



УДК 636.09:[615.244:577.115]

Академік НАН України Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко

Комплексна оцінка ефективності ліпосом при отруєнні тварин кадмієм

Із застосуванням методу головних компонент систематизовано та комплексно оцінено молекулярно-біохімічні процеси в організмі щурів при отруєнні їх кадмієм та коригувальні властивості ліпосомальної форми біологічно активної добавки FLP-MD, виготовленої на основі фосфоліпідів молока.

Використання методу головних компонент дає можливість виявити приховані показники (фактори), які відповідають за наявність лінійних статистичних зв'язків (кореляцій) між ними. Крім того, встановлення більш значущих за умов проведення дослідження факторів серед первинно обраних параметрів, а також виявлення статистичного зв'язку визначає обґрунтованість висновків щодо ефективності тих чи інших впливів, у тому числі новостворених лікувальних препаратів, на досліджувану систему (прогнозування розвитку процесу) [1, 2].

Результати досліджень при використанні методу головних компонент (факторів) доцільно наводити в геометричній інтерпретації [3]. Для цього на основі початкової вибірки (статистичного набору отриманих значень показників, класифікованих за відношенням до певної підмножини об'єктів) формується вибіркова кореляційна матриця і будується модель головних компонент. Показники, близькі за сукупністю характеристик, будуть групуватися в побудованому таким чином просторі і утворювати область, яка належить до виділеного класу. Центр ваги кожної такої групи, який називається центроїдом, характеризує середнє значення коефіцієнтів розкладу для об'єктів із подібними характеристиками.

Мета дослідження полягала в проведенні комплексної оцінки ефективності застосування ліпосом на основі фосфоліпідів (ФЛ) молока (БАД FLP-MD) при отруєнні щурів кадмієм за допомогою багатфакторного аналізу. Комплексну оцінку ефективності застосування ліпосом при введенні в організм щурів кадмію проводили за методом головних компонент із використанням біохімічних і біофізичних показників, числові значення яких характеризують функціональний стан організму щурів. Для корекції виявлених змін було застосовано ліпосомальну форму БАД FLP-MD на основі ФЛ молока [1, 2, 5].

При обробці результатів досліджень усі дані попередньо нормували до відповідного значення в контрольній групі, тобто всі змінні для неї мають значення 1,0. Результати при

© Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, 2013

використанні методу головних компонент (факторів) наведено в геометричній інтерпретації [3].

Дослідження проводили на безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин-аналогів розділяли на групи по п'ять особин у кожній: у першій групі знаходились контрольні тварини; у другій — тварини, яким протягом 14 днів перорально вводили кадмію хлорид у дозі 1,0 мг/кг маси тіла, що відповідає 1/50 ЛД₅₀; у третій — тварини, яким вводили 1%-й розчин ліпосомальної форми БАД FLP-MD на основі ФЛ молока в дозі 13,5 мг/кг маси тіла протягом 5 днів, а потім, на тлі застосування біодобавки, вводили кадмію хлорид у дозі 1,0 мг/кг маси тіла (протягом 14 днів). Щурів декапітували після закінчення експерименту. Відразу після забою тварин проводили їх патолого-анатомічний розтин та відбирали біологічний матеріал (кров, зразки печінки та тонкої кишки).

Для аналізу отриманих результатів методом головних компонент використовували 76 біохімічних показників, що характеризують стан клітин печінки, тонкої кишки та крові, які систематизовані у табл. 1. Їх вибір зумовлений тим, що основні шляхи впливу важких металів на організм — це ініціація окисних процесів, пригнічення дихальної активності мітохондрій, структурні зміни клітинних мембран [6].

На першому етапі проводили діагоналізацію повної коваріаційної матриці всіх показників для визначення кількості головних компонент, які відображають стан досліджуваного об'єкта. Аналіз цих результатів свідчить про те, що перша головна компонента (A_1) вичерпує 49%, друга (A_2) — 16%, третя (A_3) — тільки 6% сумарної дисперсії (табл. 2).

Серед досліджених 76 показників основний внесок у розділення на групи виконують 30.

Для компоненти A_1 основні факторні навантаження вносять показники, які характеризують: функціонування системи глутатіону в тканинах печінки, тонкої кишки та сироватці крові; структурний стан внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів і гепатоцитів, функціонування систем організму (показники сироватки крові), процеси окисного фосфорилювання в мітохондріях гепатоцитів та ентероцитів. Для компоненти A_2 основні факторні навантаження вносять показники, які характеризують процеси про-антиоксидантної рівноваги організму, процеси обміну ліпідів (показники сироватки крові та внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів).

