно). Дослідження проводили на 1-шу та 3-тю добу.

Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію. Нижчепераховані показники вивчали в крові, сироватці та печінки щурів згідно із загальноприйнятими методиками: вміст метгемоглобіну (MetHb) [13], середніх молекул (СМ) [16], малонового діальдегіду (МДА) [1], похідні альдегідо- та кето білків [11], фосфоліпідів (ФЛ) [12], активність фосфоліпази А2 [9], каталази (КТ) та церулоплазмін (ЦП) [17]. Результати обробляли непараметричними методами статистики [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Наведені в таблицях результати досліджень дають можливість стверджувати, що спільна дія кадмію хлориду та тетрахлоретану призводить до порушень окиснювальних процесів та поєднаних з ними регуляторних систем.

Спостерігається підвищення окиснення гемоглобіну до метгемоглобіну, вміст якого в крові на 1-шу та 3-тю добу після введення щурам шкідливих чинників зріс більше, ніж у 2 рази (табл. 1). Зростання концентрації метгемоглобіну обумовлено головним чином впливом кадмію хлориду, оскільки утворені при цьому АФК - H_2O_2 , O_2 , OH , NO_2 можуть ініціювати перекисне окиснення мембранних ліпідів, білків та інших біологічно важливих сполук, що проявляється пошкодженням мембранних структур та нагромадженням у тканинах метаболітів, які ускладнюють перебіг окислювального стресу.

Таблиця 1

Вміст метгемоглобіну в крові тварин після введення їм тетрахлорметану та кадмія хлориду

Група тварин	1-ша доба	3-я доба
Інтактні	1,24±0,27	1,05±0,24
$CCl_4 + CdCl_2$	2,1±0,3*	2,3±0,25*

Примітка. У цій та в наступних таблицях: * - достовірні зміни між інтактними тваринами та отруєними тетрахлоретаном та кадмія хлоридом

У таблиці 2 доведено збільшення вмісту МДА у сироватці крові та печінці (табл. 2) на 1-у та 3-ю добу після введення в організм тварин тетрахлоретану з кадмію хлориду. Попередні дослідження інших авторів [5, 8] вказують на дистрофічно-некротичні зміни в печінці отруєних тетрахлоретаном щурів, що можна розглядати як результат сумарного впливу двох вищезазначених факторів. У той же час кадмію хлорид може викликати виразні зміни ПОЛ у ранні строки, тоді як тетрахлоретан обумовлює більш інтенсивні зміни і в дещо пізніші строки (3-я доба). Останнє обумовлено тим, що CCl_4 зазнає метаболічних перетворень з утворенням вільних радикалів (CCl_3 , Cl та ін.) в ендоплазматичній сітці печінки. Ці метаболіти у подальшому викликають усі наступні зміни.

Встановлене нами збільшення вмісту СМ в сироватці крові на 29 та 25 % відповідно, на 1-у та 3-ю добу експерименту порівняно з інтактними тваринами також доводить, що ці зміни є наслідком одразу двох чинників.

Підвищення вмісту СМ у крові та у печінці піддослідних тварин вочевидь відбувається внаслідок посилення гідролітичного розщеплення білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, спричиненого як активацією тканинних гідролаз, так і безпосереднім впливом деструктивних чинників на структури мембран, зокрема на їх білкові компоненти.

Цій же меті може служити підвищення фосфоліпази A_2 , яка, відщеплюючи у β -положенні фосфоліпідів арахідонову кислоту, проявляє прооксидантну дію як за

рахунок утвореного лізофосфатиду, так і звільненого арахідонату, що зазнає ендопереокиснення [14]. Тому зафіксоване нами зниження вмісту фосфоліпідів, яким притаманна антиоксидантна дія, у печінці на 1-у та 3-ю добу обумовлене не тільки дією вільних радикалів, але й активацією ФЛА₂, що посилює пошкоджуючу дію.

