

Б. О. Цудзевич, І. В. Калінін

Вплив солей міді на функціонування антиоксидантної системи у тканинах щурів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України С. О. Костеріним)

Досліджено вплив різних аніонів солей міді на біохімічні показники та функціонування антиоксидантної системи в тканинах щурів. Показано, що введення солей міді з різним аніонним складом в організм тварин впливає на кумуляцію досліджуваного елемента та біохімічні показники, а також функціонування антиоксидантної системи у тканинах щурів.

Загострення екологічної ситуації обумовлює необхідність вивчення механізмів адаптації живих організмів до важких металів як найнебезпечніших забруднювачів довкілля. Мідь потрапляє в навколишнє середовище в основному з відходами і стічними водами підприємств, а також широко використовується у сільському господарстві як фунгіцид для боротьби із шкідниками та захворюваннями рослин.

При надмірному надходженні сполук міді в організм можливе виникнення отруєнь, оскільки міді притаманні виражені кумулятивні властивості, при довготривалому надходженні міді в організм небезпечними є хронічні інтоксикації [1].

Важливу проблему становить дослідження корекції порушень метаболізму, що виявляються в клітинах людини і тварин внаслідок надходження в організм сполук цього важкого металу. Відомо, що іони важких металів, у тому числі й міді, активують процеси утворення активних форм кисню в різних типах клітин, провокуючи розвиток в організмі оксидативного стресу. Мідь і залізо в живих організмах тісно поєднані. Мідь слугує прискорювачем в окисних реакціях клітин, а також сприяє утворенню гемоглобіну, накопиченню заліза про запас. Метаболізм цинку був взаємозв'язаний із залізом і міддю, в ферментах цинк часто може заміщуватися міддю [2].

Незважаючи на те, що в літературі є багато робіт, присвячених розкриттю механізмів негативної дії міді на організм, проте актуальним залишається питання щодо функціональних змін та стану антиоксидантної системи у клітинах різних органів і тканин в умовах комбінованого впливу цих металів впродовж тривалого часу [3–6]. Дослідження щодо впливу різних аніонів солей важких металів у літературі відображено епізодично.

При проведенні дослідів у лабораторних умовах з різними солями одного й того самого металу виникає питання про вплив на біохімічні процеси не тільки безпосередньо металу (катиона), а й аніонної частини солі. Тому метою даної роботи було дослідження впливу різних аніонів солей міді на біохімічні показники та функціонування антиоксидантної системи в тканинах щурів.

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях одного віку, масою 180–200 г, яких утримували за звичайних умов віварію. Було утворено чотири груп тварин: перша — контроль, друга — тваринам перорально вводили розчин міді сульфату, третя — щурам перорально вводили розчин міді нітрат, четверта — тваринам перорально вводили розчин міді хлорид. Інтоксикацію проводили в загальноновстановлених дозах [7, 8] впродовж

14 діб, потім щурів декапітували під ефірним наркозом та відбирали кров і печінку для подальших досліджень. Роботу проводили, згідно з конвенцією Ради Європи щодо захисту тварин, яких використовують у наукових цілях. Вміст металів у тканинах (кров, печінка) визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 після спалювання зразків у азотній кислоті. Визначали активність: супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) за [9]; каталази (КАТ, КФ 1.11.1.9) за [10]; глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) та глутатіон-трансферази (ГТ, КФ 2.5.1.18) за [11, 12]. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали методом, описаним у статті [13]. Біохімічний аналіз крові (активність лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1), аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), вміст глюкози, загального білка, сечовини, креатиніну) проводили за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Microlab 300 (Нідерланди). Експериментальні дані обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента [14]. Статистичні розрахунки проводили з використанням програми “Microsoft Excel 2007”.

Проведені дослідження показали, що отруєння міді сульфатом, міді нітратом та міді хлоридом призвело до збільшення міді в усіх досліджуваних тканинах. Так, у крові (табл. 1) концентрація міді збільшилась в 1,6 раза при отруєнні сульфатом та в 2 рази — нітратом і хлоридом міді відносно контрольної групи тварин.

У тканинах печінки вміст міді збільшився в 1,6 раза при отруєнні сульфатом і хлоридом та в 1,7 раза — нітратом міді відносно контрольної групи тварин.

Результати біохімічних досліджень сироватки крові щурів представлені в табл. 2.

Встановлено збільшення вмісту глюкози в 1,3 раза у тварин, інтоксикованих солями міді з різним аніонним складом, порівняно з контрольною групою тварин. