

## КОРИГУВАЛЬНА ДІЯ ПЕПТИДІВ НА ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРО- Й АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ, УРАЖЕНИХ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ І РАУНДАПОМ

**Вступ.** Важкі метали і фосфорорганічні сполуки, які використовують у сільському господарстві, викликають захворювання печінки й інших органів, що сприяє утворенню активних форм Оксигену (АФО), які можуть індукувати пероксидне окиснення ліпідів та пригнічувати антиоксидантну систему. В основі дії важких металів лежить блокування функціонально активних груп структурних протеїнів, протеїнів-ензимів, найбільше значення має блокування сульфгідрильних (тіольних, SH) груп. При дії важких металів більшість протеїнів втрачає свої фізико-хімічні та біологічні властивості, що призводить до порушення протеїнового й іншого обміну речовин.

**Мета дослідження** – вивчити коригувальну дію пептидів на стан про- й антиоксидантної систем у щурів різного віку, уражених Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом (у формі гербіциду раундапу).

**Методи дослідження.** Досліди проводили на лабораторних нелінійних білих щурах-самцях 3 вікових періодів (статевонезрілих, статевозрілих і старих), яким внутрішньошлунково впродовж 30 діб вводили водні розчини Плюмбуму ацетату, Купруму сульфату і гліфосату. З метою корекції на 21-шу добу через 6 год після введення токсикантів упродовж 10 діб вводили пептиди. У сироватці крові й гомогенаті печінки уражених та коригованих тварин визначали глутатіонпероксидазну, глутатіонредуктазну, каталазну, супероксиддисмутазну активність та вміст SH-груп, АФО, ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) і дієнових кон'югатів (ДК) спектрофотометричним методом.

**Результати й обговорення.** Важкі метали і фосфорорганічні сполуки викликали утворення АФО, таких, як іони супероксиду, Гідроген пероксид та гідроксильні радикали. При комбінованій дії Плюмбуму ацетату, Купруму сульфату і гліфосату з віком активувалися процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та генерація АФО у щурів, про що свідчило зростання вмісту ДК, ТБК-АП, супероксид-аніон радикала та гідроксильного радикала. Як показали наші дослідження, введення токсикантів призводило до зниження глутатіонпероксидазної, глутатіонредуктазної, каталазної, супероксиддисмутазної активності, рівня SH-груп у сироватці крові та гомогенаті печінки уражених тварин. Використання пептидів як чинників корекції сприяло зменшенню в сторону норми вмісту АФО та продуктів пероксидного окиснення ліпідів і нормалізації активності ензимів антиоксидантної системи, що, очевидно, вказує на антиоксидантні й хелатоутворювальні властивості пептидів.

**Висновки.** Ураження щурів Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом у дозі 1/20 LD<sub>50</sub> призводить до збільшення вмісту ТБК-АП, ДК, АФО та зниження активності ензимів антиоксидантної системи у сироватці крові й гомогенаті печінки. Введення пептидів як коригувальних чинників тваринам різного віку з токсичним ураженням печінки підвищує в сторону норми глутатіонпероксидазну, глутатіонредуктазну, каталазну, супероксиддисмутазну активність і зменшує вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів та АФО.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** Плюмбуму ацетат; Купруму сульфат; гліфосат; оксидативний стрес; вільні радикали; активні форми Оксигену; вільнорадикальне окиснення; антиоксидантна система.

ВСТУП. Для людини, як і для будь-якого іншого біологічного виду, природа є середовищем існування. Тому одне з важливих завдань, які стоять перед людством, полягає в збереженні природних ресурсів та охороні довкілля. Потрапляючи у навколишнє середовище, токсиканти забруднюють водойми, ґрунти, сільськогосподарську продукцію, продукти харчування та ви-

кликають ряд патологічних процесів у організмі людини [1].

Серед різних хімічних забруднювачів навколишнього середовища особливу небезпеку становлять важкі метали, що проявляють високу кумулюючу активність у навколишньому середовищі. Незважаючи на високу токсичність щодо біологічних систем, їх досі використовують у різних промислових процесах.

Металічні елементи за функціями, які вони виконують в організмі, поділяють на незамінні (есенціальні), необхідні для життєдіяльності людини, і токсичні (отруйні). Такі елементи, як Fe, Co, Cu, Zn, Cr та інші, належать до обох груп, у низьких дозах вони не токсичні, необхідні людині, а їх надлишок викликає порушення функцій в організмі. Це можна сказати про Купрум.

Для людини та інших живих організмів Купрум одночасно є незамінним і токсичним елементом. Як незамінний елемент Купрум впливає на функціонування серцево-судинної, нейроендокринної систем, еластичність легень, метаболізм заліза тощо [2]. Його іони входять до складу ензимів, таких, як цитохром-с-оксидаза в мітохондріях, лізилоксидаза в сполучній тканині, дофамін-монооксигеназа в мозку та церулоплазмін, що беруть участь в аеробному метаболізмі. Як кофактор апо-купрум-цинку супероксиддисмутази (apoCuZnSOD) Купрум знешкоджує активні форми Оксигену (АФО) і захищає від ушкодження вільними радикалами протеїни, мембранні ліпіди та нуклеїнові кислоти в усіх клітинах організму [3]. Але надлишок цього хімічного елемента проявляє токсичну дію насамперед на ензими організму. Зв'язуючись із сульфгідрильними складовими останніх, він викликає кисневе голодування в тканинах організму людини. Перевищення концентрації міді у сироватці крові та шкірі призводить до депігментації останньої (вітиліго). Сполуки Купруму спричиняють різку подразнювальну дію на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів і шлунково-кишкового тракту.

Свинець належить до найпоширеніших токсикантів із групи важких металів, ВООЗ внесла його до списку пріоритетних забруднювачів [4]. За ступенем токсичності він посідає четверте місце після талію, ртуті, кадмію і широко застосовується в багатьох галузях промисловості [5].

Протягом життя організм людини акумулює від 50 до 350 мг свинцю, до 90 % якого депонується в кістки, незначна частина – в нігті, волосся і виділяється із сечею [6].

Свинець – отрута, що впливає на нервову, ендокринну, кровоносну системи, пригнічує ферментативні процеси перетворення порфіринів та інкорпорацію заліза на протопорфірин з утворенням гему [7].

Для послаблення токсичної дії та виведення з організму важких металів застосовують комплексоутворювачі, які мають здатність утворювати з металами нетоксичні сполуки (хелати) і цим послаблювати їх токсичну дію в організмі [8]. Гепатозахисний ефект проявляють сполуки, які містять у своїй структурі сульфгідрильні групи (SH-групи). До сполук, які часто використовують

з метою знешкодження гепатотропних ксенобіотиків, належать унітіол, цистеїн, ацетилцистеїн, цистамін тощо [8, 9].

