

БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВІ КРОЛІВ ПРИ ОТРУЄННІ КАДМІЄМ ТА ВВЕДЕННІ ПРЕПАРАТУ ГЕПАВЕКС 200

Є. А. Деркач, І. А. Шепельова, Н. М. Мельникова

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Показано, що отруєння кадмієм призводить до підвищення активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази в крові кролів. При цьому в крові уражених тварин відмічено зниження концентрації загального білка та тригліцеридів на фоні зростання вмісту сечовини, креатиніну і глюкози. Встановлено, що застосування препарату Гепавекс 200 сприяє корекції зазначених біохімічних показників у крові кролів за умов отруєння кадмію сульфатом.

Важкі метали — одні з найбільш небезпечних забруднювачів довкілля. Для даних ксенобіотиків характерний тривалий період напіввиведення, інтенсивне накопичення в організмі, а також виражений токсичний вплив, що проявляється активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, деструкцією клітинних мембран, інгібуванням активності низки ензимів, антагоністичною взаємодією з есенційними макро- та мікроелементами в структурі тканин [5].

Серед важких металів, кадмій — один з найтоксичніших елементів, який, потрапляючи в організм, практично не виводиться і накопичується в різних органах та тканинах, переважно в печінці та нирках і відрізняється інтенсивною конкурентною взаємодією з іншими двовалентними металами в структурі ферментів [6, 9, 13, 14].

Основними джерелами надходження сполук кадмію у навколишнє середовище, є викиди металургійної промисловості, підприємств по виробництву пестицидів, добрив, а також гірничо-добувна промисловість [8].

Вже в перші хвилини інтоксикації 95 % кадмію виявляється у плазмі крові в складі α -глобулінів, альбулінів та інших білків. Одним з кінцевих проявів токсичної дії кадмію є виснаження системи антиоксидантного захисту організму. Потрапляючи до організму, кадмій взаємодіє на всіх рівнях: молекулярному, клітинному, органному, спричиняючи виражений негативний вплив на процеси метаболізму.

У клітині кадмій розподілений в основному в цитозолі, у зв'язаному із білком стані, а також в інших органелах у значно меншій кількості [12].

Кадмій має спорідненість до нуклеїнових кислот, викликає порушення їх метаболізму. Він інгібує ДНК-полімеразу, порушує синтез ДНК. Великі пероральні дози кадмію роз'єднують окисне фосфорилування у мітохондріях печінки. Одноразово введений кадмій інгібує біотрансформацію ряду ксенобіотиків, включаючи амінопірин, анілін, бензопірен, етилморфін. Патогенез отруєння кадмієм включає також його взаємодію з високомолекулярними білками, особливо тіолвмісними ферментами [4].

У ссавців екскреція кадмію здійснюється повільно, в основному з фекаліями, але відмічають і незначне його виділення нирками [7, 11]. Висока токсичність кадмію пов'язана з акумулюванням його в тканинах ссавців унаслідок відсутності гомеостатичного механізму регуляції його вмісту. Кадмій володіє канцерогенними властивостями [3].

Недосконалість методів діагностики, відсутність специфічної клінічної картини і латентний період захворювань, що виникають внаслідок впливу важких металів на організм не дозволяють в повній мірі провести реальну оцінку масштабів поширеності і загрози для здоров'я, що її становлять зазначені токсиканти. Враховуючи дані чинники, важливого значення набуває

пошук ефективних засобів профілактики патологій, що виникають за дії важких металів, особливо при хронічному отруєнні.

Зазвичай, з метою профілактики і корекції негативного впливу важких металів провідну роль відводять сорбентам. Водночас, надзвичайно перспективним і недостатньо вивченим аспектом залишається дослідження ефективності використання та механізмів реалізації захисної дії гепатопротекторних засобів в організмі тварин і людини за умов отруєння сполуками важких металів.

Відомо, що для більшості важких металів основним органом-мішенню є печінка, оскільки саме в цьому органі здійснюється детоксикація переважної більшості ксенобіотиків [1]. Дія гепатопротекторів спрямована на підвищення стійкості печінки до дії патогенних чинників, нормалізацію функціональної активності та стимуляцію репаративно-регенеративних процесів у даному органі.

