

**ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН
РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ХІМІЧНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ**

Я.И. Гонский, Е.Б. Дмухальская, М.Н. Михалкив, Р.М. Кубант

Тернопольская государственная медицинская академия им. И.Я. Горбачевского

**ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЖИВОТНЫХ
РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ХИМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ**

Исследовалось влияние совместного действия хлорида кадмия и солянокислого гидразина на показатели эндогенной интоксикации у животных 3-, 6- и 18-месячного возраста. Установлены возрастные особенности состояния эндогенной интоксикации в интактных животных и при совместном действии ксенобиотиков в разные сроки эксперимента.

Ключевые слова: интоксикация кадмием, химическое поражение печени, эндогенная интоксикация, возраст.

Ya.I. Honsky, E.B. Dmukhalska, M.M. Mihalkiv, R.M. Kubant

Ternopil State Medical Academy by Horbachevsky

**THE CHANGES OF ENDOGENOUS INTOXICATION INDEXES IN ANIMALS
OF DIFFERENT AGE WITH CHEMICAL LESION OF THE LIVER**

The effects of combine action of cadmium chloride and hydrochloride hydrazine on the endogenous intoxication indexes in rats aged 3-, 6- and 18- months have been studied. The age peculiarities of endogenous intoxication indexes in animals under the combined use of xenobiotics in different periods of the experiment have been revealed.

Key words: cadmium intoxication, chemical hepatic lesions, endogenous intoxication, age.

Унаслідок порушення екологічного балансу та забруднення навколишнього середовища значного поширення набувають захворювання, що викликаються дією сторонніх для організму хімічних сполук – ксенобіотиків (Гайдамака, Литвинов, 1998). До чинників, які підвищують кількість шкідливих речовин у довкіллі, належать промислові підприємства та транспорт. Основне джерело забруднення навколишнього середовища кадмієм є викиди теплоенергетичних підприємств, заводів з переробки відходів чорної та кольорової металургії. Велика його кількість є у тютюновому димі і продуктах харчування (Михалева, 1988).

Кадмій, один із найтоксичніших елементів, потрапляючи до організму людини, практично не виводиться, а накопичується в різних органах. В обстежених новонароджених дітей кадмію не виявлено, а вже у крові десятимісячних немовлят знайдена незначна його кількість (Михалева, 1988; Casalino, Sblano, Landriscina, 1997; Cadmium-mediated..., 1991). В організмі кадмій зв'язується з білками крові і переноситься до органів, де поступово осідає в їх тканинах, перш за все у печінці та нирках. При введенні тваринам кадмію зростає пероксидне окиснення ліпідів, що сприяє підвищенню ендогенної інтоксикації та посиленню деструктивних процесів, у результаті яких в організмі утворюється велика кількість проміжних та кінцевих продуктів обміну речовин. Утворені метаболіти проявляють токсичну дію і порушують функціонування найважливіших систем організму (Бех, 1993; Вальдман, 1991; Casalino, Sblano, Landriscina, 1997).

Гідразин та його похідні є не менш токсичні сполуки, при отруєнні якими вражаються легені, печінка, нирки. Продуктами метаболізму похідних гідразину є високоактивні сполуки, зокрема супероксидрадикали, які посилюють лізис мембранних ліпопротеїнів, збільшують кількість і активність фосфатаз, що призводить до пригнічення синтезу білків, АТФ, порушення структури мононуклеотидів (Авакян, 1990; Гайдамака, Литвинов, 1998). Аналізуючи літературні джерела, ми не зустріли повідомлень про вивчення поєданої дії хлориду кадмію і солянокислого гідразину на стан показників ендогенної інтоксикації (ЕІ). Тому визначили для себе завданням вивчити динаміку змін показників ЕІ, оскільки в процесі життєдіяльності людина нерідко зазнає одночасного впливу декількох чинників. До того ж у різні періоди життя відповідь організму на дію ксенобіотиків неоднакова.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах – самцях 3-, 6- та 18-місячного віку, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Інтоксикацію створювали шляхом триразового внутрішньошлункового введення тваринам хлориду кадмію в дозі 3,5 мг/кг маси

© Гонський Я.І., Дмухальська С.Б., Михалків М.М., Кубант Р.М., 2002

тіла з інтервалом в одну добу. Розчин солянокислого гідразину вводили на восьму добу після першого ураження хлоридом кадмію, одноразово внутрішньочеревинно із розрахунку 90 мг/кг маси тіла тварини. Тварин розділили на дві групи: інтактні та уражені. Декапітацію під ефірним наркозом проводили на 1-шу, 4-ту, 7-му та 10-ту добу після введення гідразину. Об'єктом дослідження були сироватка крові, гомогенат печінки. Вміст середніх молекул (СМ) визначали на спектрофотометрі за максимумів поглинання 254 нм (СМ₁) і 280 нм (СМ₂) (Роль..., 1986); еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) – за методом А.А. Тогарбаєва (Способ диагностики..., 1988); активність лужної фосфатази – методом Бессея, Лоурі, Брока і активність кислої фосфатази – методом Боданського (Горячковский, 1994). Усі експериментальні дані обробляли статистичними методами, різницю середніх визначали за критерієм Стьюдента.

