

ПОРІВНЯННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ОТРУЄННЯ ЇХ СВИНЦЕМ В МАКРОДИСПЕРСНІЙ ТА НАНОФОРМІ

© І. А. ЛАЗАРЕНКО, Н. М. МЕЛЬНИКОВА

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: ilazarenko2009@yandex.ru

У роботі показано, що збільшення вмісту свинцю в крові (у 6,3 і 3,7 разів) та печінці щурів (в 30,1 і 4,6 разів), отруєних шляхом 14-денного перорального введення в дозі 7 мг/100 г маси тіла тварини як макродисперсної, так і наноформи свинцю відповідно, призводить до підвищення активності ензимів крові: аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази, γ -глутамілтранспептидази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази та зниження рівня креатиніну. При цьому наноформа свинцю при незначному накопиченні, можливо за рахунок більшої елімінації, виявляє високу біологічну активність та реакційну здатність порівняно з макродисперсною. Отже, отруєння щурів свинцем в різних дисперсних формах призводить до метаболічних порушень в організмі тварин, причому накопичення свинцю та біохімічні зміни є найвираженішими в печінці.

Ключові слова: макродисперсна форма свинцю, наноформа свинцю, аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза, γ -глутамілтранспептидаза, лужна фосфатаза, лактатдегідрогеназа, креатинін.

Гомеостаз внутрішнього середовища організму перед усім залежить від взаємозв'язку окремих ланок обміну речовин і лабільності компонентів, які беруть участь у загальній системі. Кров як одна із біологічних рідин організму відповідає якісними і кількісними змінами свого складу на будь-які екзогенні та ендогенні впливи, а тому є своєрідним біомаркером, який дозволяє визначити загальний стан органів і систем та оцінити перебіг основних обмінних процесів. Саме тому дослідження біохімічних показників крові є одним із інформативних методів, що дозволяє встановити перехід фізіологічного стану організму в патологічний, зокрема і за дії на нього екзогенних факторів.

Важкі метали – значна група токсикантів, яким притаманне глобальне поширення, стійкість і наявність в усіх життєво важливих середовищах довкілля [1].

Необхідність вивчення впливу ксенобіотиків на живий організм обумовлений значним поширенням цих сполук у навколишньому середовищі, їхньою стійкістю, високою здатністю до кумуляції в об'єктах біосфери, легкістю включення в основні харчові ланцюги і ризиком накопичення в організмі в значній кількості [2,3]. Токсичне ураження важкими металами спричиняє порушення з боку ендокринної, імунної, сечовидільної, травної,

нервової, дихальної та репродуктивної систем, а також негативно впливає на роботу органів, які підтримують кислотно-лужний гомеостаз в організмі [3].

Повсякденний ріст темпів застосування важких металів вимагає посиленої уваги до вивчення їх негативного впливу на організм людини і тварин. Особливо гостро це питання постало нині, коли відбувається інтенсивний розвиток нових технологій, зокрема нанотехнологій, що призводить до підвищення рівня взаємодії наночастинок з біооб'єктами, при цьому інформації щодо потенційної їх небезпеки для здоров'я на сьогодні недостатньо [4].

Широке використання наночастинок металів вивело на якісно новий рівень дослідження, які стосуються їх впливу на живий організм [5]. Велика питома поверхня наночастинок, що збільшує їхню адсорбційну ємність, хімічну реакційну здатність і каталітичні властивості, призводить до збільшення продукції вільних радикалів і активних форм кисню та пошкодження біологічних структур. Невеликі розміри і різноманітність форм наночастинок дають можливість зв'язуватися з нуклеїновими кислотами, протеїнами, вбудовуватися в мембрани, проникати в клітинні органели і, тим самим, змінювати функції біоструктур [6, 7].

Високі адсорбційні властивості наночастинок збільшують їх потенційну небезпеку у зв'язку з накопиченням на поверхні великої кількості супутніх токсичних речовин і проведенням їх крізь мембрани і біологічні бар'єри [5].

Свинець та його сполуки серед представників багаточисленного класу важких металів вважаються одними з найтоксичніших. Навіть за низького рівня цього важкого металу в крові він зумовлює серйозні порушення метаболізму[8].