Важкі метали можуть здійснювати прямий і опосередкований вплив на цитоскелет гепатоцитів. Це супроводжується порушенням їх структури і деструкцією клітинної мембрани. За умов постійного надходження сполук важких металів в організм людини й тварин, що мешкають на територіях з високим рівнем забруднення навколишнього середовища, гепатоцити функціонують в умовах високих концентрацій реактивних і токсичних форм зазначених токсикантів і продуктів їх метаболізму. Гепатоцити надзвичайно чутливі до нестачі АТФ, оскільки в них відбуваються активні метаболічні процеси, що потребують великої кількості енергії — гліюконеогенез, метаболізм жирних кислот, синтез сечовини тощо [10]. В той же час, печінка відноситься до органів, що здатні до регенерації після пошкоджень завдяки наявності унікальних молекулярних механізмів реакції гострої фази і синтезу низки сполук, що володіють протекторними властивостями. Печінка постійно поповнює кількість клітин, що втрачені внаслідок некрозу і апоптозу, однак, висока проліферативна активність печінки робить її надзвичайно вразливою щодо дії важких металів [2]. Враховуючи даний факт, **метою роботи** було дослідження захисної дії Гепавекс 200 на біохімічні показники крові кролів за умов ураження кадмієм.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на статевозрілих самцях кролів породи Радянська шиншила, з використанням в якості гепатопротекторного засобу препарату Гепавекс 200 (Іспанія), що вводився перорально, з розрахунку 1 мл препарату на 1 л питної води впродовж періоду досліджу.

Було сформовано чотири дослідні групи тварин: I група – інтактні кролі; II група — кролі, отруєні кадмію сульфатом; III група — тварини отруєні кадмію сульфатом упродовж перших 7 діб експерименту; починаючи з 8 доби — додаткове введення Гепавекс 200; IV група — введення Гепавекс 200 впродовж перших 7 діб експерименту і, починаючи з 8 доби, додатково, введення кадмію сульфату.

Отруєння кадмієм викликали шляхом щоденного перорального введення кадмію сульфату, який попередньо розводили в 0,9 % розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134 мг/100 г маси. Інтактним тваринам вводили відповідну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду.

Визначення активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, концентрації загального білка, сечовини, креатиніну, глюкози, тригліцеридів проводилось на біохімічному аналізаторі Microlab–200, (Нідерланди), згідно методикам, що визначені інструкцією, з використанням стандартних наборів реагентів фірми HUMAN UKRAINE (Україна). Результати досліджень підлягали статистичному аналізу. Достовірність одержаних результатів визначали, використовуючи критерій Ст'юдента. Зміни вважалися достовірними при $p < 0,05$. Для розрахунків використовувалась комп'ютерна програма Excel (Microsoft, USA).

Результати й обговорення. Результатами наших досліджень показано, що отруєння кадмію сульфатом призводить до змін біохімічних показників крові кролів (табл.).

Таблиця

Біохімічні показники крові кролів, отруєних кадмію сульфатом,

за умов застосування Гепавекс 200 ($M \pm m$; $n=8$)

Показники	Групи тварин			
	інтактні кролі	кролі, отруєні $CdSO_4$	кролі, отруєні $CdSO_4$ + Гепавекс 200	Гепавекс 200 + отруєння $CdSO_4$
АлАТ, мкмоль/хв·л	83,14 ± 7,69	122,21 ± 9,22*	116,43 ± 9,06*	94,59 ± 8,56
АсАТ, мкмоль/хв·л	91,54 ± 6,80	129,07 ± 10,75*	119,45 ± 9,86*	111,77 ± 9,04
ЛФ, мкмоль/хв·л	217,65 ± 18,44	316,89 ± 26,77*	304,27 ± 24,39*	245,75 ± 20,08*
Загальний білок, г/л	71,04 ± 5,39	53,89 ± 3,68*	57,76 ± 5,02*	65,09 ± 5,30
Сечовина, ммоль/л	5,73 ± 0,04	9,36 ± 0,87*	7,57 ± 0,71*	7,05 ± 0,64*
Креатинін, мкмоль/л	116,32 ± 9,45	169,82 ± 14,26*	153,54 ± 12,64*	133,77 ± 11,90*
Глюкоза, ммоль/л	4,87 ± 0,03	7,07 ± 0,69*	6,38 ± 0,57*	5,65 ± 4,77*
Тригліцериди, ммоль/л	0,35 ± 0,02	0,21 ± 0,02*	0,28 ± 0,02*	0,31 ± 0,03

Примітка: * – $p < 0,05$ – дані вірогідні відносно інтактних кролів.

