

УДК 577.122:615.9:546.81:636.028

ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ НА ПУЛ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ОТРУЄННЯ РІЗНИМИ ДИСПЕРСНИМИ ФОРМАМИ СВИНЦЮ

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

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Досліджено вплив препарату Глутаргін на вміст вільних амінокислот крові щурів за умов свинцевої інтоксикації, яку моделювали пероральним уведенням свинцю ацетату в дозі 70 мг/кг маси тіла тварини (макродисперсна форма) та наночастинок свинцю (наноформа) в аналогічній дозі. Глутаргін піддослідним щурам давали *per os* з першого дня експозиції з розрахунку 100 мг/кг маси тіла. Інтактним тваринам протягом експерименту перорально вводили 0,9 % NaCl. Уміст вільних амінокислот у крові щурів визначали після 14 днів експозиції. Введення Глутаргину при свинцевій інтоксикації зменшувало токсичний вплив свинцю на пул амінокислот, що сприяло нормалізації синтезу білка в уражених органах та тканинах.

Ключові слова: макродисперсна форма свинцю, наноформа свинцю, Глутаргін, вільні амінокислоти, кров

Вступ

Свинець та його сполуки є найчастішими причинами екологічно зумовленої та професійної патології хімічного генезу [1]. Це викликано тим, що в сучасних умовах техногенне забруднення довкілля свинцем, у зв'язку з широким розвитком автомобільної індустрії, збільшенням використання автотранспорту та його промисловим застосуванням, досить значне, і чинить несприятливу дію на організм [1–3].

Відомо, що свинець за рахунок мембранотоксичної дії змінює активність мембранозв'язаних і цитозольних ферментів, а також викликає перебудову в функціонуванні вуглеводного, білкового й ліпідного обмінів [4].

Для свинцю характерною є дія на молекули-мішені, як вияв прямої токсичності, так і утворення вторинних токсикантів, насамперед неспецифічних інтермедіатів, що, у свою чергу, за принципом каскадно-ланцюгового механізму [5] призводить до порушення ряду обмінних процесів, особливо, метаболізму білків.

З розвитком нанотехнологій, ще більшої актуальності набуло вивчення впливу свинцю на організм. Це зумовлюється тим, що токсичність наночастинок не може бути рівнозначною з аналогами в макродисперсній формі, так як їхні токсикологічні властивості є результатом не тільки хімічного складу, але й таких особливостей, як поверхневі характеристики, розмір, форма, маса тощо [6–8].

Існують переконливі дані про те, що, потрапляючи до організму, ультрадисперсні частинки можуть дифундувати в різні відділи респіраторного тракту,

транспортуватися через епітеліальні та ендотеліальні клітини до кровоносної й лімфатичної систем, накопичуватись у кістковому мозку, лімфатичних вузлах, селезінці та серці [6–11].

Білковий обмін у тварин є чи не найінформативнішим показником при техногенному забрудненні середовища, оскільки дає можливість охарактеризувати обмінні процеси в організмі, тим паче, що токсичну дію свинцю на пряму пов'язують із впливом на білоксинтетичні процеси в організмі тварин [12]. Доведено, що за умов інтоксикації свинцем відбувається зниження рівня загального білка, зменшення кількості альбумінів, α_1 - та α_2 -глобулінів та підвищення рівня β - і γ -глобулінів [13–15]. Тому вивчення способів зменшення токсичної дії макродисперсної та наноформи свинцю на організм у цілому, і білкового обміну зокрема, є актуальним.

Загальновідомо, що основними інтермедіатами білкового обміну є амінокислоти, які слугують резервом для синтезу білків та нуклеїнових кислот, а також беруть участь у субстратному забезпеченні ліпогенезу та гліюкогенезу, зв'язуванні аміаку, виконують функції нейромедіаторів, використовуються як джерело енергії [14].

У нашій роботі з метою мінімізації негативно-го впливу макродисперсної та наноформи свинцю на амінокислотний склад крові щурів застосовано препарат Глутаргін, який у своєму складі містить аргінін та глутамінову кислоту. Відомо, що Глутаргін є донатором NO, бере участь у підтриманні системної та локальної гемодинаміки, має виражені мембраностабілізуючі, антигіпоксичні, антиоксидантні,

дезінтоксикаційні та імуномодельючі властивості, нормалізує білковий обмін [16].