Таблиця 2

Показники ендогенної інтоксикації у сироватці крові та печінки тварин за умов введення їм тетрахлоретану та кадмію хлориду

Показник	Сироватка крові			Печінка		
	Інтактні	1-а доба	3-я доба	Інтактні	1-а доба	3-я доба
СМ, ум. од/л або кг	0,17± 0,003	0,22± 0,013*	0,26± 0,007*	3,32± 0,27	4,60± 0,17*	4,50± 0,19*
МДА, мм/л або кг	3,50± 0,19	4,12± 0,007*	5,11± 0,10*	2,44± 0,16*	5,18± 0,40 *	2,73± 0,006 *
Білок 370 нм ум. од/л або кг	0,22± 0,015	0,32± 0,012*	0,62± 0,017*	0,47± 0,022*	0,74± 0,016*	0,92± 0,030*
Білок 430нм ум. од/л або кг	0,20± 0,012	0,26± 0,013*	0,40± 0,016*	0,62± 0,024	0,67± 0,021	0,78± 0,019*
ФЛ, г/л	2,80± 0,26	5,42± 0,34*	6,00± 0,21*	8,34± 0,22	6,70± 0,23*	6,11± 0,34*
ФЛА ₂ , ум. од/л або кг	1,70± 0,28	2,50± 0,24	3,26± 0,28*	18,00± 1,70	22,40± 0,35	31,53± 0,25*

Відсутність змін щодо вмісту ФЛ у сироватці крові піддослідних тварин можна розглядати як результат переміщення частини їх з інших органів у кров, можливо, з метою доставки у печінку для компенсації втрат.

Водночас настає й окислювальна модифікація білкових компонентів мембранних структур, зростає вміст альдегідо- та ектопохідних білків, які у поєднанні з продуктами переокиснення ліпідів є токсичними і спричиняють зміни у структурі мембран, посилюють вихід із цитоплазми субстратів, ферментів та можуть активувати самі цитоплазматичні ферменти, що супроводжується підвищенням активності ФЛА₂ та ферментів антиоксидантного захисту. Таким чином, підвищення вмісту ЦП у 2,5 рази (табл. 3), що спрямоване на знешкодження АФК, є захисною реакцією та наслідком посиленого його виходу із гепатоцитів у кров, чому сприяє збільшення проникності мембран останніх. До синтезу та виходу у кров ЦП можуть бути причетні і АФК, які окислюють Cu⁺ до Cu²⁺ у складі альфа-глобулінової фракції.

Таблиця 3

Активність ферментів антиоксидантного захисту в сироватці крові та печінці тварин після введення їм тетрахлоретану та кадмію хлориду

Група тварин	Сироватка крові				Печінка	
	1-а доба		3-я доба		1-а доба	3-я доба
	ЦП, ммоль/л	Каталаза, кат/кг	ЦП, ммоль/л	Каталаза, кат/кг	Каталаза, кат/кг	
Інтактні	0,14± 0,003	0,02± 0,001	0,16± 0,004	0,03± 0,002	0,14± 0,008	0,11± 0,004
CCl ₄ +CdCl ₂	0,34± 0,01*	0,08± 0,002*	0,40± 0,006*	0,08± 0,003*	0,18± 0,004*	0,17± 0,004*

Підвищення активності каталази крові і печінки експериментальних тварин також слід розглядати як захисну реакцію організму, оскільки каталаза не тільки розкладає H₂O₂, а й використовує його для знешкодження токсичних речовин (пероксидазна дія).

ВИСНОВКИ

Таким чином, отруєння CCl₄ та CdCl₂ призводить до посилення вільнорадикальних реакцій та посилення процесів перекисного окиснення ліпідів, білків, токсичні продукти яких викликають розвиток ендогенної інтоксикації, деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран. Це призводить до змін ліпідних та білкових компонентів внаслідок активації внутрішньоклітинних гідролаз (зокрема, фосфоліпази A₂) та зміни активності ферментів антиоксидантного захисту. Визначення вищевказаних показників можна рекомендувати для оцінки ступеня важкості інтоксикації за умов отруєння організму хімічними токсинами.

Аналіз результатів досліджень та зіставлення їх з даними літератури дозволили сформулювати орієнтовну схему перебігу процесів за умов даної експериментальної патології.