Результати досліджень показали, що з віком у крові та печінці інтактних тварин вміст молекул середньої маси збільшується, а активність кислої та лужної фосфатаз і еритроцитарний індекс інтоксикації зменшуються. Це можна пояснити віковими особливостями метаболізму, в результаті якого з віком збільшується кількість вільнорадикальних форм в організмі, посилюється пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), лізис мембранних компонентів.

Після введення тваринам хлориду кадмію та солянокислого гідразину досліджувані показники як у крові, так і в гомогенаті печінки зазнавали істотних змін порівняно з інтактними. Уже на першу добу експерименту зростала активність кислої і лужної фосфатаз у всіх вікових групах тварин. Максимальна активність цих ферментів спостерігалася на 4-ту і 7-му добу після введення солянокислого гідразину. Так, у крові 6- і 18-місячних щурів висока активність кислої фосфатази на 7-му добу експерименту становила відповідно 293 і 310 % (табл. 1) відносно інтактних, у 3-місячних тварин на 4-ту добу досліджень вона була у 4,8 рази вища. У гомогенаті печінки даний показник найвищий на 4-ту добу експерименту у всіх вікових групах і для 3-, 6-, 18-місячних тварин відповідно становив 251, 189, 223 % (табл. 2).

Таблиця 1

Показники ендогенної інтоксикації у крові щурів різного віку, уражених хлоридом кадмію та солянокислим гідрaziном (M ± m; n = 6)

| Вік, міс. | Показник | Група щурів | | | | |
|-----------|---------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Інтактні | Уражені | | | |
| | | | 1-ша доба | 4-та доба | 7-ма доба | 10-та доба |
| 3 | СМ ₁ , ум. од. | 0,217±0,016 | 0,382±0,012* | 0,409±0,013* | 0,366±0,024* | 0,307±0,025* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,033±0,007 | 0,073±0,011* | 0,090±0,007* | 0,065±0,007* | 0,058±0,006* |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 8,5±0,9 | 30,9±1,8* | 40,9±1,4* | 27,7±1,2* | 16,8±1,7* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 10,2±0,7 | 21,3±1,5* | 30,9±1,2* | 19,4±1,1* | 14,2±1,0* |
| | ЕІІ, % | 32,6±1,4 | 52,1±1,1* | 65,8±2,1* | 52,4±1,6* | 42,5±2,9* |
| 6 | СМ ₁ , ум. од. | 0,253±0,008 | 0,361±0,014* | 0,405±0,016* | 0,332±0,013* | 0,319±0,011* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,040±0,005 | 0,063±0,008 | 0,080±0,007* | 0,068±0,01 | 0,057±0,007 |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 10,7±0,8 | 15,2±1,4* | 22,0±1,9* | 31,4±1,8* | 18,7±2,4* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 9,8±0,7 | 17,9±0,8* | 23,9±1,3* | 17,3±2,1* | 12,1±1,0 |
| | ЕІІ, % | 43,1±2,3 | 58,8±2,4* | 73,5±1,3* | 62,1±2,6* | 54,0±1,9* |
| 18 | СМ ₁ , ум. од. | 0,284±0,020 | 0,402±0,009* | 0,518±0,019* | 0,483±0,014* | 0,431±0,012* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,055±0,008 | 0,103±0,012* | 0,129±0,019* | 0,121±0,010* | 0,102±0,009* |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 5,2±0,8 | 9,1±1,1* | 12,1±1,4* | 16,1±1,5* | 12,0±1,9* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 7,4±0,8 | 13,9±1,1* | 19,8±1,3* | 14,3±1,7* | 11,5±1,6* |
| | ЕІІ, % | 51,9±3,4 | 66,0±1,9* | 98,2±1,1* | 86,8±2,8* | 81,5±2,2* |

Примітка. * – Достовірні зміни відносно інтактних тварин (p<0,05), активність кислої фосфатази виражається в нмоль / г білка за годину, лужної фосфатази – в нмоль / г білка за с.