Мета дослідження – визначення пулу вільних амінокислот крові щурів за отруєння різними дисперсними формами свинцю та за умов застосування препарату Глутаргін.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на базі наукової лабораторії кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції імені академіка М. Ф. Гулого НУБіП України та віварію факультету ветеринарної медицини. В експериментах використовували статево-зрілих самців білих лабораторних щурів масою тіла 200–220 г, яких утримували в групових клітках на стандартному раціоні з вільним доступом до питної води. Отруєння щурів проводили впродовж 14 діб. Тварин було розподілено на 5 дослідних груп, по 10 щурів у кожній: 1 група – інтактні щури, 2 група – щури, отруєні ацетатом свинцю *per os* у дозі 1/100 ЛД₅₀ (макродисперсна форма), що складає 70 мг/кг маси тіла тварини [5], 3 група – щури, отруєні наночастинками свинцю (наноформа) в аналогічній дозі, 4 група – щури, отруєні макродисперсною формою свинцю з попереднім введенням Глутаргіну (*per os*, за 1 год до введення свинцю у вигляді 2 % розчину з розрахунку 100 мг/кг маси тіла тварини), 5 група – щури, отруєні наночастинками свинцю, також з попереднім введенням 2 % розчину Глутаргіну. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях.

Уміст амінокислот у крові визначали методом рідинної іонообмінної хроматографії на амінокислотному аналізаторі ААА Т-339М фірми «Мікротехна» (Чехія) [17].

Результати дослідження оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми MS Excel із використанням *t*-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Вивчення закономірностей обміну амінокислот є необхідною умовою для правильного вибору діагностичних і терапевтичних заходів щодо усунення патологічних процесів при токсичному ураженні організму. Доведено, що дослідження пулу вільних амінокислот у крові є відображенням інтенсивності

обміну білків та амінокислот, а також їхніх змін під впливом різних факторів, зокрема сполук важких металів [14, 15]. Було проведено якісний та кількісний аналіз амінокислотного складу крові щурів, отруєних макродисперсною та наноформою свинцю, а також за умов застосування Глутаргіну.

Проведеними дослідженнями було виявлено 19 вільних амінокислот у крові щурів, отруєних різними дисперсними формами свинцю, а саме: 10 замісних – аланін, аспарагінова кислота, гліцин, глутамінова кислота, пролін, серин, тирозин, орнітин, цистин, глютамін та 9 незамінних – аргінін, валін, гістидин, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, треонін, фенілаланін, і встановлено різноспрямовані зміни їхнього вмісту.

У крові щурів, отруєних макродисперсною та наноформою свинцю, відмічено вірогідне зниження вмісту лізину порівняно з інтактною групою тварин у 1,5 та 1,7 разу, треоніну – на 31,0 та 18,5 %, валіну – на 34,0 та 19,1 %, лейцину – на 25,9 та 26,0 % відповідно. Також відмічено різноспрямовані зміни вмісту гістидину. Так, при отруєнні макродисперсною формою свинцю, його вміст знизився на 26,2 %, а при задаванні наноформи – підвищився на 28,6 %.

При отруєнні наноформою свинцю вміст аргініну та метіоніну знижується порівняно з інтактними тваринами на 21,4 та 28,8 % відповідно, а при введенні макродисперсної форми свинцю вірогідних змін умісту вказаних амінокислот не виявлено.

Дослідження рівня замісних амінокислот у крові щурів отруєних макродисперсною та наноформою свинцю, виявили підвищення вмісту цистину в 11,5 та 5,8 разу, глутаміну в 1,8 та 2,5 разу, орнітину в 1,4 та 2,5 разу, проліну на 16,7 та 45,9 %, тирозину – 20,0 та 24,6 %, та зниження рівня глутамінової кислоти в 1,6 та 1,7 разу, аланіну на 21,2 та 30,9 % відповідно, у порівнянні з їх рівнем у щурів інтактної групи. Встановлено також збільшення рівня гліцину в крові щурів отруєних наноформою свинцю на 43,7 % порівняно з інтактними тваринами.