У літературі є дані про участь амінокислот та олігопептидів у вільнорадикальних процесах [10]. Активно включаються в ці процеси сірковмісні амінокислоти, ароматичні – триптофан, тирозин, фенілаланін, гістидин, пролін. Гістидин є не тільки пасткою вільних радикалів, а й хелатором. У плазмі крові він утворює комплекс із міддю, що бере участь у дисмутації  $O_2^{\cdot-}$  [8, 10]. Будучи фізіологічно активними сполуками, пептиди проявляють модулюючу дію на функціональний стан усіх складових ланок гомеостазу людини і тварини. Тому з метою корекції порушень, викликаних Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом (у формі гербіциду раундапу), ми використовували пептиди: цистеїл-аланіл-тирозил-гістидил-аргініл-лейцил-аргініл-аргініл-цистеїн (пептид 1), проліл-ізолейцил-глутамінову кислоту-валіл-цистеїл-метіоніл-тирозил-аргініл-глутамінову кислоту-проліл-валін (пептид 2), цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин (пептид 3). Пептиди синтезовано на кафедрі супрамолекулярної хімії та біохімії Інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Мета дослідження – вивчити коригувальну дію пептидів на стан про- й антиоксидантної систем у щурів різного віку, уражених Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом (у формі гербіциду раундапу).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** З метою вивчення впливу важких металів у поєднанні з фосфор-органічними пестицидами на окиснювальні процеси використовували лабораторних нелінійних білих щурів-самців 3 вікових періодів: статевонезрілих (молодих масою 70–90 г і віком 1–3 місяці), статевозрілих (дорослих масою 170–210 г та віком 5–8 місяців), старих (масою 250–300 г і віком 20–24 місяці). Вік тварин визначали за схемою В. І. Махінько та В. Н. Нікітіна [11].

Хімічний токсикоз у щурів викликали шляхом щоденного перорального введення їм упродовж 30 діб водних розчинів Плюмбуму ацетату ( $(CH_3COO)_2Pb$ ) у дозі 11 мг/кг маси тіла ( $1/20 LD_{50}$ ), Купруму сульфату ( $CuSO_4$ ) у дозі 13 мг/кг маси тіла ( $1/20 LD_{50}$ ), гліфосату (в формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла ( $1/20 LD_{50}$ ). Токсиканти вводили в комбінації та окремо. Як контроль використовували інтактних тварин, яким вводили питну водопровідну дехлоровану воду. З метою корекції виявлених порушень на 20-ту добу експерименту через 6 год після

введення токсикантів щодня протягом 10 діб вводили внутрішньом'язово водну суспензію пептидів, таких, як: цистеїл-аланіл-тирозил-гістидил-аргініл-лейцил-аргініл-аргініл-цистеїн (пептид 1) у дозі 12 мг/кг маси тіла, проліл-ізолейцил-глутамінову кислоту-валіл-цистеїл-метіоніл-тирозил-аргініл-глутамінову кислоту-проліл-валін (пептид 2) у дозі 18 мг/кг маси тіла, цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин (пептид 3) у дозі 9 мг/кг маси тіла (дозу пептидів визначали експериментально).

Усіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні (контрольні); 2-га – уражені водними розчинами Плюмбуму ацетату, Купруму сульфату і раундапу; 3-тя – уражені з корекцією пептидом 1; 4-та – уражені з корекцією пептидом 2; 5-та – уражені з корекцією пептидом 3. На 31-шу добу після останнього введення ксенобіотиків та чинників корекції щурів виводили з експерименту за умов використання тіопентал-натрієвого (внутрішньочеревне введення 1 % розчину з розрахунку 50 мг/кг маси тіла тварини) наркозу.

Вплив токсикантів на зміни показників прооксидантної системи в організмі уражених щурів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) [12, 13], вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) визначали за [14], супероксид-аніон радикала – за допомогою тесту з нітросинім тетразолієм [15, 16], гідроксильного радикала – за [17].

Стан антиоксидантної системи у сироватці крові й гомогенаті печінки уражених та коригованих щурів оцінювали за глутатіонпероксидазою (ГП, КФ 1.11.1.9), глутатіонредуктазою (ГР, КФ 1.8.1.7), каталазою (КФ 1.11.1.6), супероксиддисмутазою (СОД, КФ 1.15.1.1) активністю та вмістом SH-груп. Вміст SH-груп визначали за реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (реактив Елмана) за методикою І. Ф. Мещишена [18], ГП активність – за кількістю НАДФН, що утворюється під час окиснення відновленого глутатіону [19], ГР активність – за зменшенням кількості НАДФН<sub>2</sub> у реакційному середовищі [20], СОД активність – за методом [21], який ґрунтується на здатності супероксиддисмутази інгібувати автоокиснення адреналіну, каталазну активність – за методом [22], що базується на здатності Гідроген пероксиду утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс із максимумом поглинання при  $\lambda=410$  нм. Усі визначення проводили на біохімічному аналізаторі "Humalyzer 2000".

Під час проведення досліджень усі щури перебували у віварії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм.

Утримували щурів та виконували всі експерименти на них із дотриманням національних (Закон України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 21.02.2006 р. № 3447-IV) і міжнародних (Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, Страсбург, 18.03.1986 р.) загальних правил і рекомендацій щодо гуманного поводження з лабораторними тваринами [23–25].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel ("Microsoft", США) і STATISTICA 6.0 ("Statsoft", США) з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами встановлювали за допомогою критерію Манна – Уїтні. Зміни вважали статистично достовірними при  $p < 0,05$  [26].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Інтоксикація Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і фосфорорганічним пестицидом (раундапом) супроводжувалася порушенням балансу між про- й антиоксидантами, розвитком оксидативного стресу, що може викликати функціональні та структурні ушкодження клітинних мембран і накопичення токсичних метаболітів [27].

У ході експерименту ми виявили збільшення продукції активних форм Оксигену при комбінованій дії Плюмбуму ацетату, Купруму сульфату і раундапу, а саме загальна (нестимульована) продукція супероксид-аніон радикала в гомогенаті печінки зросла у статевонезрілих щурів на 94 %, у статевозрілих – на 66 %, а в старих – на 91 % від рівня контролю (рис. 1).

У реакціях дисмутації супероксид-аніон радикала та Гідроген пероксиду в клітинах утворюється найактивніша АФО – гідроксильний радикал [5, 9]. Наші дослідження показали (див. рис. 1), що вміст гідроксильного радикала в печінці інтактних тварин зростав з віком. При дії ксенобіотиків швидкість його генерації збільшувалась у щурів усіх вікових груп. Згідно з даними експерименту, концентрація гідроксильного радикала в уражених молодих щурів була значно вищою, ніж у печінці дорослих і старих тварин. Так, його вміст у гомогенаті печінки уражених молодих щурів у 2,3 раза був більшим порівняно з інтактними тваринами, тоді як у дорослих і старих – в 1,9 та 1,8 раза.