Встановлено, що в крові тварин отруєних кадмію сульфатом підвищується активність аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази — основних маркерів цитолізу гепатоцитів на 47,0 % та 41,0 % відповідно, відносно цих показників у тварин контрольної групи. Активність лужної фосфатази при цьому зростає на 45,6 %. Виникнення гіперферментемії в даному випадку можна розглядати як прояв некрозу гепатоцитів і холестазу. Такий характер змін пов'язаний з виходом ферментів з пошкоджених клітин у кров'яне русло на фоні посиленого біосинтезу зазначених ензимів.

Характеризуючи показники азотного обміну в крові тварин за умов отруєння кадмієм, слід відмітити зниження вмісту загального білка на 24,1 %. При цьому вміст сечовини та креатиніну в крові отруєних кролів підвищується на 63,3 % і 45,6 % відносно тварин інтактної групи, що є свідченням підвищення інтенсивності катаболічних процесів в отруєному організмі, яке супроводжується деструкцією білкових молекул і зростанням умісту кінцевих продуктів азотного обміну.

Відомо, що глюкоза є одним з найбільш важливих компонентів крові, її концентрація відображує стан вуглеводного обміну в організмі. Виявлене зростання вмісту глюкози в крові кролів отруєних кадмію сульфатом на 45,2 % вказує на дегенеративні зміни в тканинах печінки і активацію гліюкогенезу.

В той же час встановлено, що застосування Гепавекс 200 сприяє покращенню біохімічних показників крові отруєних кролів. Гепавекс 200 проявляє виражені гепатопротекторні властивості. Дія препарату обумовлена комбінацією натуральних компонентів, за рахунок чого відбувається покращення функціонування печінки і прискорення виведення токсинів. Вільні радикали і високореактивні метаболіти, що утворюються за умов ураження сполуками важких металів, пошкоджують кальцій-залежну АТФ-азу шляхом ковалентного зв'язування, окиснення SH-груп білків або за рахунок пероксидного окиснення ліпідів. Підвищена концентрація іонів кальцію в цитозолі призводить до пошкодження цитоскелету гепатоцитів та індукуює утворення розривів мембрани. За високої концентрації іонів кальцію відбувається порушення мітохондріальних функцій, що призводить до загибелі клітини. DL-метіонін, що входить до складу Гепавекс 200, відіграє надзвичайно важливу роль в реакціях трансметилування (біосинтез фосфоліпідів) та транссульфатації (синтез глутатіону, детоксикація жовчних кислот і ксенобіотиків), де виступає в ролі донора або модулятора низки ензимів. За умов його використання підвищується елімінація вільних радикалів та інших токсичних метаболітів з печінки. Особливо ефективним виявилось профілактичне введення Гепавекс 200 до отруєння кролів кадмію сульфатом. Так, встановлено, що в крові тварин IV групи знижується активність трансаміназ: аланінамінотрансферази на 22,6 %, аспартатамінотрансферази – на 13,4 % відносно цих показників у кролів отруєних кадмію сульфатом (II група). Активність лужної фосфатази знижується при цьому на 21,8 %. Відмічено

виражений корегуючий ефект препарату відносно показників азотного обміну, що проявляється підвищенням концентрації загального білка на 20,8 % і достовірним зниженням вмісту сечовини та креатиніну на 24,7 % і 21,2 % відповідно, відносно цих показників у крові отруєних кролів. При цьому виявлено нормалізацію показників вуглеводного та ліпідного обміну: вміст глюкози в крові кролів IV групи знижується на 20,1 %, тригліцеридів – зростає на 47,6 % по відношенню до отруєних тварин. Таким чином показано, що всі біохімічні показники тварин, які отримували Гепавекс 200 до ураження кадмієм, наближуються до відповідних показників у крові кролів інтактної групи.

Такий характер змін, на наш погляд, пов'язаний з посиленням знешкоджувальної здатності гепатоцитів унаслідок підвищення вмісту глутатіону та зростання активності ферментів, що беруть участь в процесах детоксикації ксенобіотиків. При цьому відбувається гальмування процесів пероксидного окиснення ліпідів і зв'язування продуктів ПОЛ, з наступною репарацією клітинних мембран.