Дослідження впливу препарату Глутаргін на вміст вільних амінокислот у крові щурів за умови моделювання свинцевої інтоксикації не виявили змін їх якісного складу, проте відмічено наступні зміни кількісного вмісту (рис. 1, 2).

Встановлено, що додавання Глутаргіну щурам, отруєним наночастинками свинцю, призводить до підвищення рівня орнітину порівняно з отруєними тваринами в 1,6 разу (рис. 2). Відомо, що основна роль орнітину в організмі пов'язана з його участю в циклі сечовиноутворення, в якому з аргініну утво-

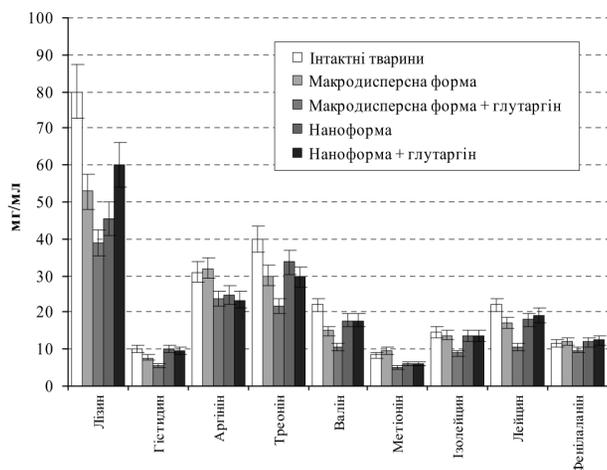


Рис. 1. Уміст незамінних амінокислот у крові щурів, отруєних макродисперсною і наноформою свинцю, та за умов введення Глутаргіну.

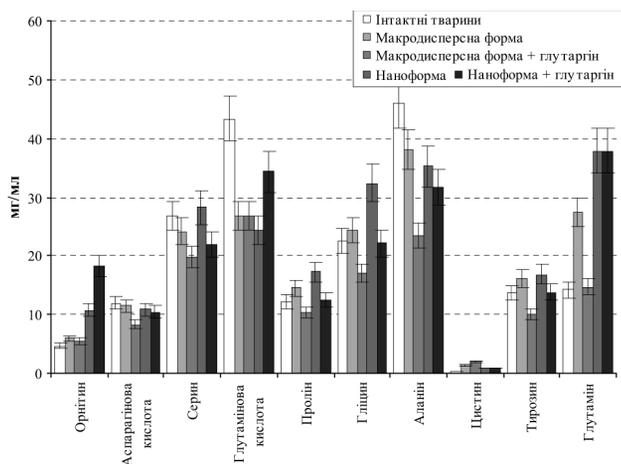


Рис. 2. Уміст замінних амінокислот у крові щурів, отруєних макродисперсною і наноформою свинцю, та за умов введення Глутаргіну.

рюється орнітин [18]. А оскільки аргінін входить до складу Глутаргіну, це можливо й обумовлює підвищення рівня орнітину в крові.

Виявлено, що при введенні Глутаргіну відбувається зниження в 1,6 та 1,4 рази відповідно аланіну та аспарагінової кислоти в крові щурів, отруєних макродисперсною формою свинцю. Зниження вмісту аспарагінової кислоти можливо пов'язане з участю моноамінодикарбонових кислот у процесах знешкодження аміаку та утворення їхніх амідів. Оскільки аміак із кишківника та м'язів виводиться у вигляді аланіну, то виявлені зміни вмісту останнього, можливо, указують на посилене використання цієї амінокислоти за інтоксикації, зокрема, у глюкозо-аланіновому циклі [18].

Відмічено вірогідне зниження вмісту серину на 23,8 та 32,6 %, проліну на 33,4 та 38,9 %, гліцину на 42,5 та 46,6 %, тирозину в 1,6 та 1,3 рази, глутаміну порівняно з отруєними щурами в 1,7 та 1,4 рази при введенні Глутаргіну в групах тварин, отруєних макродисперсною та наноформою свинцю відповідно,

На особливу увагу заслуговують зміни вмісту серину, проліну та тирозину, адже дані амінокислоти здатні відігравати роль депо NO. Останній не лише відповідає за релаксацію судин, але й реагує з супероксиданіонами, молекулами кисню, пероксидом водню, органічними пероксидами та пероксидними радикалами [14]. Тому зниження вмісту вказаних амінокислот може свідчити про стабілізацію окисних процесів в організмі щурів.