Активні форми Оксигену, що генеруються у тварин, отруєних Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом та раундапом, активують реакції

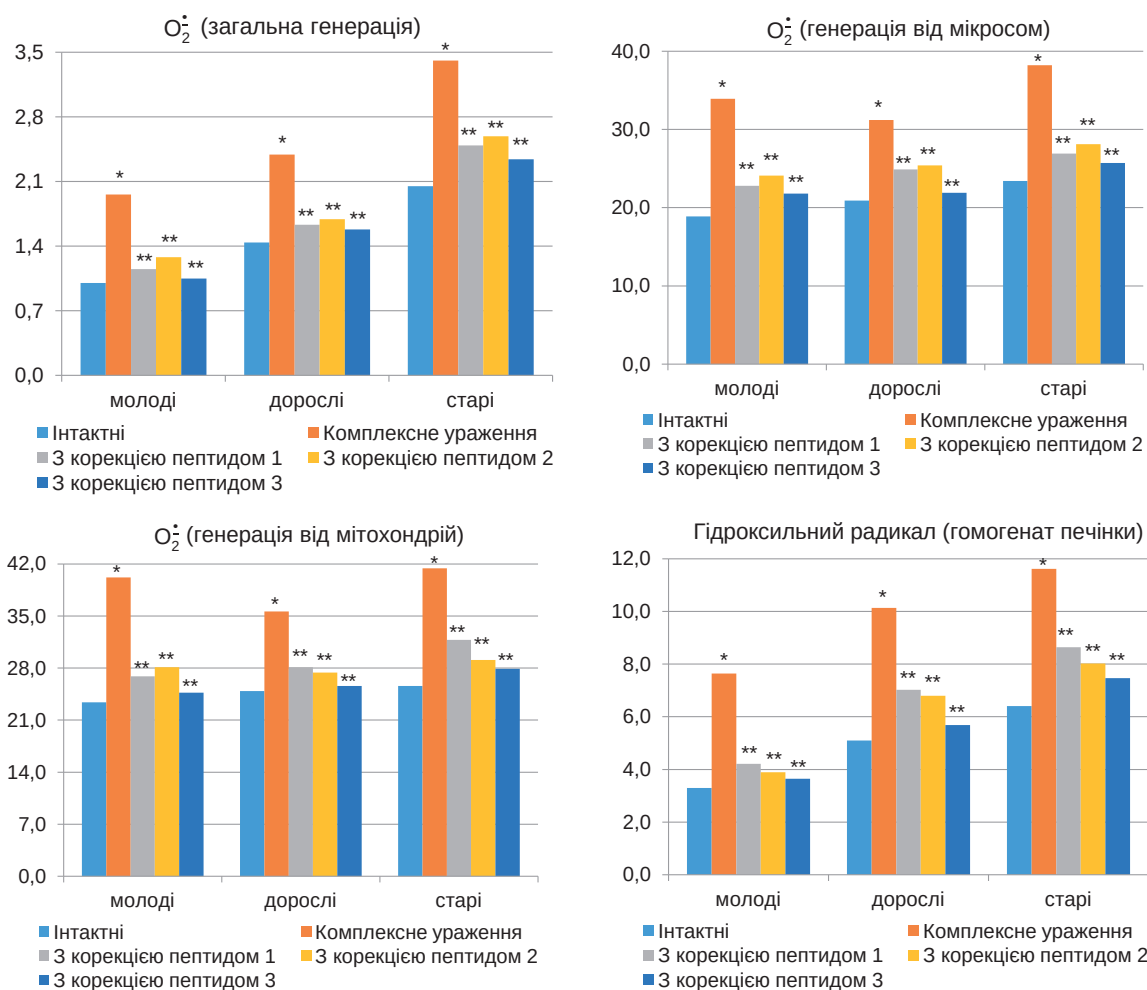


Рис. 1. Зміни вмісту активних форм Оксигену: супероксид-аніон радикала ( $O_2^{\cdot -}$ ; нмоль/(с·г), гідроксильного радикала ( $\Delta E \cdot 10^2$  за 30 хв на 1 мг протеїну) в гомогенаті печінки щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (M, n=10).

Примітка. Тут і на рисунках 2–6: \* – результати достовірні відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); \*\* – результати достовірні відносно показників у щурів при комбінованому ураженні ( $p < 0,05$ ).

вільнорадикального окиснення ліпідів [28]. Для оцінки стану вільнорадикального окиснення ліпідів ми досліджували зміну вмісту кон'югованих дієнів і ТБК-АП у сироватці крові й гомогенаті печінки. Дієнові кон'югати є первинними продуктами пероксидного окиснення ліпідів, які утворюються при надмірному вмісті АФО, і призводять до деградації клітинних мембран [29]. При токсичному ураженні печінки ми спостерігали зростання вмісту ДК як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки тварин усіх вікових груп. Проте найбільшого токсичного впливу зазнавали молоді щури. Так, при комбінованій дії досліджуваних ксенобіотиків вміст ДК у гомогенаті печінки 3-місячних тварин становив 18 %, тоді як у 6- і 18-місячних – 158 та 151 % від норми (рис. 2). У сироватці крові динаміка цього показника мала аналогічну тенденцію.

На рисунку 3 показано результати досліджень вмісту ТБК-АП у сироватці крові й гомо-

генаті печінки інтактних та уражених ксенобіотиками тварин різного віку.

Як видно з даних (див. рис. 3), вміст ТБК-АП у здорових тварин з віком збільшувався. Так, у гомогенаті печінки молодих щурів їх рівень становив ( $37,35 \pm 1,03$ ) мкмоль/кг і був меншим на 4,6 та 14,3 % порівняно з аналогічним показником у дорослих і старих тварин, а у сироватці крові – ( $6,11 \pm 0,23$ ) мкмоль/л (на 5,2 та 13,9 % відповідно,  $p < 0,05$ ). При комбінованій дії досліджуваних ксенобіотиків вміст ТБК-АП у сироватці крові молодих щурів зріс в 1,3 раза, дорослих – в 1,2 раза, старих – в 1,5 раза від рівня контролю. Кількість ТБК-АП також збільшувалась і в гомогенаті печінки.