В И С Н О В К И

1. Отруєння кролів кадмію сульфатом призводить до зміни основних біохімічних показників крові, що характеризують активність ферментів, стан азотного, вуглеводного та ліпідного обміну.

2. Гепавекс 200 проявляє виражені гепатопротекторні властивості. Застосування Гепавекс 200 ефективно корегує зазначені біохімічні показники у крові уражених тварин, у бік наближення до відповідних значень у крові тварин інтактної групи.

Перспективою подальших досліджень є пошук, розробка та удосконалення ефективних засобів профілактики і корекції порушень метаболічних процесів в організмі тварин, уражених сполуками важких металів.

BIOCHEMICAL BLOOD CHARACTERISTICS OF CADMIUM BLOOD POISONING IN RABBITS AND ADMINISTRATION OF DRUG GEPAVEKS 200

E. A. Derkach, I. A. Shepelova, N. M. Melnikova

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

S U M M A R Y

It has been shown that poisoning by cadmium leads to increased activity of alanine-aminotransferase, aspartate-aminotransferase and alkaline phosphatase in rabbit's blood. At the same time in the blood of poisoned animals noted decreased concentration of total protein and triacylglycerols against increased levels of urea, creatinine and glucose. Established that drug Gepaveks 200 contributes to correction of these biochemical indicators in the blood of rabbits poisoned by cadmium sulfate.

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КАДМИЕМ И ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА ГЕПАВЕКС 200

Е. А. Деркач, И. А. Шепелева, Н. Н. Мельникова

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины

А Н Н О Т А Ц И Я

Показано, что отравление кадмием приводит к повышению активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в крови кроликов. При этом в крови отравленных животных отмечено снижение концентрации общего белка и триглицеридов на фоне повышения содержания мочевины, креатинина и глюкозы. Установлено, что применение препарата Гепавекс 200 способствует коррекции указанных биохимических показателей в крови кроликов при отравлении кадмия сульфатом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О. Я. Хронические гепатиты. — К.: Блиц-Информ, 1999. — 208 с.
2. Виноградова С. В., Кравченко Н. А. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов // Совр. пробл. токс. — 2007. — № 3. — С. 30–38.
3. Бондарев Л. Г. Микроэлементы — благо и зло. — М.: Знание, 1984. — 144 с.
4. Мельникова Н. М., Деркач Є. А., Шепельова І. А. Рекомендації щодо використання препарату Гепавекс 200 з метою корекції біохімічних показників крові кролів за умов отруєння важкими металами. — К.: НУБіП України, 2010. — 31 с.
5. Мельничук Д. О., Мельникова Н. М., Деркач Є. А. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах отруєних щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 6. — С. 95–99.
6. Михалева Л. М., Жаворонков А. А. Морфологическая характеристика нефрона при экспериментальной кадмиевой интоксикации // Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии. — Харьков, 1991. — С. 169.
7. Мудрый И. В. Тяжелые металлы в системе почва — растение — человек (обзор) // Гиг. и санитария. — 1997. — № 1. — С. 5 – 8.
8. Руденко С. С. Порухення пероксидантно-антипероксидантного статусу щурів при окремих та поєднаній дії хлориду алюмінію та Х-опромінення // Доп. НАН України. — 1999. — № 5. — С. 210–213.
9. Casalino E., Sblano C., Landriscina C. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. — 1997. — Vol. 346, N 2. — P. 171 – 179.
10. Jaeschke H., Gores G.J., Gederbaum A.I. Mechanisms of Hepatotoxicity // Toxicol. Sci. — 2002. — Vol. 65, N 2. — P. 166–176.
11. Kelley C. Cadmium therapeutic agents // Curr Pharm Des. — 1999. — Apr 5(4). — P. 229–240.
12. Kendrey G. R. Cadmium Toxicology // Lancet. — 1969. — № 1. — P. 7607.
13. Sarcar S., Yadav P., Bhatnagar D. Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time // Biometals. — 1998. — Vol. 11, N 2. — P. 153–157.
14. Sarcar S., Yadav P., Trivedi R. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues // J. Trace Elem. Med. Biol. — 1995. — Vol. 9, N 3. — P. 144–149.

Рецензент — доктор ветеринарних наук В. О. Величко, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.