Оскільки наноформа свинцю відмінна від макродисперсної не тільки за фізико-хімічними властивостями, а можливо і біологічною дією, важливим є порівняти біохімічні зміни, які вони спричиняють у разі надходження в організм тварин. Тому метою роботи було порівняння біохімічних показників крові, які характеризують активність ензимів: аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), гамаглутамілтранспептидази (ГГТП), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ) і протеїновий обмін, а саме концентрації загального протеїну, креатиніну, сечовини у крові щурів за отруєння свинцем у макродисперсній та наноформі.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на статевозрілих самцях білих лабораторних щурів масою тіла 200–220 г. Отруєння щурів проводили впродовж 14 діб шляхом щоденного перорального введення 1%-го розчину свинцю ацетату в дозі 7 мг/100 г маси тіла тварини, що становить 1/110 ЛД₅₀ (макродисперсна форма) та наночастинок свинцю (наноформа) в аналогічній дозі [1]. Інтактним тваринам перорально вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Дослід проводили за схемою: група 1 – інтактні щури; група 2 – щури, отруєні макродисперсною формою свинцю; група 3 – щури, отруєні наночастинками свинцю (наноформа). У кожній групі було по 10 тварин. В експерименті використовували ацетат свинцю виробництва «Макрохім» (Україна). Тривалість досліді – 14 діб. Експеримент проводили у трьох повторностях відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Зразки крові та печінки готували шляхом сухого озолення. Вміст свинцю визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індукційно-зв'язаною плазмою на приладі Optima 2100 DV виробництва США. Визначен-

ня активності: АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЛДГ, ЛФ, концентрації загального протеїну, сечовини, креатиніну в сироватці крові щурів проводили на біохімічному аналізаторі «Microlab-200» (Нідерланди). Дослідження проводили з використанням стандартних наборів реагентів фірми Human (Німеччина).

Результати досліджень оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми MS Excel з визначенням *t*-критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

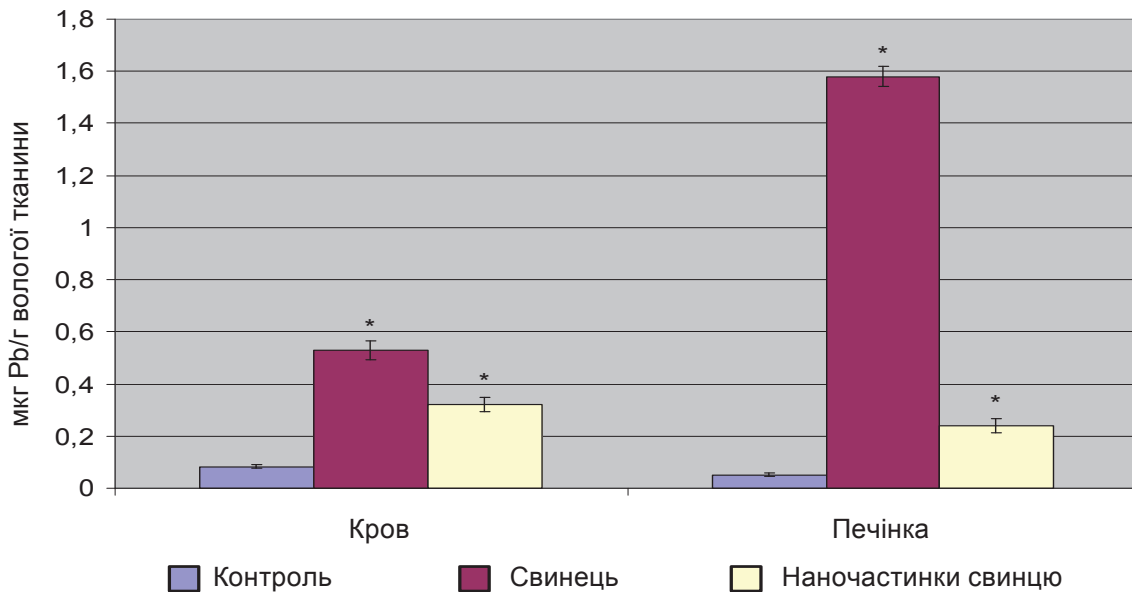
Розвиток клінічних проявів різноманітних змін в організмі залежить від адаптаційних можливостей біохімічних систем організму, функціонування яких порушується в екстремальних умовах, у тому числі і за дії важких металів.

