

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І РАУНДАПУ

У статті розглянуто вплив купрум сульфату, плюмбум ацетату та гліфосату на стан показників білкового обміну в тварин різного віку. Установлено, що за дії ксенобіотиків збільшується вміст молекул середньої маси, креатиніну, сечовини, залишкового азоту, білірубіну та знижується активність амінотрансфераз у плазмі крові щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: плюмбум ацетат, купрум сульфат, гліфосат, функціональний стан печінки, обмін білків, щури.

ВСТУП. У результаті промислової діяльності збільшується кількість токсичних речовин у навколишньому середовищі, що призводить до зростання захворювань населення [1–4].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, важкі метали – велика група ксенобіотиків, які характеризуються високою стійкістю в навколишньому середовищі й відомі людству як політропні токсини [15, 16].

В основі дії важких металів лежить блокування функціонально активних груп структурних білків і білків-ферментів, найбільше значення має блокування сульфгідрильних (тіолових) груп (SH). У результаті втрати білками багатьох фізико-хімічних і біологічних властивостей порушується обмін білків та інших речовин. Руйнується структура клітинних оболонок, що призводить до виходу з клітини багатьох елементів та речовин. Основними центрами токсичності сполук важких металів, у тому числі купрум і плюмбуму, є епітелій нирок, печінки, кишечника, еритроцитів і нервові клітини, де спостерігають підвищену концентрацію цих речовин [12, 14].

Ще одним джерелом токсичного впливу на організм людини є фосфорорганічні сполуки (ФОС), які досить широко застосовують у сільському господарстві, промисловості та медицині. Фосфорорганічні сполуки – речовини з різною токсичністю для людини. Більшість ФОС не стійкі в зовнішньому середовищі, розпадаються протягом 1–2 місяців. Гранично допустима концентрація для різних ФОС коливається від 0,02 до 0,5 мг/м³. Отруєння може настати

в результаті вдихання парів ФОС і їх проникнення через травний тракт та шкіру. Проникнення ФОС крізь шкіру зумовлене тим, що вони добре розчиняються в жирах і ліпоїдах. Більшість представників цієї групи токсичних речовин, потрапивши на шкіру, не залишають слідів, не спричинюють місцевої подразнювальної дії, тому отруєння вчасно може бути не виявлене. При хронічному впливі на організм людини ФОС має ефект функціональної кумуляції.

Інактивація більшості ФОС в організмі проходить шляхом гідролізу або хімічної взаємодії з білками протягом доби. В результаті окиснення утворюються активніші метаболіти порівняно з тими, що потрапляють в організм. Це сприяє посиленню їх токсичного ефекту. До цієї групи сполук належить гліфосат (N-(фосфометил)гліцин) – неселективний гербіцид системної дії, який вважають малотоксичним. Однак існують дані, що він, як і всі фосфорорганічні сполуки, впливає на нервову та серцево-судинну системи, інактивує ферменти [4, 7, 15].

Зважаючи на вищесказане, метою даної роботи було дослідити зміни показників функціонального стану печінки в щурів різних вікових груп, уражених купрум сульфатом, плюмбум ацетатом та фосфорорганічним пестицидом – раундапом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою вивчення функціонального стану печінки за ураження важкими металами та гліфосатом було проведено дослідження на лабораторних нелінійних білих щурах-самцях трьох вікових груп: статевонезрілих (молодих масою 70–90 г і віком 2–3 міс.), статевозрілих (середніх масою 170–

210 г і віком 5–8 міс.) та старих (масою 250–300 г і віком 20–24 міс.). Вік щурів визначали за схемою [9]. Отруювали тварин упродовж 30 днів шляхом щоденного перорального введення водних розчинів плумбум ацетату в дозі 11 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), купрум сульфату в дозі 13 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$), гліфосату (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла ($1/20 LD_{50}$). Інтактним тваринам вводили питну водопровідну дехлоровану воду. Всіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні (контрольні); 2-га – уражені купрум сульфатом; 3-тя – уражені плумбум ацетатом; 4-та – уражені гліфосатом (раундапом); 5-та – одночасне ураження тварин усіма вищеперерахованими токсикантами. На 1-шу добу після 30-денного ураження тварин виводили з експерименту за умов тіопенталонатрієвого наркозу. Вплив токсикантів на зміни показників функціонального стану печінки та білкового обміну в організмі уражених щурів оцінювали за активністю аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), рівнем білірубину, креатиніну, сечовини, загального білка, залишкового азоту [5], молекул середньої маси (МСМ) [10]. Отриманий нами цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу з використанням t-критерію Стьюдента [8]. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