Щодо змін лужної фосфатази, то як видно з даних табл. 1 і 2, її активність найбільша на 4-ту добу експерименту як у крові, так і в гомогенаті печінки у тварин усіх вікових груп. Особливо висока активність ферменту спостерігалася у молодих (3-місячних) щурів. Так, на 4-ту добу у крові 3-, 6-, 18-місячних тварин її активність зросла в 3,0; 2,4; 2,7 рази відповідно, а в гомогенаті печінки – у 3,0, 2,4, 2,9 рази відносно рівня інтактних тварин. Активність лужної фосфатази зменшувалася на 7-му і 10-ту добу експерименту, але не досягала значень рівня інтактних тварин. Високу активність цих ензимів у тварин усіх вікових груп протягом усього експерименту можна пояснити тим, що за патологічних станів відбуваються зміни структури і функцій мембран клітин і органел (Авакян, 1990; Гайдамака, Литвинов, 1998). Метаболіти досліджуваних ксенобіотиків – це високоактивні сполуки, які викликають гідроліз ліпопротеїнів, чим підвищують проникність плазматичних і лізосомальних мембран та призводять до виходу лужної та кислої фосфатаз у кров.

Таблиця 2

Динаміка показників ендogenous інтоксикації в гомогенаті печінки щурів різного віку, уражених хлоридом кадмію та солянокислим гідразинном ($M \pm m$; $n = 6$)

| Вік, міс. | Показник | Група щурів | | | | |
|-----------|---------------------------|-------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Інтактні | Уражені, доба експерименту | | | |
| | | | 1-ша | 4-та | 7-ма | 10-та |
| 3 | СМ ₁ , ум. од. | 0,231±0,012 | 0,426±0,019* | 0,502±0,017* | 0,408±0,018* | 0,374±0,021* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,044±0,006 | 0,079±0,010* | 0,093±0,009* | 0,085±0,009* | 0,079±0,009* |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 18,6±1,2 | 26,2±1,7* | 46,6±2,4* | 29,8±1,7* | 24,9±2,3* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 6,7±0,8 | 10,3±0,9* | 20,0±1,1* | 10,1±0,7* | 9,1±0,9* |
| 6 | СМ ₁ , ум. од. | 0,318±0,011 | 0,425±0,017* | 0,474±0,011* | 0,418±0,012* | 0,384±0,010* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,045±0,007 | 0,074±0,011 | 0,086±0,005* | 0,074±0,005* | 0,065±0,005 |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 11,5±0,8 | 12,8±1,1* | 21,6±1,3* | 15,9±1,4* | 14,4±1,0* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 4,7±0,9 | 5,8±0,7* | 11,3±1,0* | 8,8±0,7* | 6,2±0,7 |
| 18 | СМ ₁ , ум. од. | 0,337±0,013 | 0,492±0,011* | 0,598±0,018* | 0,580±0,012* | 0,553±0,010* |
| | СМ ₂ , ум. од. | 0,066±0,007 | 0,111±0,011* | 0,146±0,010* | 0,123±0,008* | 0,120±0,007* |
| | КФ, нмоль/(г · год) | 11,1±0,8 | 20,8±1,2* | 24,7±1,2* | 20,1±1,1* | 16,0±1,3* |
| | ЛФ, нмоль/(г · с) | 4,1±0,6 | 8,7±0,9* | 11,8±1,2* | 7,7±0,9* | 6,2±0,8* |

Примітка. * – Достовірні зміни відносно інтактних тварин ($p < 0,05$), активність кислої фосфатази виражається в нмоль / г білка за годину, лужної фосфатази – в нмоль / г білка за с.

Для вивчення ступеня інтоксикації використовують також еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ). Даний показник в отруєних хлоридом кадмію і гідразинном тварин зростає вже на 1-шу добу в усіх вікових групах, а на 4-ту добу досліду зазнає максимальних змін. Так у щурів 3-, 6- і 18-місячного віку на 1-шу добу він зріс в 1,6; 1,4; 1,3 рази відповідно, а на 4-ту добу становив 202, 171, 189 % відносно уражених тварин (табл.1). Ці зміни, очевидно, викликані тим, що під впливом дії хлориду кадмію та гідразину на організм порушується енергетичний обмін і транспорт речовин в еритроцитах, зростає проникність їх мембран та сорбційна здатність (Бех, 1993).