Свинець і його сполуки належать до висококумулятивних отрут, які виявляють токсичний вплив лише за умови проникнення в клітини та характеризуються повільним виведенням із організму і політропністю дії [9]. Характер розподілу свинцю і ступінь його накопичення залежить від спорідненості до різних структур та біохімічних компонентів тканин і органів, міцності утворених комплексів, швидкості їх елімінації [1, 10].

Результати проведених досліджень свідчать, що вміст свинцю в крові отруєних свинцем у макродисперсній та наноформі щурів збільшується у 6,3 та 3,7 раза відповідно порівняно з інтактними щурами (рис.). Кількісний вміст свинцю в крові відображає рівень навантаження організму його сполуками, а розподіл свинцю в органах і тканинах тварин залежить від інтенсивності кровообігу та спорідненості металу [8].

Усі метали, незалежно від їх біологічного значення, за надлишкового надходження в організм тварини та людини спричиняють токсичні ефекти, які виявляються в порушенні біохімічних процесів і фізіологічних функцій в організмі [5]. Результати наших досліджень показали, що в печінці щурів, отруєних свинцем у макродисперсній та наноформі, вміст цього важкого металу збільшується у 30,1 та 4,6 раза відповідно (рис.).

Відомо, що печінка є основним органом, який виконує функцію детоксикації в організмі, і накопичення в ній свинцю може бути спричинене зв'язуванням його з металотіонеїнами, значна кількість яких знаходиться в печінці [1, 11]. Як видно з результатів дослідження вмісту різних форм свинцю в печінці тварин,



Вміст свинцю у крові та печінці щурів за отруєння їх свинцем в макродисперсній та наноформі ($M \pm t$, $n = 10$). Тут і далі * $P < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами

наночастинки накопичуються в ній значно менше. Малий розмір наночастинок сприяє не тільки швидкому проникненню у клітини, але і відсутністю утворення комплексів, що можливо сприяє більшій рухливості металу і зумовлює його прискорену елімінацію.

Визначення накопичення важких металів в організмі тварин недостатньо для оцінки їх біологічної дії в наноформі, оскільки розмір частинок, площа поверхні, а також концентрація маси наночастинок не є найкращим виміром для залежності доза—ефект[12].

З позицій сучасних біохімічних досліджень впливу свинцю на клітинний метаболізм в організмі, який обумовлений ензимотоксичною і мембранотропною його дією, як наслідок блокування металом функціональних протеїнових груп (сульфгідрильних, карбоксильних, амінних), що підтверджується також результатами наших досліджень [8, 11]. Під час визначення активності ензимів у крові дослідних тварин нами показано, що активність АлАТ у крові щурів, отруєних свинцем в макродисперсній та наноформі, зростає в 2,1 та 2,0 рази відповідно порівняно з інтактними тваринами. При цьому активність АсАТ у крові щурів, отруєних макродисперсною формою свинцю, збільшилась на 47%, а у щурів, отруєних наноформою лише на 37,5% порівняно з інтактними щурами (табл. 1). Подібний характер змін спостерігається і у разі визначення активності інших досліджуваних ензимів. Так, активність ГГТП та ЛФ у щурів,

отруєних свинцем у наноформі, підвищилася на 20,6 та 16,3% відповідно, а у щурів, яким задавали макродисперсну форму свинцю, підвищення складало 29,4 та 38,6% відповідно відносно аналогічних показників в інтактних тварин. Проте дещо відрізняється характер змін в активності ЛДГ. Так, активність цього ензиму у тварин, які отримували наноформу свинцю, була вищою, порівняно зі щурами, яким задавали свинець у макродисперсній формі, у 3,54 та 2,98 рази відповідно відносно тварин контрольної групи.