Під час проведення досліджень усі щури перебували у виварії з підтриманням постійної

температури та вологості. Усі експерименти на тваринах проводили відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що отруєння важкими металами та іншими ксенобіотиками супроводжується генерацією активних форм кисню, пероксидною модифікацією молекул і виснаженням системи антиоксидантного захисту організму, що призводить до зростання проникності мембран клітин та органел, виходом у позаклітинний простір органоспецифічних ферментів [17].

Як показали наші дослідження (табл. 1–3), за дії купрум сульфату, плумбум ацетату, гліфосату та їх поєднання спостерігали істотні зміни активності амінотрансфераз у сироватці крові уражених щурів. Найбільш виражене зростання активності цих ферментів відмічено в щурів 3-місячного віку. Так, ферментна активність АлАТ у крові становила за дії купрум сульфату 164 %, плумбум ацетату – 184 %, гліфосату – 276 %, їх комбінованої дії – 428 % від рівня контролю (інтактні тварини). Це можна пояснити тим, що кількість ферменту, яка потрапляє з гепатоцитів у позаклітинний простір, збільшується в плазмі крові.

Подібно змінювалась активність АсАТ, яка за комбінованої дії купрум сульфату, плумбум ацетату і раундапу в плазмі крові тварин 3-, 6- і 24-місячного віку зростає в 2,6; 2,7; 2,1 рази від рівня контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 1 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в статевонезрілих щурів, уражених плумбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	6,18±0,17	6,60±0,31	11,36±0,27*	6,71±0,22	12,03±0,37*
Загальний білок, г/л	80,42±2,89	69,59±1,49*	52,07±1,64*	64,36±2,16*	47,08±1,89*
МСМ ₁ ум. од.	0,30±0,01	0,31±0,01*	0,46±0,01*	0,38±0,01*	0,53±0,01*
МСМ ₂ ум. од.	0,040±0,002	0,057±0,002*	0,090±0,005*	0,078±0,004*	0,108±0,003*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	3,59±0,24	5,88±0,28*	6,62±0,33*	9,92±0,29*	15,39±0,25*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	3,89±0,22	7,69±0,31*	10,71±0,24*	8,83±0,29*	11,53±0,25*
Залишковий азот, ммоль/л	19,31±0,96	23,69±1,13*	27,35±0,97*	25,88±1,37*	36,90±0,91*
Креатинін, ммоль/л	10,52±0,23	12,90±0,35*	15,69±0,51*	12,30±0,28*	19,25±0,66*
Загальний білірубін, мкмоль/л	9,74±0,52	12,74±0,61*	16,19±0,49*	13,56±0,55*	25,35±0,89*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – зміни достовірні відносно інтактних тварин ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в статевозрілих щурів, уражених плумбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	6,84±0,16	5,34±0,23*	4,61±0,24*	5,72±0,26*	4,00±0,34*
Загальний білок, г/л	73,18±2,55	69,91±3,15	51,50±2,90*	52,59±1,93*	49,08±1,44*
MCM ₁ , ум. од.	0,38±0,01	0,43±0,01*	0,47±0,01*	0,42±0,01*	0,58±0,01*
MCM ₂ , ум. од.	0,055±0,007	0,074±0,011*	0,086±0,005*	0,074±0,005*	0,095±0,005*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	4,81±0,33	12,53±0,65*	15,62±0,75*	10,77±0,66*	17,34±0,88*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	5,63±0,59	8,31±0,61*	11,39±0,55*	9,58±0,78*	15,28±0,84*
Залишковий азот, ммоль/л	21,17±0,86	26,66±1,19*	29,20±1,02*	31,91±1,19*	34,76±0,95*
Креатинін, ммоль/л	9,10±0,41	12,98±0,53*	15,07±0,53*	11,68±0,48*	16,90±0,36*
Загальний білірубін, мкмоль/л	11,12±0,49	11,96±0,82	15,67±0,61*	11,68±0,72	20,08±0,86*