Для оцінки стану антиоксидантної системи ми визначали показники, якими найчастіше керуються в експерименті та клініці: вміст SH-груп, супероксиддисмутазу, каталазу, глутатіонредуктазу, глутатіонпероксидазу активність. На

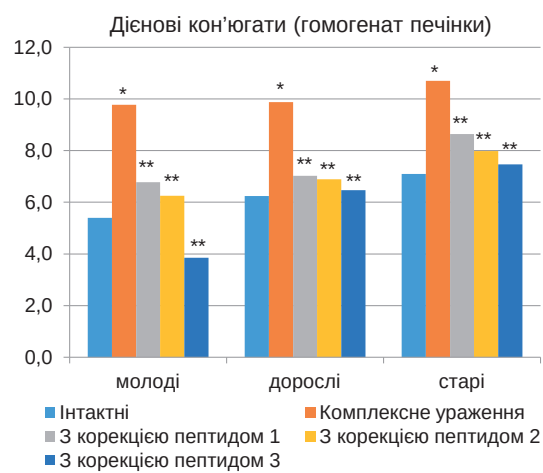
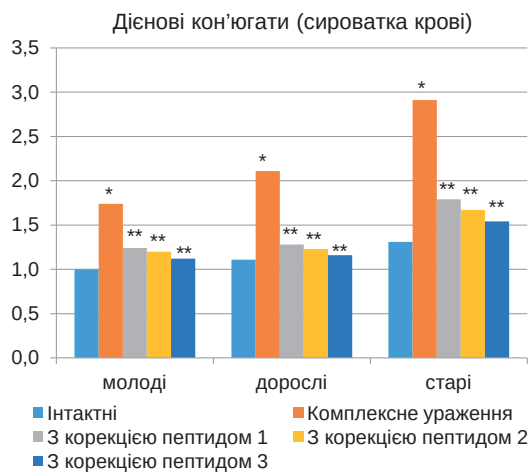


Рис. 2. Зміни вмісту дієнових кон'югатів у сироватці крові ( $\times 10^3$  ум. од./л) та гомогенаті печінки ( $\times 10^3$  ум. од./кг) щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (М, n=10).

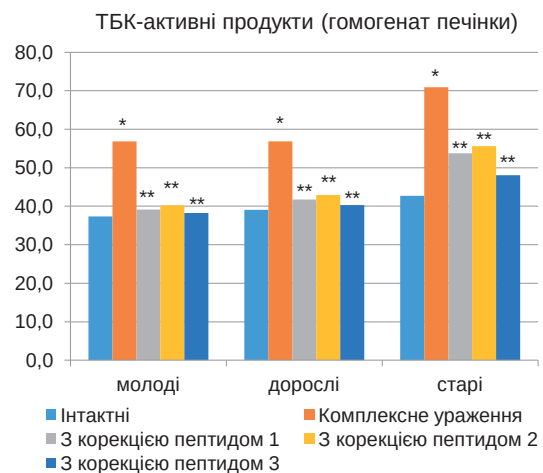
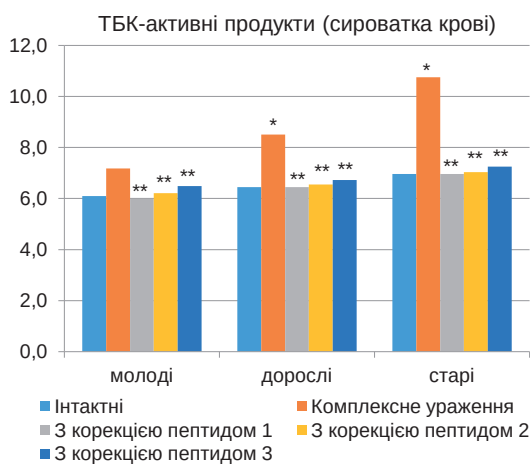


Рис. 3. Зміни вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові (ммоль/л) та гомогенаті печінки (нмоль $\times$ мг $^{-1}$  протеїну) щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (М, n=10).

рисунках 4–6 показано результати досліджень вмісту SH-груп, активності ензимів у сироватці крові й гомогенаті печінки інтактних та уражених ксенобіотиками тварин різного віку.

Наші дослідження показали, що з віком у сироватці крові й гомогенаті печінки інтактних тварин пригнічувалась активність антиоксидантної системи (див. рис. 4–6), знижувалась концентрація неензимних антиоксидантів і пригнічувалась активність деяких ензимів. Так, вміст SH-груп (див. рис. 6) найменшим був у старих (24-місячних) щурів: у сироватці крові –  $(4,91 \pm 0,08)$  ммоль/л, у гомогенаті печінки –  $(5,65 \pm 0,08)$  ммоль/л. Подібно знижувалася супероксиддисмутазна, каталазна, глутатіонредуктазна, глутатіонпероксидазна активність. Так, у сироватці крові старих тварин СОД активність становила  $(0,110 \pm 0,006)$  ум. од./г протеїну, ГР активність –  $(12,9 \pm 0,5)$  мкмоль/(хв-г протеїну), ГП актив-

ність –  $(35,7 \pm 0,7)$  мкмоль/(хв-г протеїну), а в гомогенаті печінки СОД активність складала  $(0,454 \pm 0,027)$  ум. од./г протеїну, ГР активність –  $(7,8 \pm 0,4)$  мкмоль/(хв-г протеїну), ГП активність –  $(9,8 \pm 0,6)$  мкмоль/(хв-г протеїну). Такі зміни можна пояснити тим, що з віком пригнічуються функції, зумовлені поступовою втратою клітинами організму здатності реагувати на ушкодження, спричинені АФО і посиленням використання антиоксидантів на знешкодження вільних радикалів, вміст яких зростає [30].

Вміст SH-груп та супероксиддисмутазна, каталазна, глутатіонпероксидазна і глутатіонредуктазна активність у сироватці крові й гомогенаті печінки щурів усіх вікових груп при комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом достовірно знижувалися порівняно з нормою (інтактні тварини). Досліджувані ксенобіотики викликали зменшення

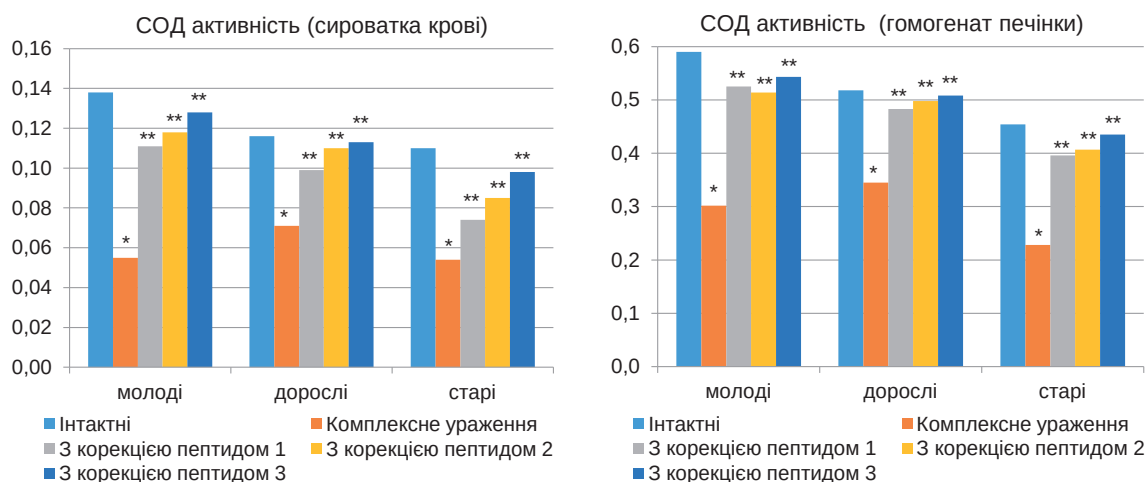


Рис. 4. Зміни супероксиддисмутазної активності (ум. од./г протеїну) в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купрум сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (М, n=10).