Під впливом хлориду кадмію та гідразину зростає вміст найбільш токсичних ендogenous компонентів СМ як у крові, так і в печінці вже на 1-шу добу досліджень. Максимальний вміст СМ₁ і СМ₂ спостерігався на 4-ту добу у крові і гомогенаті печінки і був у крові 3-, 6- і 18-місячних щурів СМ₁ – 188, 160, 182 %, СМ₂ – 273, 200, 230 % від рівня контролю (інтактні тварини); у гомогенатах зростає кількість СМ₁ в 2,2, 1,4, 1,8 рази, а СМ₂ – в 2,1, 1,9, 2,2 рази відповідно. На 7-му і 10-ту доби експерименту вміст СМ зменшився як у крові, так і в печінці у тварин усіх вікових груп, хоча рівня інтактних не досяг. Ріст СМ вказує на посилення катаболічних процесів в організмі тварин після введення даних токсинів. Підвищення вмісту СМ₁ (до складу яких входять олігопептиди, фрагменти

нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, тригліцеридів, холестерину) свідчить про порушення структури мембран гепатоцитів, а SM_2 (до складу яких входять пуринові основи, сечова кислота, та ароматичні амінокислоти) - про пригнічення функцій печінки. Максимальне значення SM і EP на 4-ту добу експерименту вказує на пік розвитку ендогенної інтоксикації під впливом хлориду кадмію та солянокислого гідразину.

Як видно з рис. 1, фракції SM мають однаковий склад: на кривих оптичних спектрів фракцій молекул SM максимум екстинкції характерний для 3-12 фракцій. При ураженні