На рис. 1 подано результати групування ознак у просторі проєкцій головних компонент A_1 і A_2 при дії кадмію та корекції виявлених змін за допомогою ліпосомальної форми БАД FLP-MD. Встановлено чітке групування (здорові тварини — контроль; тварини, які вживали кадмію хлорид; тварини, які зазнавали дію кадмію поряд із застосуванням ліпосомальної форми БАД FLP-MD) за проєкціями на перші дві головні компоненти з використанням усіх показників.

За умов надходження кадмію хлориду до організму тварин найбільші зміни спостерігаються за A_1 , а основний внесок у це групування здійснюють перераховані вище показники.

Стан об'єкта досліджень (група тварин, які вживали кадмію хлорид і ліпосомальну форму БАД FLP-MD) наближений до контрольної групи. Однак спостерігаються відмінності за A_1 та A_2 (див. рис. 1). Тобто ліпосомальна форма БАД FLP-MD при введенні в організм тварин виявляє відновлюючий ефект, хоча він не такий чіткий, як при інших клінічних ситуаціях, описаних раніше [5]. Можливо, це пояснюється тим, що в умовах досліду дія кадмію призводить до різнобічних змін у функціонуванні організму. Біохімічні показники сироватки крові — маркери метаболічних порушень і тканинних ушкоджень, свідчать про розвиток патологічних процесів в організмі при дії кадмію. Порушення у функціонуванні

внутрішньої мембрани мітохондрій при дії кадмію, що є проявом його токсичного впливу, пов'язують як з безпосередньою дією на мембрани мітохондрій, що супроводжується вивільненням цитохромоксидази, так і з руйнуванням лізосом і виходом лізосомальних ферментів, які призводять до деградації мембран мітохондрій [6].

БАД FLP-MD у ліпосомальній формі переважно виявляє мембранотропні та антиоксидантні ефекти, про що свідчать результати попередніх досліджень [1, 2]. Крім того, необхідно враховувати, що вибір досліджуваних показників за умов дії кадмію обмежений

Таблиця 1. Біохімічні показники крові та тканин щурів при введенні в їх організм кадмію та при застосуванні ліпосомальної форми БАД FLP-MD

№ п/п	Печінка	№ п/п	Ентероцити тонкої кишки	№ п/п	Сироватка крові
1	ТБК-активні продукти	29	ТБК-активні продукти	57	ТБК-активні продукти
2	СОД	30	СОД	58	СОД
3	Кат	31	Кат	59	Кат
4	ГТ	32	ГТ	60	ГТ
5	ГП	33	ГП	61	ГП
6	ВГЛ	34	ВГЛ	62	ВГЛ
7	ЗЛ	35	ЗЛ	63	Загальний білок
8	ФЛ	36	ФЛ	64	Альбумін
9	ВХС	37	ВХС	65	Сечовина
10	ЕХС	38	ЕХС	66	Креатинін
11	ФХ	39	ФХ	67	Глюкоза
12	ФЕ	40	ФЕ	68	АлАТ
13	СМ	41	СМ	69	АсАТ
14	ФС+ФІ	42	ФС+ФІ	70	ЛФ
15	КЛ	43	КЛ	71	ГГТП
16	F _{АНС}	44	F _{АНС}	72	ТАГ
17	K _{АНС}	45	K _{АНС}	73	ХС
18	N _{АНС}	46	N _{АНС}	74	ЛПДНЩ
19	N ₃₃₅	47	N ₃₃₅	75	ЛПВЩ
20	N ₂₈₀	48	N ₂₈₀	76	ЛПНЩ
21	Триптофанова F	49	Триптофанова F	—	—
22	Частка, доступна гасінню триптофанілів	50	Частка, доступна гасінню триптофанілів	—	—
23	Константа Штерна-Фольмера (K _{SV})	51	Константа Штерна-Фольмера (K _{SV})	—	—
24	НАДН-КоQ-оксидоредуктаза	52	НАДН-КоQ-оксидоредуктаза	—	—
25	Сукцинат-КоQ-оксидоредуктаза	53	Сукцинат-КоQ-оксидоредуктаза	—	—
26	КоQ-цитохром c-оксидоредуктаза	54	КоQ-цитохром c-оксидоредуктаза	—	—
27	Цитохром c-оксидоредуктаза	55	Цитохром c-оксидоредуктаза	—	—
28	H ⁺ -АТФаза	56	H ⁺ -АТФаза	—	—