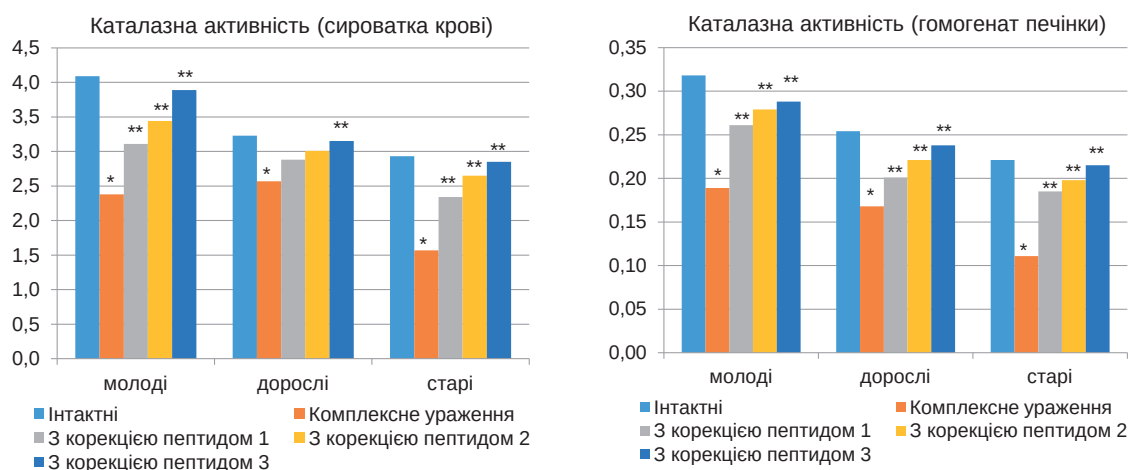


Рис. 5. Зміни каталазної активності у сироватці крові (мккат/г протеїну крові) та гомогенаті печінки (мккат/г протеїну печінки) щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купрум сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (М, n=10).

вмісту SH-груп у сироватці крові й гомогенаті печінки, мінімальне значення відновленого глутатіону спостерігали у сироватці крові (64,8 % від рівня інтактних тварин) та гомогенаті печінки (56,4 % від рівня контролю) 3-місячних щурів. Таке істотне зниження вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові й гомогенаті печінки, можливо, пов'язане з тим, що іони Плюмбуму є тіоловою отрутою і, взаємодіючи з протеїнами, знижують свою токсичність, що проявляється пригніченням функцій протеїнів, у тому числі ензимів з антиоксидантними властивостями.

Мінімальне значення ГР і ГП активності ми спостерігали у сироватці крові молодих тварин. Так, у 3-місячних тварин вона була суттєво нижчою, ніж у 6- та 24-місячних, і становила 53,6 та 54,4 % відповідно від рівня інтактних тварин. Щодо ГР і ГП активності в гомогенаті печінки, то мінімальною ГП активність була у 24-місячних

щурів, вона становила 46,9 % від рівня інтактних тварин, а ГР активність найменшою була в гомогенаті печінки 3-місячних щурів та складала 46,2 % від рівня інтактних тварин. Такі зміни даних показників у щурів цих вікових груп можна пояснити тим, що в молодих тварин ще не до кінця сформована антиоксидантна система, а в організмі старих щурів відбувається дисбаланс у про- й антиоксидантній системах, що сприяє підвищенню вмісту АФО і посиленню процесів пероксидного окиснення ліпідів, тому знижується концентрація неензимних та ензимних антиоксидантів [28–30].

Подібно знижувалась СОД активність як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки уражених тварин усіх вікових груп (див. рис. 4). При комбінованій дії токсикантів максимальні зміни цього показника у сироватці крові й гомогенаті печінки було зафіксовано в 3-місячних щурів.

