

УДК 615.916:577.122

ЗАЛЕЖНІСТЬ ВИЖИВАНОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПРИ ДІЇ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ВІД ПОПЕРЕДНЬОЇ ІНДУКЦІЇ МЕТАЛОТІОНЕЇНУ

Пихтєєва О.Г., Потапов Є.А., Большой Д.В.

Український НДІ медицини транспорту, Одеса, pyhiteeva@rambler.ru

Вивчена залежність виживаності лабораторних тварин в умовах дії сублетальних і летальних доз хлоридів кадмію та ртуті після попередньої індукції синтезу металотіонеїну введенням хлориду цинку в дозі 5 мг/кг. Проведенні дослідження показали високу ефективність індукції МТ, яка здатна суттєво підвищити виживаність тварин при дії високих доз ВМ.

Ключові слова: важкі метали, металотіонеїн, виживаність при дії сублетальних доз

Не тільки в міжорганному і внутрішньоклітинному транспорті важких металів, а й у механізмах реалізації їх токсичної дії, істотна роль належить металотіонеїну (МТ) – низькомолекулярному транспортному білку, основна фізіологічна роль якого полягає в забезпеченні біодоступності цинку. Наряду з цим МТ виконує в організмі ще цілу низку важливих функцій, серед яких детоксикаційна, антиоксидантна, регуляторна, сигнальна тощо.

Особливості захисної ролі попередньої індукції синтезу МТ у розвитку патологічних процесів, що відбуваються за участю металів, найбільш чітко простежуються на прикладі сполук кадмію та ртуті. Саме ці метали проявляють найбільш високу афінність до вільних SH-груп МТ, а також спостерігається взаємозв'язок з рівнем синтезу цього білку в процесах клітинного транспорту, проявах токсичності і механізмах детоксикації.

Одним з інтегральних показників токсичності речовин, які найбільш широко застосовуються в токсикології, є ЛД₅₀ - середня доза речовини, що викликає загибель половини членів випробуваної групи. При визначенні ЛД₅₀ досліджуваний об'єкт повинен знаходитися в типовому стані, в нормальних умовах, без прийому будь-яких антидотів та інших спеціальних

заходів обережності. У той же час зростання ЛД₅₀ при превентивному проведенні будь-яких процедур або введенні відповідних речовин перед введенням токсиканту відображає ступінь їх ефективності в захисті організму при дії сублетальних та летальних доз.

Раніше такі дослідження не проводились.

Матеріали та методи

Лабораторних тварин отримували з віварію Одеського національного медичного університету, який обладнаний відповідно до існуючих санітарно-гігієнічних норм. Усіх дослідних тварин утримували в стандартних санітарних умовах при $t = 20-24$ °С, вологості 60–75 %, природному світловому режимі «день-ніч», на збалансованому харчовому раціоні відповідно до діючих норм. Усі дослідження проводили з дотриманням правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей». Аналіз даних виконували методом варіаційної статистики з використанням t -критерію Ст'юдента та U -критерію Манна-Уїтні. Результати вважали дійсними при $p < 0,05$.

Дослідження проведені на статевозрілих безпородних щурах з вихідною масою 180-200 г. Тварин утримували в стан-

дартних умовах віварію з вільним доступом до їжі та води, що попередньо досліджувались на вміст ВМ. В жодному випадку вміст Zn, Cu, Hg, Cd не виходив за межі допустимих значень у харчових продуктах згідно МБТ [1] та ДСанПіН 2.2.4-171-10 "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною" [2]).

При проведенні експерименту для дослідження впливу попередньої індукції МТ на виживаність білих нелінійних лабораторних щурів при дії сублетальних та летальних доз ВМ піддослідні тварини були розподілені на 2 групи. Тваринам дослідної групи одноразово внутрішньочеревно (в/о) вводили розчин $ZnCl_2$ в дозі 5 мг/кг. Як було показано нами в попередніх дослідках, така доза є діючою та викликає синтез МТ в печінці, нирках та, в меншій мірі, в інших органах. Дійсно, концентрація МТ в печінці контрольних щурів складала $6,3 \pm 0,8$ нмоль/г, а через 3 доби після введення $ZnCl_2$ зростала до $34,9 \pm 6,1$ нмоль/г.

Результати та їх обговорення

Тварини дослідної і контрольної груп

були розподілені на підгрупи по 5 тварин, яким вводили різні дози хлоридів кадмію та ртуті. Дослід проводили через 3 доби після введення $ZnCl_2$.

Результати визначення токсикометричних показників при розрахунку методом пробіт-аналізу наведені в табл. 2.