Відомо, що глутамін в організмі є резервною та транспортною формою аміаку, і зниження його концентрації в крові, очевидно, є свідченням пригнічення глутамінсинтетичної функції печінки отруєних щурів [19, 20].

Доведено, що основними шляхами використання гліцину при інтоксикації, є його участь у синтезі білків та у вивільненні енергії, тому зниження його рівня, можливо, свідчить про активне включення гліцину в процеси детоксикації [19].

Як видно з результатів дослідження, відбувається підвищення рівня глутамінової кислоти на 33,3 % у крові щурів отруєних наноформою свинцю, що отримували Глутаргін, порівняно з отруєними тваринами. Оскільки глутамінова кислота може включатись у різні процеси обміну, які потребують нітрогену, зокрема, у синтез пуринових і піримідинових основ, необхідних для утворення нуклеїнових кислот, то виявлені зміни її вмісту свідчать про можливе підвищення інтенсивності цих процесів [14].

Також, встановлено збільшення вмісту сірковмісної амінокислоти – цистину на 20,0 % у тварин, отруєних макродисперсною формою свинцю, які отримували препарат Глутаргін, порівняно з отруєними щурами. Доведено, що цистин сприяє синтезу плазматичних білків, знешкоджує токсичні продукти обміну речовин і онкогенні субстанції, бере участь в утворенні таурину та глутаміну [14, 20]. Тому встановлені зміни вмісту цистину в крові отруєних макродисперсною формою свинцю щурів, які отримували препарат Глутаргін, очевидно, пов'язані з посиленням процесів детоксикації, і можуть розглядатись як прояв захисної реакції гепатоцитів на введення важкого металу.

При введенні Глутаргіну щурам, отруєним наноформою свинцю, вірогідних змін вмісту незамінних амінокислот у крові не виявлено, лише відмічалось підвищення рівня лізину порівняно з отруєними тваринами на 29,1 %. Враховуючи той факт, що лізин бере безпосередню участь у процесі синтезу антитіл, виявлені зміни його вмісту можуть свідчити про зниження активності процесів інтоксикації, що, у свою чергу, веде до зниження інтенсивності синтезу антитіл.

Проаналізувавши вплив Глутаргіну на рівень незамінних амінокислот у крові щурів, отруєних макродисперсною формою свинцю, виявлено достовірне зниження вмісту метіоніну порівняно з отруєними щурами в 1,7 разу, ізолейцину – в 1,6 разу, лейцину – в 1,5 разу, лізину – на 34,7 %, гістидину – на 16,7 %, аргініну – на 36,3 %, треоніну – на 42,5 %, валіну – на 33,3 %, фенілаланіну – на 24,9 % у крові (рис. 2). Одержані дані можуть указувати на посилене використання вказаних амінокислот у процесах синтезу білків. Отже, виявлені зміни пулу незамінних амінокислот у крові щурів за інтоксикації свинцем свідчать про повну їхню мобілізацію в адаптивні процеси.

Висновки

1. Моделювання свинцевої інтоксикації викликало різноспрямовані зміни вмісту вільних амінокислот крові щурів: пероральне введення

Література

1. Трахтенберг И. М. Роль свинца и железа, как техногенных химических загрязнителей, в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / И. М. Трахтенберг, И. П. Лубьянова, Е. Л. Апыхтина // *Therapia.* – 2010. – № 7–8 (49). – С. 36–39.

2. Стежка В. А. Науково обґрунтовані принципи і підходи до вторинної медико-біологічної профілактики екологічно обумовленої та професійної патології, пов'язаної з впливом на людину сполук свинцю. Частина I. Шляхи надходження до організму, особливості токсикокінетики і токсикодинаміки свинцю / В. А. Стежка // *Современные проблемы токсикологии.* – 2005. – № 4. – С. 63–69.

3. Быков А. А. Оценка риска загрязнения окружающей среды свинцом для здоровья детей в России / А. А. Быков, Б. А. Ревич // *Медицина труда и пром. эколог.* – 2001. – № 5. – С. 6–10.