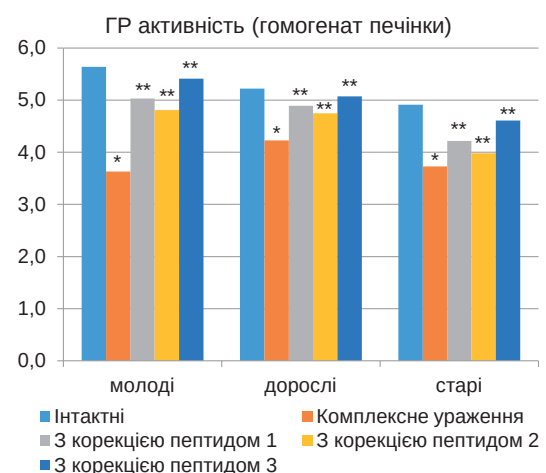
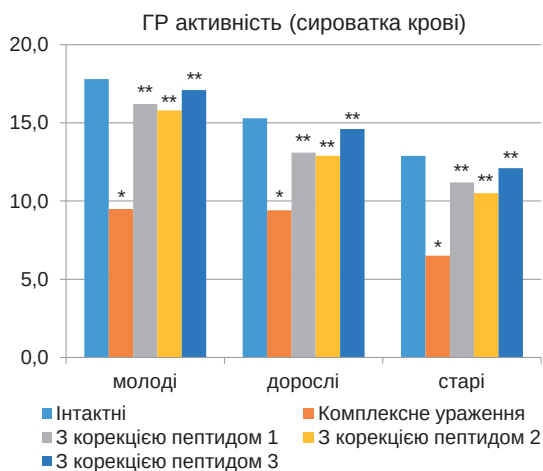
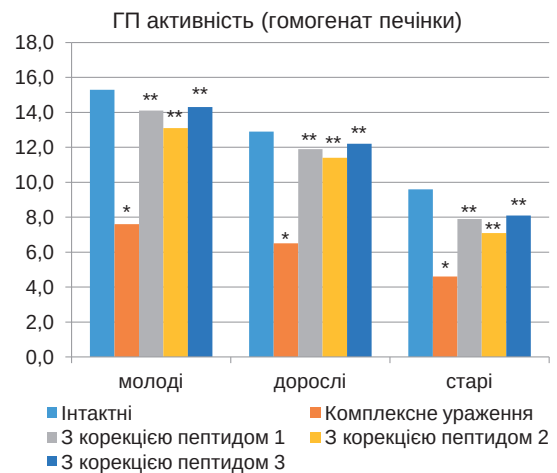
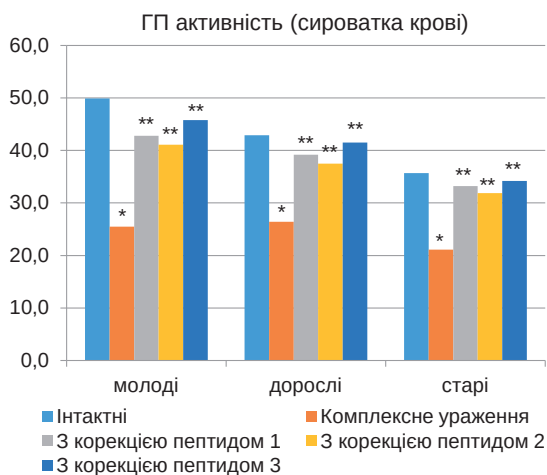
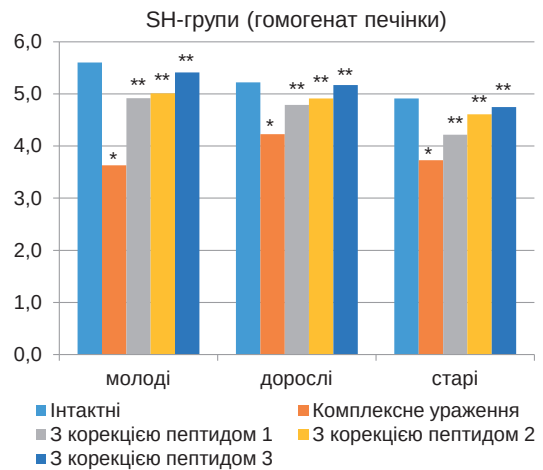
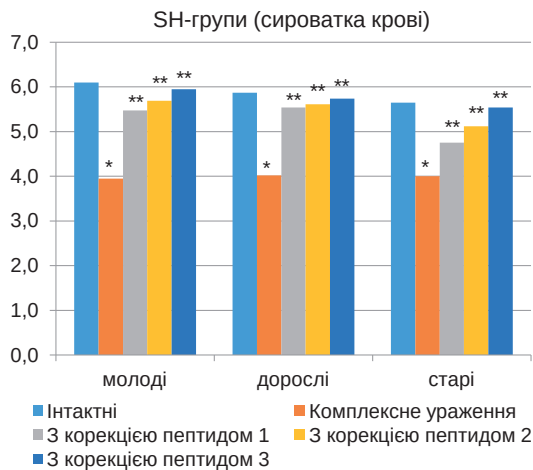


Рис. 6. Зміни вмісту SH-груп (ммоль/л), глутатіонпероксидазної (мкмоль/(хв-г протеїну)) і глутатіонредуктазної (мкмоль/(хв-г протеїну)) активності у сироватці крові та гомогенаті печінки щурів при тривалому комбінованому ураженні Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом, гліфосатом і корекції пептидами (М, n=10).

У сироватці крові СОД активність знизилася на 60,1 %, а в гомогенаті печінки – на 48,5 % порівняно з інтактними тваринами.

Таке зниження СОД активності можна пояснити тим, що іони Плюмбуму, надмірна концен-

трація іонів Купруму та гліфосат, який міститься в пестициді, посилюють процеси пероксидного окиснення ліпідів, у результаті чого утворюється Гідроген пероксид, що є інгібітором ензиму. При низькій СОД активності реакція спонтанної

дисмутації супероксид-аніон радикала призводить до утворення  $H_2O_2$ , який у клітинах руйнує каталаза. Однак хімічне ураження печінки призводить до зменшення СОД активності у сироватці крові й гомогенаті печінки. Максимальне її зниження спостерігали у старих тварин при комбінованій дії Купруму сульфату, Плюмбуму ацетату, гліфосату, й у сироватці крові й гомогенаті печінки вона становила, відповідно, 53,6 і 50,2 % від рівня контролю (див. рис. 4).

Для корекції порушень, викликаних Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і гліфосатом ми використали пептиди: цистеїл-аланіл-тирозил-гістидил-аргініл-лейцил-аргініл-аргініл-цистеїн (пептид 1), проліл-ізолейцил-глутамінову кислоту-валіл-цистеїл-метіоніл-тирозил-аргініл-глутамінову кислоту-проліл-валін (пептид 2), цистеїл-гістидил-тирозил-гістидил-ізолейцин (пептид 3). Введення ураженим щурам пептидів сприяло частковій нормалізації активності ензимів антиоксидантної системи та вмісту SH-груп, зниженню вмісту АФО, ДК, ТБК-АП. При дослідженні коригувальної дії пептидів ми помітили, що пептид 3 проявив кращий ефект порівняно з пептидами 1 і 2, що, очевидно, пов'язано з наявністю в пептиду кращих антиоксидантних та комплексоутворювальних властивостей за рахунок вільних тіольних і гідроксильних груп.

**ВИСНОВКИ.** 1. З віком генерація активних форм Оксигену зростає в інтактних тварин. При комбінованій дії важких металів і гліфосату найвищий їх вміст спостерігають у молодих щурів.

2. Одночасне введення Плюмбуму ацетату, Купруму сульфату і гліфосату (в формі раундапу) в допорогових дозах ( $1/20 DL_{50}$ ) супроводжується зростанням вільнорадикального окиснення, що викликає зниження глутатіонпероксидазної, глутатіонредуктазної, каталазної, супероксиддисмутазної активності та вмісту SH-груп у щурів усіх вікових груп, особливо молодих тварин.

3. При комбінованій дії збільшується вміст активних форм Оксигену, дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів.

4. Введення ураженим щурам пептидів як коригувальних чинників зменшує в сторону норми вміст активних форм Оксигену і продуктів вільнорадикального окиснення, збільшує вміст SH-груп та активність ензимів антиоксидантної системи, що, очевидно, вказує на антиоксидантні властивості пептидів.