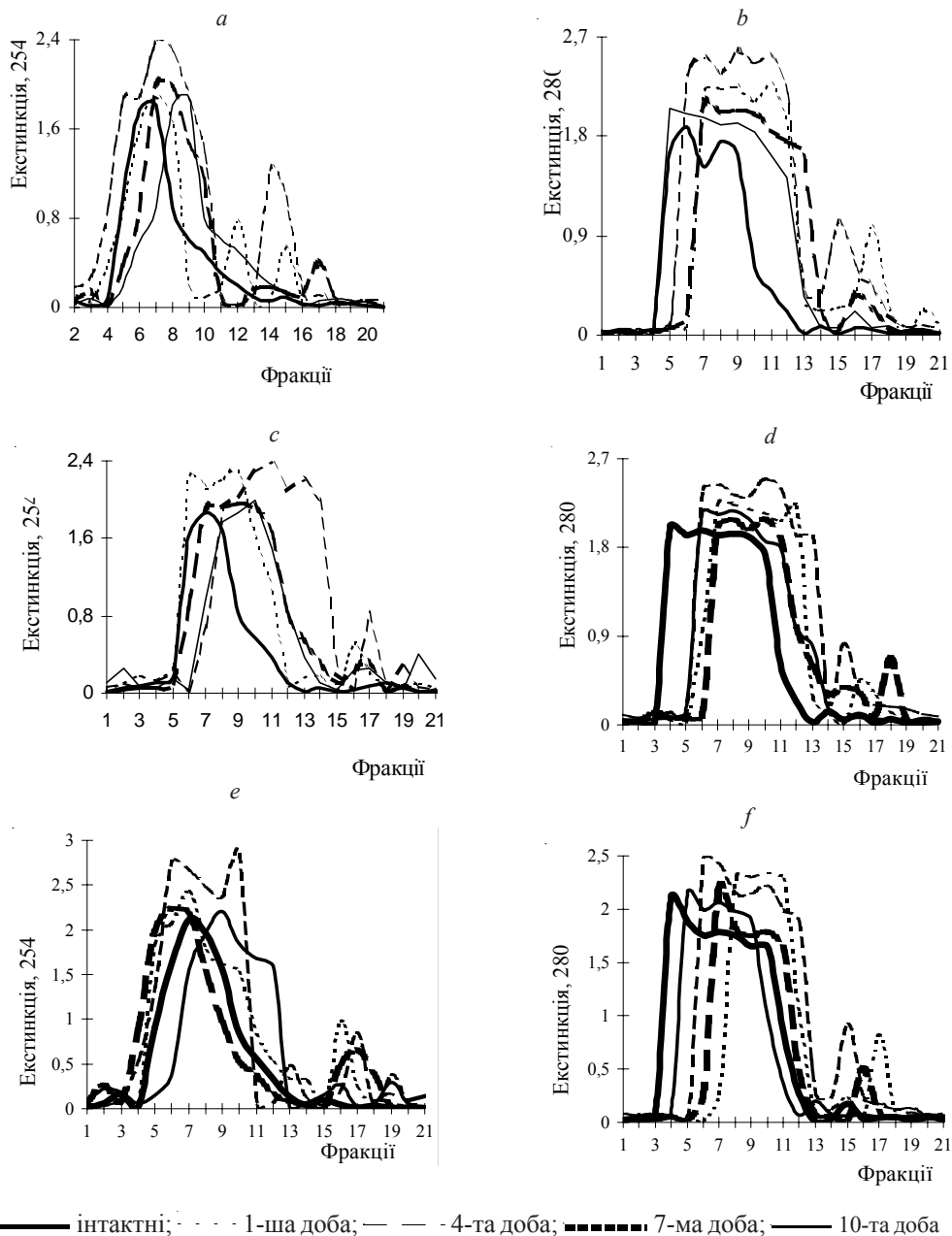


Рис.1 Криві оптичних спектрів фракцій SM сироватки крові інтактних і уражених хлоридом кадмію та солянокислим гідразином: а) 3-міс. тварин при 254 нм; б) 3-міс. тварин при 280 нм; в) 6-міс. тварин при 254 нм; д) 6-міс. тварин при 280 нм; е) 18-міс. тварин при 254 нм; ф) 18-міс. тварин при 280 нм

значно підвищувався вміст низькомолекулярних сполук на 1-шу і 4-му добу експерименту, про що свідчить поява на кривих другого і третього максимумів для 12-14 і 16-18 фракцій СМ плазми крові. Так, на довжині хвилі 254 нм в оптичному спектрі фракцій СМ плазми крові на 1-шу добу експерименту 3- і 18-місячних тварин, а на 4-ту добу в 6-місячних щурів відмічено три максимуми. У спектрі фракцій СМ плазми крові на 4-ту і 7-му доби досліджень в 3- і 18-місячних тварин, а в 6-місячних щурів на 1-шу і 7-му добу спостерігали лише два максимуми – як при 254 нм, так і при 280 нм. На 10-ту добу досліджень концентрація низькомолекулярних сполук зменшувалася, в оптичному спектрі відсутній максимум для 12-18 фракцій. Підвищений вміст певних фракцій СМ при ураженні вказує не лише на ступінь інтоксикації, але, мабуть, і на утворення захисних компонентів, які відсутні у фракціях здорових тварин (Гомазков, 1995), а також на 10-ту добу в уражених щурів.

Висновки

1. З віком у здорових тварин активність кислої та лужної фосфатаз і ЕП зменшуються, а вміст СМ зростає.

2. У тварин, уражених хлоридом кадмію і солянокислим гідразинном, активність кислої і лужної фосфатаз, вміст молекул середньої маси та індекс ендогенної інтоксикації зростали, що пов'язано із порушенням функцій і структури клітинних мембран та виникненням синдрому інтоксикації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Авакян А.Х. Новые молекулярные критерии оценки токсического действия производных гидразина. Активные формы кислорода как ключевые агенты в механизме токсичности // Фармакология и токсикология. – 1990. – 53, № 1. – С. 70-73.

Бех М.Д. Метод визначення ендогенної токсикоемії // Актуальні питання Всеукр. симпозиуму хірургів. – Тернопіль, 1993. – С.79-80.

Вальдман Б. М., Волчегорский И. А., Лужевский А.С. Среднемолекулярные пептиды крови как эндогенные регуляторы перекисного окисления липидов в норме и при термических ожогах // Вопр. медицин. химии. – 1991. – Т. 37, вып. 1. – С. 23-26.

Гайдамака О.В., Литвинов О.В. Гепатопротекторні препарати: сучасний стан і перспектива їх створення // Фармацевт. журн. – 1998. – № 6. – С. 42-46.

Гомазков О.А. Физиологически активные пептиды: Справочное руководство.– М., 1995. – 143 с.

Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – О., 1994. – 415 с.

Михалева М.М. Кадмийзависимая патология человека // Архив патологии. – 1988. – № 9. – С. 81-85.

Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах / Р.И. Левшиц, Б.М. Вальдман, И.А. Волчегорский, А.С. Лужевский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1986. – Т. 101, № 3. – С. 280-282.

Способ диагностики эндогенной интоксикации. / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, Р.М. Рикун, Р.М. Кривжанова // Лаб. дело. – 1988.– Т. 4, № 9 – С. 22-24.

Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism: a novel example for the development of adaptive response against a toxicant / S. Gupta, M. Athar, J.R. Behari, R.C. Srivastava // Ind Health. – 1991.– 29, № 1. – P. 1-9.

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. – 346, № 2. – P. 171-179.

Надійшла до редколегії 27.01.01