4. Свинец и его действие на организм / А. И. Корбакова, Н. С. Соркина, Н. Н. Молодкина [и др.] // *Медицина труда и пром. эколог.* – 2001. – № 5. – С. 29–34.

5. Ткаченко Т. А. Біохімічні показники крові вагітних щурів за умов отруєння ацетатом свинцю / Т. А. Тка-

ченко, Н. М. Мельникова // *Современные проблемы токсикологии.* – 2008. – № 2. – С. 25–27.

6. Delfino R. J. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particles mass and cardiovascular health / R. J. Delfino, C. Sioutas, S. Malik // *Environ. Health Perspect.* – 2005. – V. 113, № 8. – P. 934–946.

7. Shulz H. Fine particulate matter – a health hazard for lungs and other organs? / H. Schulz // *Pneumologie.* – 2006. – V. 60, № 10. – P. 611 – 615.

8. Cheng Y. H. Measurements of ultrafine particle concentrations and size distribution in an iron foundry / Y. H. Cheng // *J. Hazard Mater.* – 2008. – V. 158, № 1. – P. 124–130.

9. Демецька О. В. Проблема безпеки при використанні нанотехнологій / О. В. Демецька // *Довкілля і здоров'я.* – 2010. – № 4. – С. 8–12.

10. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв [та ін.] // *Довкілля та здоров'я.* – 2009. – № 1 – С. 3–7.

11. Андрусишина И. Н. Наночастицы металлов: Способы получения, физико-химические свойства, методы исследования и оценка токсичности / И. Н. Андрусишина // *Современные проблемы токсикологии.* – 2010. – № 3. – С. 5–14.

2. Застосування препарату Глутаргін за умов свинцевої інтоксикації сприяло зменшенню проявів токсичних ефектів свинцю відносно вмісту вільних амінокислот у крові щурів. Відмічалось вірогідне зниження вмісту серину, проліну, гліцину, тирозину, глутаміну в крові щурів, отруєних різними дисперсними формами свинцю. Введення Глутаргіну щурам, отруєним наночастинками свинцю, призводить до підвищення рівня орнітину, глутамінової кислоти та лізину. При отруєнні макродисперсною формою свинцю, попереднє введення Глутаргіну викликало зниження концентрації аланіну, аспарагінової кислоти, метіоніну, ізолейцину, лейцину, лізину, гістидину, аргініну, треоніну, валіну, фенілаланіну та збільшення – цистину в крові.

ченко, Н. М. Мельникова // *Современные проблемы токсикологии.* – 2008. – № 2. – С. 25–27.

6. Delfino R. J. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particles mass and cardiovascular health / R. J. Delfino, C. Sioutas, S. Malik // *Environ. Health Perspect.* – 2005. – V. 113, № 8. – P. 934–946.

7. Shulz H. Fine particulate matter – a health hazard for lungs and other organs? / H. Schulz // *Pneumologie.* – 2006. – V. 60, № 10. – P. 611 – 615.

8. Cheng Y. H. Measurements of ultrafine particle concentrations and size distribution in an iron foundry / Y. H. Cheng // *J. Hazard Mater.* – 2008. – V. 158, № 1. – P. 124–130.

9. Демецька О. В. Проблема безпеки при використанні нанотехнологій / О. В. Демецька // *Довкілля і здоров'я.* – 2010. – № 4. – С. 8–12.

10. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв [та ін.] // *Довкілля та здоров'я.* – 2009. – № 1 – С. 3–7.

11. Андрусишина И. Н. Наночастицы металлов: Способы получения, физико-химические свойства, методы исследования и оценка токсичности / И. Н. Андрусишина // *Современные проблемы токсикологии.* – 2010. – № 3. – С. 5–14.

12. Павловская Н. А. Клинико-лабораторные аспекты раннего выявления свинцовой интоксикации / Н. А. Павловская, Н. И. Данилова // Мед. труда и пром. экология.– 2001.– № 5.– С. 18–22.

13. Швець В. І. Зміни тканинного протеолізу при інтоксикації білих щурів малими дозами важких металів / В. І. Швець, В. Л. Кісілюк, І. Д. Шкробанець // Клінічна та експериментальна патологія.– 2009.– Т. VIII, № 4 (30).– С. 87–89.