**Перспективи подальших досліджень.** Заплановано вивчити коригувальну дію низькомолекулярних пептидів на зміни показників білкового та ліпідного обміну в щурів, уражених Плюмбуму ацетатом, Купруму сульфатом і раундапом.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ahamed M. Environmental lead toxicity and nutritional factors / M. Ahamed, M. K. J. Siddiqui // *Clin. Nutr.* – 2007. – **26** (4). – P. 400–408.
2. Марушко Ю. В. Значення недостатності вмісту міді в організмі для клінічної практики / Ю. В. Марушко // *Дитячий лікар.* – 2013. – № 2 (23). – С. 11–16.
3. Maria Arena. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxochloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture / Maria Arena, Domenica Auteri, Stefania Barmaz [et al.] // *EFSA Journal.* – 2018. – No. 16 (1). – P. 1–25. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5152>
4. Prasher D. Heavy metals and noise exposure: health effects / D. Prasher // *Noise Health.* – 2009. – **11**. – P. 141–144.
5. Karrari P. A systematic review on status of lead pollution and toxicity in Iran; Guidance for preventive measures / P. Karrari, O. Mehrpour, M. Abdollahi // *Daru.* – 2012. – **20**, No. 1. – P. 2–12.
6. Dietert R. R. Lead and immune function / R. R. Dietert, M. S. Piepenbrink // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2006. – No. 36. – P. 359–385.
7. Вплив свинцю на репродуктивне здоров'я чоловіків / С. С. Островська, В. Ф. Шаторна, О. Г. Слесаренко [та ін.] // *Укр. журн. медицини, біології та спорту.* – 2021. – **6**, № 4 (32). – С. 193–198.
8. Mishra D. Quercetin administration during chelation therapy protects arsenic induced oxidative stress in mouse / D. Mishra // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2008. – **122**. – P. 137–147.
9. Chelators as antidotes of metal toxicity: therapeutic and experimental aspects / M. Blanusa, V. M. Varnai, M. Piasek [et al.] // *Current Medicinal Chemistry.* – 2005. – **12**, No. 23. – P. 2771–2794.
10. Pachauri P. Combinational chelation therapy abrogates lead induced neurodegeneration in rats / P. Pachauri, G. Saxena, A. Mehta [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – No. 240. – P. 255–265.
11. Махинько В. И. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс / В. И. Махинько, В. Н. Никитин // *Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития.* – К. : Наукова думка, 1975. – С. 308–326.
12. Detection of conjugated diene isomers of linoleic acid in liver lipids of rats fed a choline-devoid diet indicates that the diet does not cause lipoperoxidation / Sehas-



tiano Bann, Billy W. Day, Rhobert W. Evans [et al.] // *Journal of Nutritional Biochemistry*. – 1995. – **6**, Issue 5. – P. 281–289.

13. Débora de Andrade F. Methods for the determination of conjugated dienes in petroleum products: A review / Débora F. de Andrade, Daniella R. Fernandes, Jussara L. Miranda // *Fuel Journal Homepage*. – 2010. – **89**, Issue 8. – P. 1796–1805.

14. Крась С. І. Тканинна специфіка функціонування антиоксидантної системи та пероксидного окислення ліпідів в амурського сазана різних вікових груп / С. І. Крась, С. І. Тарасюк // *Укр. біохім. журн.* – 2011. – **83**, № 4. – С. 77–83.

15. Костенко В. О. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання / В. О. Костенко, О. І. Цебржинський // *Фізіол. журн.* – 2000. – **46**, № 5. – С. 56–62.

16. Able A. J. Use of a new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* / A. J. Able, D. I. Guest, M. W. Sutherland // *Plant Physiol.* – 1998. – **117**, No 2. – P. 491–499.

17. Shin-Kyo Chung. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*) / Shin-Kyo Chung, Toshihiko Osawa, Shunro Kawakishi // *Biosei. Biotedi. Biochem.* – 1997. – **61** (1). – P. 118–123, <https://doi.org/10.1271/bbb.61.118>.

18. Мецишен І. Ф. Метод кількісного визначення HS-груп у крові / І. Ф. Мецишен, Н. П. Григор'єва // *Буковин. мед. вісн.* – 2002. – № 6 (2). – С. 190–192.

19. Геруш І. В. Вплив спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на стан антиоксидантної системи печінки при експериментальному ерозивно-виразковому ураженні гастродуоденальної зони / І. В. Геруш, І. Ф. Мецишен // *Фармак. вісн.* – 1998. – № 5. – С. 34–37.

20. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.] ; за ред. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.

21. Superoxide dismutases and superoxide reductases / Y. Sheng, I. A. Abreu, D. E. Cabelli [et al.] // *Chem. Rev.* – 2014. – **114**. – P. 3854–3918.

22. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Goth // *Clinica Chimica Acta*. – 1991. – **196**, No. 2–3. – P. 143–151.

23. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України від 21.02.2006 р. № 3447-IV.

24. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

25. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg, 1986. – No. 123. – 52 p.

26. Bernard Rosner. *Fundamentals of Biostatistics*. – Boston, USA. – 2010. – 859 p.

27. Failure of recovery from lead induced hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defence system in wistar rats / T. O. Omobowale, A. A. Oyagbemi, A. S. Akinrinde, A. B. Saba // *Environ. Toxicol. Pharm.* – 2014. – No. 37 (3) – P. 1202–1211.

28. Ahamed M. Environmental lead toxicity and nutritional factors / M. Ahamed, M. K. J. Siddiqui // *Clin. Nutr.* – 2007. – **26** (4). – P. 400–408.

29. Gutteridge J. M. Antioxidants: molecules, medicines and myths / J. M. Gutteridge, B. Halliwell // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – **393**. – P. 564–569.

30. Migliore L. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging / L. Migliore, F. Coppede // *Mutat. Res.* – 2009. – **674**. – P. 73–84.

#### REFERENCES

1. Ahamed M, Siddiqui M.K.J. (2007). Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clin. Nutr.*, 26 (4), 400-408.

2. Marushko, Iu.V. (2013). Significance of insufficient copper content in the body for clinical practice. *Children's Doctor*, 2 (23), 11-16 [in Ukrainian].

3. Maria Arena, Domenica Auteri, Stefania Barmaz & Laura Villamar-Bouza (2018). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture. *EFSA Journal*, 16 (1), 1-25. (<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5152>)

4. Prasher, D. (2009). Heavy metals and noise exposure: health effects. *Noise Health*, 11, 141-144.

5. Karrari P., Mehrpour O., Abdollahi M. (2012). *A systematic review on status of lead pollution and toxicity in Iran; Guidance for preventive measures*. 20, 1, 2-12.

6. Diert, R.R., & Piepenbrink, M.S. (2006). Lead and immune function. *Crit. Rev. Toxicol.*, 36, 359-385.

7. Ostrovska, S.S., Shatorna, V.F., & Slesarenko, O.H. (2021). The influence of lead on the reproductive health of men. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*, 6, 4 (32), 193-198 [in Ukrainian].

8. Mishra, D. (2008). Quercetin administration during chelation therapy protects arsenic induced oxidative stress in mouse. *Biological Trace Element Research*, 122, 137-147.