Таблиця 3 – Біохімічні показники функціонального стану печінки та білкового обміну в старих щурів, уражених плумбум ацетатом, купрум сульфатом, гліфосатом, та за їх комбінованої дії ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин				
	інтактні	уражені			
		CuSO ₄	(CH ₃ COO) ₂ Pb	гліфосатом	поєднана дія
Сечовина, ммоль/л	8,44±0,23	91,6±0,39	11,62±0,32*	9,84±0,34*	12,02±0,34*
Загальний білок, г/л	70,40±2,54	68,15±2,19	48,65±2,26*	61,40±1,92*	44,71±1,58*
MCM ₁ , ум. од.	0,38±0,01	0,44±0,01*	0,58±0,01*	0,52±0,01*	0,61±0,01*
MCM ₂ , ум. од.	0,134±0,009	0,243±0,012*	0,317±0,023*	0,262±0,018*	0,356±0,030*
АлАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	6,35±0,031	8,80±0,32*	4,95±0,20*	11,48±0,27*	15,60±0,27*
АсАТ, кмоль ПВК/ (г білкахгод)	6,75±0,25	8,87±0,22*	6,46±0,25	12,29±0,32*	14,50±0,35*
Залишковий азот, ммоль/л	29,00±1,07	32,33±0,70*	37,40±0,66*	34,15±0,77*	38,10±0,96*
Креатинін, ммоль/л	7,96±0,35	10,55±0,36*	13,12±0,58*	10,92±0,28*	14,62±0,55*
Загальний білірубін, мкмоль/л	12,82±0,66	15,72±0,78*	17,31±0,53*	15,28±0,84*	25,88±1,37*

Ще одним непрямим маркером фізіологічного стану печінки є рівень білірубину, що утворюється при розпаді гемоглобіну. За нормальних умов білірубін зв'язується в печінці, а потім виводиться з організму з жовчю через шлунково-кишковий тракт. Введення щурам солей купруму і плумбуму та раундапу викликало достовірне зростання вмісту загального білірубину в усіх піддослідних тварин. За комбінованої дії ксенобіотиків відмічали максимальне збільшення білірубину в 3-місячних тварин – (25,35±1,09) мкмоль/л, що на 260 % вище від показників інтактних щурів (табл. 1). Рівень білірубину в крові може підвищуватись при його

надмірному утворенні, зниженому поглинанні та зв'язуванні у печінці, а також зниженому виділенні при порушенні прохідності жовчних проток [11].

За дії ксенобіотиків спостерігали пригнічення функцій печінки, про що свідчили зростання вмісту в крові креатиніну, залишкового азоту та зменшення концентрації загального білка. Ці показники зазнали змін в усіх групах піддослідних тварин. Так, вміст білка за комбінованої дії купрум сульфату, плумбум ацетату і раундапу в тварин 3-, 6- і 24-місячного віку становив, відповідно, 59, 67 і 64 % від рівня контролю. Одночасно зі зменшенням вмісту білка зростала концентрація залишкового

азоту і креатиніну. За даної патології вміст залишкового азоту в плазмі крові уражених щурів 3-, 6- і 24-місячного віку складав, відповідно, 191,2, 164,2 % і 131,4 % від рівня контролю (інтактні тварини, $p < 0,05$).

Введення щурам плумбум ацетату, купрум сульфату та раундапу супроводжувалося синдромом ендогенної інтоксикації, на що вказувало зростання вмісту молекул середньої маси, які містять ланцюгові (MCM_1) та ароматичні амінокислоти (MCM_2). Максимальний вміст середньомолекулярних пептидів відмічено за комбінованого ураження ксенобіотиками у тварин усіх вікових груп (табл. 1–3). Так, у сироватці крові статевонезрілих тварин вміст MCM_1 збільшився в 1,8 раза, а в дорослих і старих – в 1,6 раза порівняно з інтактними щурами ($p < 0,05$). Аналогічних змін зазнав вміст

MCM_2 , що становив 270, 173 та 266 % від рівня контролю (інтактні тварини).

Отже, одержані дані, ймовірно, вказують на посилення катаболічних процесів та порушення проникності клітинних мембран, що супроводжується наростанням ендогенної інтоксикації організму.