Таблиця 2. Власні значення коваріаційної матриці досліджуваних змінних при дії кадмію та при застосуванні ліпосомальної форми БАД FLP-MD

Головні компоненти	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
λ	0,49	0,16	0,06	0,05	0,04

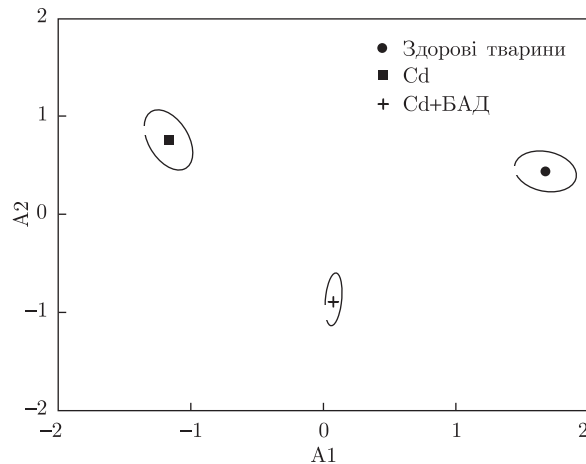


Рис. 1. Групування ознак у просторі проєкції головних компонент A_1 – A_2 при дії кадмію та при застосуванні ліпосомальної форми БАД FLP-MD

постановкою завдання — дослідження тільки мембранотропної дії ліпосом, що не дає повного уявлення про стан організму в цілому.

Отже, використання методу головних компонент дало можливість систематизувати та комплексно оцінити функціональний стан організму при отруєнні тварин кадмієм та ефективність дії ліпосомальної форми БАД FLP-MD за умов отруєння організму тварин сполуками кадмію. Найбільших змін зазнають показники, які характеризують про-антиоксидантну рівновагу та структурно-функціональний стан внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів. Введення отруєним тваринам ліпосомальної форми БАД FLP-MD сприяє частковому відновленню функціонального стану клітин печінки та тонкої кишки і поліпшує молекулярно-біохімічні процеси в пошкоджених тканинах.

Таким чином, ліпосомальна форма БАД FLP-MD є перспективним лікувальним засобом при отруєнні тварин кадмієм. У наступних дослідженнях планується використати метод головних компонент для проведення комплексної оцінки лікувального ефекту ліпосомальної форми БАД FLP-MD при дії на організм тварин інших важких металів.

1. Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Томчук В. А. та ін. Використання ліпосом на основі фосфоліпідів молока у гепатології // За ред. Д. О. Мельничука. – Київ: НУБіП України, 2010. – 400 с.
2. Литвиненко О., Степанова Л., Грищенко В. та ін. Дослідження дії фосфоліпидовмісної добавки на мембрани гепатоцитів // Вісн. Київ. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Біологія. – 2008. – Вип. 52–53. – С. 10–12.
3. Иберла К. Факторный анализ. – Москва: Мир, 1972. – 316 с.
4. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М. Метод багатofакторного аналізу обробки результатів експерименту // Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – С. 134–149.
5. Пат. 86516 Україна, МПК А 61К 35/20 А 23К 1/00. Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко; заявник і патентовласник НУБіП України. – № а 200710252; Заявл. 14.09.2007; Опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.
6. Хиженяк С. В. Клітинні механізми токсичності кадмію. – Київ: LAT & K, 2010. – 213 с.

Український навчально-науковий інститут
якості біоресурсів та безпеки життя
Національного університету біоресурсів
і природокористування України, Київ

Надійшло до редакції 14.03.2013

Академик НАН Украины Д. А. Мельничук, В. А. Грищенко

Комплексная оценка эффективности липосом при отравлении животных кадмием

С применением метода главных компонент систематизированы и комплексно оценены молекулярно-биохимические процессы в организме крыс при отравлении их кадмием и корректирующие свойства липосомальной формы биологически активной добавки FLP-MD, изготавливаемой на основе фосфолипидов молока.

Academician of the NAS of Ukraine D. O. Melnychuck, V. A. Grishchenko

Integrated assessment of the efficiency of liposomes at the poisoning of animals by cadmium

Using the method of principal components allowed us to systematize and to do the integrated assessment of molecular and biochemical processes in organism of rats at the poisoning by Cd and corrective properties of the liposomal form of a dietary supplement FLP-MD made from milk phospholipids.