9. Blanusa M. (2005). Chelators as antidotes of metal toxicity: therapeutic and experimental aspects. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 2771-2794.

10. Pachauri, P. (2009). Combinational chelation therapy abrogates lead induced neurodegeneration in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 240, 255–265.

11. Makhinko, V.I., & Nikitin, V.N. (1975). *Growth constants and functional development periods in the postnatal life of white rats. Molecular and physiological mechanisms of age development*. Kyiv [in Russian].

12. Sebastiano Bann, Billy W. Day, Rhobert W. Evans, & Benito Lombardi (1995). Detection of conju-

gated diene isomers of linoleic acid in liver lipids of rats fed a choline-devoid diet indicates that the diet does not cause lipoperoxidation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 6, 5, 281-289.

13. Methods for the determination of conjugated dienes in petroleum products: A review. (2010). *Fuel Journal Homepage*, 89 (8), 1796-1805.

14. Kras, S.I., & Tarasiuk, S.I. (2011). Tissue specificity of the functioning of the antioxidant system and peroxide oxidation of lipids in the Amur sazan of different age groups. *Ukrainian Biochemical Journal*, 83 (4), 77-83 [in Ukrainian].

15. Kostenko, V.O., & Tsebrzhinsky, O.I. (2000). Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissue after surgical intervention. *Physiol. Journ.*, 46 (5), 56-62.

16. Able, A.J., Guest, D.I., & Sutherland, M.W. (1998). Use of a new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of phytophthora parasitica var nicotianae. *Plant Physiol.*, 117 (2), 491-499.

17. Shin-Kyo Chung, Toshihiko Osawa, Shunro Kawakishi. Shin-Kyo Chung (1997). Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosei. Biotedl. Biochem.*, 61, 118-123.

18. Meschyshen, I.F., & Hryhorieva, N.P. (2002). Method for quantitative determination of HS groups in the blood. *Bukovyna Medical Bulletin*, 6 (2), 190-192 [in Ukrainian].

19. Herush, I.V., & Meschyshen, I.F. (1998). The effect of alcohol tincture of *Echinacea purpurea* on the state of the antioxidant system of the liver in experimental erosive-ulcerative lesions of the gastroduodenal zone. *Pharma-cological Bulletin*, 5, 34-37 [in Ukrainian].

20. Vlizlo, V.V., Fedorchuk, R.S., & Ratych, I.B. (2012). *Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: Handbook*. Lviv: SPOLOM [in Ukrainian].

21. Sheng, Y., Abreu, I.A., & Cabelli, D.E. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chem. Rev.*, 114, 3854-3918.

22. Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta.*, 196 (2-3), 143-151.

23. *The Law of Ukraine "On the Protection of animals from ill-treatment"* of 02.21. 006, No. 3447 [in Ukrainian].

24. Kozhemiakin, Yu.M., Khromova, O.S., & Filonenko, M.A. (2002). *Scientific and practical recommendations for the maintenance of laboratory animals and work with them*. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian]

25. (1986). *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes Council of Europe*. Strasbourg.

26. Bernard Rosner. (2010). *Fundamentals of Biostatistics*. Boston, USA.

27. Omobowale T.O, Oyagbemi A.A, & Olopade J.O. (2014). Failure of recovery from lead induced hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defence system in wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharm.*, 37 (3), 1202-1211.

28. Ahamed, M., & Siddiqui, M.K.J. (2007) Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clin. Nutr.*, 26 (4), 400-408.

29. Gutteridge, J.M., & Halliwell, B. (2010). Antioxidants: molecules, medicines and myths. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 393, 564

30. Migliore, L, & Coppede, F. (2009). Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutat. Res.*, 674, 73-84.

Ye. B. Dmukhalska, M. M. Korda, T. Ya. Yaroshenko  
I. HORBACHEVSKY TERNOPII NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## THE CORRECTIVE EFFECT OF PEPTIDES ON THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM INDICATORS' CHANGES IN RATS OF DIFFERENT AGES AFFECTED BY HEAVY METALS AND ROUNDUP

### Summary

**Introduction.** Heavy metals and organophosphorus compounds used in agriculture cause diseases of the liver and other organs, which contributes to the formation of reactive oxygen species (ROS), which can induce lipid peroxidation and inhibit the antioxidant system. The basis of the action of heavy metals is the blocking of functionally active groups of structural proteins, enzyme proteins, the blocking of sulfhydryl (thiol, SH) groups is of greatest importance. Under the action of heavy metals, most proteins lose their physicochemical and biological properties, which leads to disruption of protein and other metabolism.

**The aim of the study** – to investigate the corrective effect of peptides on the state of pro- and antioxidant systems in rats of various ages affected by lead acetate, cuprum sulfate, and glyphosate (in the form of roundup herbicide).

**Research Methods.** Experiments were conducted on laboratory non-linear white male rats of 3 age periods (sexually immature, sexually mature and old), which were administered intragastrically for 30 days with aqueous solutions of lead acetate, copper sulfate and glyphosate. For the purpose of correction, on the 21st day, 6 hours

after the introduction of toxicants, peptides were administered for 10 days. Glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase, superoxide dismutase activity and the content of SH-groups, ROS, TBA-active products (TBA-AP) and diene conjugates (DC) were determined in blood serum and liver homogenate of affected and corrected animals by the spectrophotometric method.

**Results and Discussion.** Heavy metals and organophosphorus compounds caused the formation of ROS, such as superoxide ions, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals. With the combined action of lead acetate, copper sulfate, and glyphosate, the processes of free radical oxidation of lipids and the generation of ROS in rats were activated with age, which was evidenced by the increase in the content of DC, TBA-AP, superoxide anion radical, and hydroxyl radical. As our studies showed, the introduction of toxicants led to a decrease in glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase, superoxide dismutase activity, the level of SH-groups in blood serum and liver homogenate of affected animals. The use of peptides as correction factors contributed to a decrease towards the norm in the content of ROS and products of lipid peroxidation and normalization of the activity of enzymes of the antioxidant system, which obviously indicates the antioxidant and chelating properties of peptides.

**Conclusion.** Exposure of rats to lead acetate, copper sulfate and glyphosate at a dose of 1/20 LD50 leads to an increase in the content of TBA-AP, DC, ROS and a decrease in the activity of enzymes of the antioxidant system in blood serum and liver homogenate. Administration of peptides as corrective factors to animals of various ages with toxic liver damage increases glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase, and superoxide dismutase activity toward normal levels and reduces the content of lipid free radical oxidation products and ROS.

KEY WORDS: lead acetate; copper sulfate; glyphosate; oxidative stress; free radicals; reactive oxygen species; free radical oxidation; antioxidation systems.

Отримано 14.11.22

Адреса для листування: Є. Б. Дмухальська, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: dmukhalska@tdmu.edu.ua.