ВИСНОВКИ. Інтоксикація впродовж 30 днів купрум сульфатом, плумбум ацетатом та гліфосатом у формі раундапу в допорогових дозах ($1/20 DL_{50}$) супроводжується порушенням білоксинтезувальної функції печінки. Підвищення вмісту білірубину, сечовини, залишкового азоту, креатиніну, MCM , зростання активності сироваткових амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) свідчать про наявність синдрому внутрішньопечінкового холестазу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабенко Г. А. Свинцевий токсикоз як універсальний патогенний фактор у формуванні хвороб / Г. А. Бабенко // Мед. газета. – 1994. – № 7. – С. 33–34.
2. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності. ДСанПіН 8.87.1.002. – К., 1998. – 181 с.
3. Гнатейко О. З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О. З. Гнатейко, Н. С. Лук'яненко // Здоровье ребенка. – 2007. – № 6 (9). – С. 82–87.
4. Доповнення до переліку пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Міністерство охорони навколишнього природного середовища. – К., 2009. – 304 с.
5. Камышникова В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. В. С. Камышникова. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.
6. Кожем'якіна Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робота з ними / Ю. М. Кожем'якіна, О. С. Хромова, М. А. Філоненко. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Кузнецова Е. М. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков / Е. М. Кузнецова, В. Д. Чмиль // Совр. пробл. токсикологии. – 2010. – № 1. – С. 87–95.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия / под ред. Г. Ф. Лакина. – М. : Высш. школа, 1990. – 352 с.
9. Махынко В. И. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс / В. И. Махынко, В. Н. Никитин // Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. – К., 1975. – С. 308–326.
10. Метод определения эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
11. Окремі біохімічні показники сироватки крові мишей з нокаутом гена *pttg* // О. П. Канюка, Є. З. Філяк, С. В. Афанасьєв, Н. О. Сибірна // Біологічні Студії. – 2011. – 5, № 3. – С. 41–48.
12. Свинец и его действие на организм (обзор литературы) / А. И. Корбакова, Н. С. Сорокина, Н. Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 29–34.
13. Ткач С. И. Профессиональная свинцовая интоксикация: патогенез, клиника, диагностика, лечение / С. И. Ткач, В. Н. Братусь // Вестник проблем биологии и медицины. – 1997. – № 5. – С. 13–23.
14. Ткаченко Т. А. Кислотно-лужный стан крови вагітних щурів за введення їм ацетату свинцю // Укр. біохім. журн. – 2008. – 80, № 5. – С. 112–116.
15. Трахтенберг И. М. Книга о ядах и отравлениях / И. М. Трахтенберг. – К. : Наукова думка, 2000. – 366 с.
16. Штабський Б. М. Обмін свинцю і завдання профілактичної та клінічної медицини / Б. М. Штабський, В. І. Федоренко // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2000. – № 2. – С. 109–111.
17. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD // P. Cales, F. Laine, J. Boursier [et al.] / J. of Hepatol. – 2007. – 50. – P. 165–170.

Я. И. Гонский, Е. Б. Дмухальска, Т. Я. Ярошенко
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РАУНДАПА

Резюме

В статье рассмотрено влияние сульфата меди, ацетата свинца и глифосата на состояние показателей белкового обмена у животных разного возраста. Установлено, что под действием ксенобиотиков увеличивается содержание молекул средней массы, креатинина, мочевины, остаточного азота, билирубина и снижается активность аминотрансфераз в плазме крови крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ацетат свинца, сульфат меди, глифосат, функциональное состояние печени, обмен белков, крысы.

Ya. I. Honsky, Ye. B. Dmukhalska, T. Ya. Yaroshenko
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOCHEMICAL INDICES OF LIVER FUNCTIONAL STATE BY THE COMBINED EFFECT OF HEAVY METAL SALTS AND ROUNDUP

Summary

The article it was research the effects of copper sulfate, lead acetate and glyphosate on the indicators of protein metabolism in animals of different age. It was discovered that these toxicants increase content of middle mass molecules (MMM), creatinine, urea, residual nitrogen, bilirubin and decrease activity of aminotransferase on blood plasma of affected rats.

KEY WORDS: lead acetate, copper sulfate, glyphosate, the functional state of the liver, protein metabolism, rats.

Отримано 03.07.14

Адреса для листування: Т. Я. Ярошенко, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.