14. Шепельова І. А. Амінокислотний склад крові та показники азотого обміну у щурів, отруєних кадмію сульфатом / І. А. Шепельова, Є. А. Деркач, Н. М. Мельникова // Современные проблемы токсикологии.– 2006.– № 4.– С. 35–37.

15. Криницька І. Я. Зміни показників протеїназо-інгібіторної системи у щурів за умови гострого алкогольного отруєння на тлі хронічної інтоксикації солями кадмію та свинцю / І. Я. Криницька // Здобутки клінічної і експериментальної медицини.– 2006.– № 1.– С. 71–74.

16. Дмитруха Н. М. Вплив Кверцетину та Глутаргину на показники периферичної крові і неспецифічної резистентності організму щурів за умови кадмієвої

інтоксикації / Н. М. Дмитруха // Укр. журн. з пробл. медицини праці.– 2009.– № 4.– С. 85–91.

17. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников.– 3-е изд.– М.: МЕДпресс-информ, 2009.– 896 с.: ил.

18. Изучение состава свободных аминокислот крови здоровых и больных анемией людей / Е. Д. Жабицкая, Н. И. Штеменко, А. А. Пупченко, О. А. Сорочан // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія.– 2002.– Т. 2, № 10.– С. 146–150.

19. Динаміка вмісту вільних амінокислот у тканинах коропа за дії іонів важких металів / В. З. Курант, Ю. В. Синюк, Р. Б. Балабан, В. В. Грубінко // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: біологія.– 2002.– № 1 (16).– С. 105–111.

20. Артемова О. В. Характеристика пула свободных аминокислот плазмы крови крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации / О. В. Артемова, В. В. Лелевич // Актуальные вопросы молекулярной эволюции и биохимии: Материалы Республиканской конференции, посвященной 75-летию со дня основания кафедры общей химии БГМУ.– Минск, 2006.– С. 16–18.

Лазаренко І. А., Деркач Е. А., Мельникова Н. Н.

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАРГИНА НА ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ КРОВИ КРЫС ПРИ ОТРАВЛЕНИИ РАЗНЫМИ ДИСПЕРСНЫМИ ФОРМАМИ СВИНЦА

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев

Изучено исследование влияния препарата Глутаргин на содержание свободных аминокислот в крови крыс при свинцовой интоксикации, которую моделировали пероральным введением свинца ацетата в дозе 70 мг / кг массы тела животного (макродисперсная форма) и наночастиц свинца (наноформа) в аналогичной дозе. Глутаргин подопытным крысам вводили *per os* с первого дня экспозиции из расчета 100 мг / кг массы тела. Интактным животным в течение эксперимента перорально вводили 0,9 % NaCl. Показано, что введение Глутаргина при свинцовой интоксикации уменьшало токсическое воздействие свинца относительно изменения концентрации аминокислот, что способствовало нормализации синтеза белка в пораженных органах и тканях.

Ключевые слова: макродисперсная форма свинца, наноформа свинца, Глутаргин, свободные аминокислоты, кровь

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

EFFECT OF GLUTARGIN ON THE POOL OF FREE AMINOACIDS IN THE RAT BLOOD, POISONED BY DIFFERENT LEAD DISPERSED FORMS

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

The purpose was to investigate the influence of the preparation Glutargin on the content of free amino acids in the blood of rats with lead intoxication, simulated by oral administration of lead acetate at the dose of 70 mg / kg body animal weight (macrodispersed form) and lead nanoparticles (nanofoms) in the similar dose. Glutargin was administered to rats orally from the first day of the exposure in the dose of 100 mg / kg body weight. Intact animals received 0,9 % NaCl orally. It was found that the introduction of Glutargin with lead intoxication reduced the toxic effect of lead on the pool of amino acids, which contributed to normalization of protein synthesis in the affected organs and tissues.

Key words: macrodispersed form of lead, lead nanofom, Glutargin, free amino acids, blood

Надійшла: 06.04.2012 р.

Контактна особа: Лазаренко І. А., Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв оборони, 15, м. Київ, 03041. Тел. : (98) 440-52-49. E-mail: ilazarenko2009@yandex.ru