Таким чином, дослід показав достовірне зростання LD_{50} , при превентивному введенні солі цинку. З даних табл. 2 можна побачити, що попередня індукція МТ більш ефективна в захисті від дії сполук кадмію. Доза, необхідна для загибелі 50% тварин при дії сполук кадмію, зростає в 3,2 рази після превентивного введення цинку, і тільки вдвічі – при дії сполук ртуті. Крім того, аналіз даних табл. 2 показує, що максимальне відношення між показниками контрольною і дослідної групи спостерігаються при дії відносно низьких доз ВМ. Так LD_{16} для хлориду кадмію після попередньої індукції МТ складає 350,25 % від контролю, а для LD_{100} - 314,86%. Для хлориду ртуті ця закономірність менш виражена. Ріст виживаності тварин при дії сублетальних доз після введення цинку, по крайній мірі ча-

стково, може бути пояснений підвищеною концентрацією МТ в дослідній групі та утворенням Cd^{2+} та Hg^{2+} з цим білком міцних комплексів, які знижують прояви гострої токсичної дії сполук цих ВМ.

Крім того, у підвищенні стійкості тварин до дії ВМ свою роль, можливо, грають мембранні білки-транспортери цинку. Відомо, що в біологічних системах цинк існує у вигляді зв'язаного з білками катіона Zn^{2+} , який не може долати ліпідний бішар шля-

Загибель тварин при в/о введенні хлоридів кадмію та ртуті в різних дозах

Доза, мг/кг	Число особин у групі	Інтактні		Після індукції МТ	
		Смертність, $CdCl_2$	Смертність, $HgCl_2$	Смертність, $CdCl_2$	Смертність, $HgCl_2$
0,5	5	0	0	0	0
1	5	1	1	0	0
2	5	3	1	0	1
3	5	4	3	1	1
5	5	5	4	2	2
7	5	-	5	3	3
10	5	-	-	5	5

Залежність виживаності щурів при внутрішньочеревному введенні $CdCl_2$ та $HgCl_2$ від попередньої індукції МТ шляхом в/о введення $ZnCl_2$

Група	Показник	ЛД, мг/кг (в перерахунку на безводну сіль)	
		$CdCl_2$	$HgCl_2$
Контроль	LD_{16}	0,670	0,888
	LD_{50}	1,887	3,035
	LD_{64}	3,073	5,183
	LD_{100}	3,667	6,2563
Попереднє введення Zn^{2+}	LD_{16}	2,3467	1,769
	LD_{50}	6,026	6,040
	LD_{64}	9,706	10,312
	LD_{100}	11,546	12,447

хом дифузії [3], тому для перенесення його в клітку та між клітинними компартментами існують спеціальні транспортери, кількість яких залежить від потреби конкретної клітини в цинку і регулюється на стадії транскрипції при участі металозалежних факторів транскрипції. Складність і важливість підтримки гомеостазу цинку знаходить своє відображення у великій кількості білків, які залучені в транспорт і буферизацію Zn^{2+} . Серед них, крім різних ізоформ металотіонеїну, який реалізує міжклітинний та внутріклітинний транспорт, відомі принаймні десять членів сімейства ZnT (Zn^{2+} -транспортер) [4] та 15 членів сімейства ZIP [5], які реалізують перенос крізь мембрану цинку та інших металів (Cd, Hg), які здатні до так званої «мімікрії важкого металу» [6, 7].

Саме тому серед інших причин росту стійкості тварин до впливу металітоксикантів можна припустити дію механізмів регуляції всмоктування кадмію та ртуті при використанні спільних з цинком транспортних шляхів за рахунок зниженої (після потраплення підвищеної дози цинку) концентрації спеціальних транспортерів цинку, які містяться на клітинній мембрані.

По-третє, оскільки конкурентні взаємовідносини між есенціальними та токсичними важкими металами є одним із загальноприйнятих механізмів токсичної дії [8], підвищена кількість цинку знижує цю складову за рахунок підвищення відношення концентрацій C_{EM}/C_{TBM} у порівнянні з таким відношенням при базальному вмісті цинку в організмі.

Висновок

Проведенні дослідження показали високу ефективність індукції МТ при в/о введенні сполук цинку в дозі 5 мг/кг, яка здатна суттєво підвищити виживаність тварин при дії високих доз ВМ.

Література

1. Збірник важливих офіційних матеріалів з санітарних і протиепідемічних питань. Видання офіційне. Під загальною редакцією Головного державно-

го санітарного лікаря України В.Ф.Марієвського. У шести томах. Том 1. Частина 2. Медико-біологічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною” .