Література

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой /Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин // Лаб. дело. –1988. – № 11. – С. 41– 43.
2. Арчаков А. И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А. И. Арчаков, И. М. Михосоев // Биохимия. – 1998. – Т. 54 – № 2. – С. 179 – 186.
3. Барабой В. А. Механизм стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Биохимия. – 1991. – Вып. 6. – С. 923–931.

4. Барабой В. А. Окислительно-оксидантный гомеостаз в норме и патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковой // – К.: Наукова думка, 1997. – 420 с.
5. Кошель В. М. Вивчення показників ліпідного обміну та вільнорадикального окиснення при гепатиті / В. М. Кошель, І. М. Ліщ, Н. Є. Лісничук // Наук. записки. Сер. Біологія. – 2007. – Т. 3. – № 2. – С. 179–186.
6. Григор'єва Н. П. Окислювальна модифікація білків та активність деяких антиоксидантних ферментів крові щурів за дії настоянки арніки гірської / Н. П. Григор'єва // Мед. хімія. – 2007. – Т. 2 – № 1. – С. 70–72.
7. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е. В. Гублер. – Ленинград: Медицина, 1978. – 294 с.
8. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – К.: Здоров'я. – 2002. – 166 с.
9. Гутилин С. А. Метод определения фосфолипазы А₂ в сыворотке крови / С. А. Гутилин, А. И. Салуенья // Лаб. дело. – 1975. – № 6. – С. 35–39.
10. Канапацкая И. А. Показатели пероксидного окисления липидов в митохондриях печени крыс после введения им ксенобиотиков / И. А. Канапацкая, Т. Н. Зырянова // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 70. – № 6. – С. 113–118.
11. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І.Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісник. – 2006. – Т. 2. – № 1. – С. 156–158.
12. Пентюк А. А. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с ферроцианатом аммония / А. А. Пентюк, В. И. Гуцол, О. А. Яковлева // Лаб. дело. – 1987. – № 6. – С. 457–459.
13. Покровский А. А. Биохимические методы исследования в клинике / А. А. Покровский – М.: Медицина, 1999. – 650 с.
14. Даценко З. М. Роль фосфоліпідів у мембранах функціонально різних клітин за порушення антиоксидантної системи / З. М. Даценко, Г. В. Донченко, О. В. Шахман // Укр. біохім. журн. – 1996. – Т. 68., № 1. – С. 49–54.
15. Рябиченко Е. В. Роль активних форм кислорода, генерируемых фагоцитами, в патогенезе заболеваний / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко, В. В. Рябиченко // Радиобиология и радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 4. – С. 65–70.
16. Способ диагностики эндогенной интоксикации / [А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
17. Тарасов Н. И. О роли определения церулоплазмينا в лабораторной диагностике хронического простатита / Н. И. Тарасов, С. П. Серегин, И. А. Волчегорский // Клинич. лаб. діагностика. – 1998. – № 1. – С. 19–20.
18. Тиунов Л. А. Токсические метгеноглобтнемы / Л. А. Тиунов, С. П. Серегин, В. А. Иванова // Воен.-мед. журн. – 1991. – № 12. – С. 41–44.

Влияние хлорида кадмия на метаболические показатели в крови и печени крыс в условиях токсического отравления. Чечуй Е.Ф., Милевский А.Д. – Одноразовое введение CCl_4 и CdCl_2 приводит к повышению свободно радикальных реакций и усилению процессов перекисного окисления липидов, белков, токсических продуктов, которые вызывают развитие эндогенной интоксикации, деструкцию плазматических и цитоплазматических мембран. Это приводит к изменению липидных и белковых компонентов в следствии активации внутриклеточных гидролаз (а именно, фосфолипазы A_2) и изменения активности ферментов антиоксидантной защиты. Определение выше упомянутых показателей можно рекомендовать для оценки степени тяжести интоксикации при условии отравления организма тетрахлоретаном в соединении с отравлением химическими токсинами, а именно хлоридом кадмия.

Ключевые слова: метаболические нарушения, тетрахлоретан, хлорид кадмия.