Характер наведених змін можна пояснити виходом ензимів у міжклітинне середовище з пошкоджених ділянок органа та збільшенням каталітичної активності ензимів як безпосередньо в пошкодженому органі, так і за потрапляння їх у міжклітинне середовище [9, 10, 13]. Оскільки гепатоцити у великій кількості містять АсАТ, АлАТ, ГГТП, ЛДГ та ЛФ, можливо припустити токсичне ураження печінки, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів [4, 8, 10]. Зважаючи на менше накопичення наноформи свинцю порівняно з макроформою та при цьому незначну різницю у зміні біохімічних показників крові щурів обох дослідних груп можна зробити припущення, що висока питома поверхня наночастинок обумовлює їх підвищену хімічну активність, що призводить до виражених токсичних ефектів ксенобіотика.

Аналізуючи зміни окремих біохімічних показників крові отруєних щурів, слід заува-

Таблиця 1. Активність ензимів крові щурів за отруєння свинцем у макродисперсній та наноформі ($M \pm m, n = 10$)

Показники	Інтактні щури	Щури, отруєні ацетатом свинцю	Щури, отруєні наночастинками свинцю
Аланінамінотрансфераза, мкмоль/хв·л	77,99 ± 5,33	159,69 ± 10,62*	156,35 ± 11,13*
Аспартатамінотрансфераза, мкмоль/хв·л	246,13 ± 15,92	359,63 ± 21,25*	338,38 ± 20,07*
γ-Глутамілтранспептидаза, мкмоль/хв·л	0,34 ± 0,03	0,44 ± 0,05*	0,41 ± 0,03*
Лужна фосфатаза, мкмоль/год·л	236,88 ± 16,99	328,25 ± 23,12*	275,37 ± 24,57*
ЛДГ ммоль/год·л	1,94 ± 0,18	5,81 ± 0,43*	6,89 ± 0,48*

Таблиця 2. Вміст загального протеїну, креатиніну та сечовини в крові щурів за отруєння макродисперсною та наноформою свинцю ($M \pm m, n = 10$)

Показники	Інтактні щури	Щури, отруєні ацетатом свинцю	Щури, отруєні наночастинками свинцю
Загальний протеїн, г/л	62,13 ± 1,56	63,85 ± 1,45	69,44 ± 1,38
Креатинін, мкмоль/л	57,38 ± 3,73	47,63 ± 4,04*	46,75 ± 3,43*
Сечовина, ммоль/л	9,35 ± 0,56	9,56 ± ,83	9,40 ± 0,69

жити, що вміст загального протеїну та сечовини істотно не змінюється, проте знижується вміст креатиніну на 20,5% у щурів, які отримували макродисперсну форму свинцю, а у тварин, яким задавали наноформу на 22,7% порівняно з аналогічними показниками в інтактних щурів (табл. 2). Зниження вмісту креатиніну, можливо, може свідчити не тільки про підвищене використання амінокислот для відновлення пошкоджених тканин токсичними сполуками та скорочення їх використання для енергетичних потреб організму, а також про можливе порушення функції нирок внаслідок токсичного ураження свинцем [8, 14].

Таким чином, встановлено, що наноформа свинцю, можливо за рахунок прискореної елімінації накопичується в крові та печінці щурів у значно меншій кількості, ніж макродисперсна. Але при цьому наноформа свинцю виявляє не меншу біологічну активність та пошкоджуючу дію, що можливо призводить до ураження тканин печінки та нирок, і, як наслідок, підвищення активності ензимів крові та зниження рівня креатиніну. Отже, крім раніше виявленої дії макродисперсної форми свинцю на організм, з'ясування біохімічних

механізмів взаємодії наночастинок свинцю з біологічними об'єктами допоможе не тільки з'ясувати їх можливий негативний вплив на біоструктуру організму, а й сприятиме пошуку ефективних засобів профілактики токсичного ураження свинцем у наноформі.

СРАВНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫС ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ИХ СВИНЦОМ В МАКРОДИСПЕРСНОЙ И НАНОФОРМЕ

И. А. Лазаренко, Н. Н. Мельникова

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев;
e-mail: ilazarenko2009@yandex.ru

В работе показано, что увеличение содержания свинца в крови (в 6,3 и 3,7 раза) и печени крыс (в 30,1 и 4,6 раза), отравленных путем 14-дневного перорального введения в дозе 7 мг/100 г массы тела животного как макродисперсной, так и наноформы свинца соответственно, приводит к повышению активности энзимов крови: аланинамино-

трансферазы, аспартатаминотрансферазы, γ -глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и снижению уровня креатинина. При этом наноформа свинца при незначительном накоплении, за счет большей элиминации проявляет высокую биологическую активность и реакционную способность по сравнению с макродисперсной. Итак, отравление крыс свинцом в разных дисперсных формах приводит к метаболическим нарушениям в организме животных, причем накопление свинца и биохимические изменения более выражены в печени.

Ключевые слова: макродисперсная форма свинца, наноформа свинца, аланин-аминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, γ -глутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза, лактатдегидрогеназа, креатинин.

COMPARISON OF BLOOD BIOCHEMICAL INDICES IN RATS EXPOSED TO LEAD IN MACRODISPERSED FORM AND NANOFORM

I. A. Lazarenko, N. M. Melnikova

National University of Life and Environmental
Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ilazarenko2009@yandex.ru

S u m m a r y

It is shown that the increasing content of lead in blood (6.3 and 3.7 times) and liver (30.1 and 4.6 times) in rats after 14-days *per os* exposure both to lead acetate (macrodispersed form) and lead nanoparticles (nanoform) in a dose of 7 mg/100 g of body weight leads to the increased of activity of blood enzymes: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyltransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase and a decrease of creatinine level. Lead in nanoform with slight accumulation, due to the greater elimination, expressed higher biological activity and reactivity as compared to macrodispersed form. Thus the exposure to lead in different dispersed form suggests metabolic disorders in rats, and accumulation of lead and biochemical changes are more expressed in the liver.

Key words: macrodispersed form of lead, lead nanoform, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyltransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, creatinine.

1. *Ткаченко Т. А.* // Укр. біохім. журн. — 2008. — **80**, № 5. — С. 112–116.
2. *Meredith T. J., Haines J. A., Berget J. C.* // 3-rd Int. Symp. «Chelat. Agents Pharmacol. Toxicol. and Ther.» Plzen. Lek. Sb. — 1990. — Suppl. 62. — P. 13–15.
3. *Мельникова Н. М., Ворошилова Н. М.* // Укр. біохім. журн. — 2007. — **79**, № 1. — С. 108–112.
4. *Супонько Ю. В., Штеменко Н. І.* // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Медицина. — 2010. — **2**, вип. 1. — С. 76–80.
5. *Проданчук Н. Г., Балан Г. М.* // Соврем. проблемы токсикологии. — 2009. — № 3–4. — С. 4–20.
6. *Geiser M., Kreyling W. G.* // Part. Fibre Toxicol. — 2010. — N 2. — P. 1–17.
7. *Kanno S., Furuyama A., Hirano S.* // Toxicol. sciences. — 2007. — **97**, N 2. — P. 398–406.
8. *Мельничук Д. О., Мельникова Н. М., Деркач Є. А.* // Соврем. проблемы токсикологии. — 2004. — № 4. — С. 9–11.
9. *Нариси вікової токсикології / За редакцією І. М. Трахтенберга.* — К.: «Авіцена», 2005. — 256 с.
10. *Fowler B. A.* // Environ. Health Perspect. — 1998. — **106**. — P. 1585–1587.
11. *Мельничук Д. О., Трахтенберг І. М., Мельникова Н. М. та ін.* // Наук. вісн. НАУ. — 2002. — Вип. 55. — С. 117–120.
12. *Божко І. В., Мінченко Д. О., Зінченко Т. О.* // Укр. біохім. журн. — 2010. — **82**, № 5. — С. 68–78.
13. *Ткаченко Т. А., Мельникова Н. М.* // Наук. вісн. ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. — 2007. — **9**, № 3, Ч. 2. — С. 182–185.
14. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. — 3-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2009. — 896 с.: ил.

Отримано 25.10.2011