2. ДсанПіН 2.2.4-171-10 “Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною” .
3. Berg J M, *et al.* (2022) *Biochemistry* (7th edition) New York: WH Freeman , 1100 P.
4. Liuzzi J.P. Mammalian zinc transporters / J.P. Liuzzi, R.J. Cousins // *Annu Rev Nutr.* -2004. - Vol. 2 – P. 151-172.
5. Eide D. J. The SLC39 family of metal ion transporters./ D. J. Eide ./ *Pflugers Arch.* – 2004. - Vol. 447(5) –P. 796-800.
6. Ballatori N. Transport of toxic metals by molecular mimicry / N. Ballatori // *Envir. Health Perspect.* - 2002. – Vol. 110., Suppl. 5. – P. 689-694.
7. Bridges C.C. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals / C. C. Bridges, R. K. Zalups // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2005. – Vol. 204, Iss. 3. – P. 274-308.

Резюме

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ОТ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ИНДУКЦИИ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ СОЕДИНЕНИЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

*Пыхтеева Е.Г., Потапов Е.А.,
Большой Д.В.*

Изучена зависимость выживаемости лабораторных животных в условиях действия сублетальных и летальных доз хлоридов кадмия и ртути после предварительной индукции синтеза металлотіонеїна введенієм хлориду цинку в дозе 5 мг/кг. Проведенные исследования показали высокую эффективность индукции металлотіонеїна, которая способна существенно повысить выживаемость животных при воздействии высоких доз тяжелых металлов.

Ключевые слова: тяжелые металлы, металлотионеина, выживаемость при действии сублетальных доз

Summary

DEPENDENCE OF SURVIVAL OF LABORATORY ANIMALS FROM PRE-INDUCTION METALLOTHIONEIN UPON EXPOSURE OF HEAVY METAL COMPOUNDS

Pyhtieieva E.G, Potapov E.A., Bolshoy D.V.

The dependence of survival laboratory animals under the action of sublethal and

lethal doses of chlorides of cadmium and mercury after preliminary synthesis of metallothionein induction introduction of zinc chloride (5 mg / kg) was studied. Preventive induction of metallothionein can significantly increase the survival rate of animals exposed to high doses of heavy metals.

Key words: heavy metals, metallothionein, the survival rate under the influence of sublethal doses

Впервые поступила в редакцию 07.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.155.1-099:616.153.663.43

ФРАКЦІЙНИЙ СКЛАД І МІКРОВ'ЯЗКІСНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДНОГО МАТРИКСУ МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ У ЗРІЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ В УМОВАХ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Жемела О.Д.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

У роботі представлені результати дослідження фракційного складу і мікроязко-стних властивостей ліпідного матриксу мембрани еритроцитів у зрілих і старих щурів в умовах гемічної гіпоксії. Встановлено, що нітрит натрію викликає порушення ліпідного бішару мембрани еритроцитів у тварин різних вікових груп. Зміни структури еритроцитарної мембрани при метгемоглобінемії у зрілих і старих щурів носять односпрямований характер і проявляються зниженням абсолютного вмісту загальних ліпідів і фосфоліпідів, порушенням ліпідного спектру, а також зростанням мікроязкості ліпідної фази. Молекулярні порушення мембрани еритроцитів максимально виражені в перші години і добу після введення нітриту натрію і мають стійкий характер.

Ключові слова: мембрана еритроцитів, гемічна гіпоксія, мікроязкість, ліпідний матрикс.

Вступ

Еритроцити представляють собою клітину, яка в багатому визначає кисневий статус організму [1, 2]. Однак, основні патогенетичні шляхи розвитку порушень периферичного ланцюга еритрона при гострому впливі нітриту натрію достатньо не вивчені [3]. Вважається, що важливим механізмом модифікації ліпідного компартмента мембрани еритроцитів є посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та ферментативного гідролізу [4]. Структурна модифікація ліпідної фази МЕ може бути причиною порушення іонної проникливості,

ліпід-ліпідних і ліпід-білкових взаємодій, збільшення «жорсткості» мембран [5].

Враховуючи важливу роль ліпідного компартмента мембрани еритроцита в забезпеченні метаболічної та функціональної повноцінності червоних кров'яних клітин, **метою** нашого дослідження явилось визначення особливостей фракційного складу і мікроязкості ліпідного матриксу мембрани еритроцитів при гострій гемічній гіпоксії.

Матеріали і методи

Експерименти проведені на 40 нелінійних щурах-самцях масою 180,0-200,0 г (перша група) і масою 300,0-350,0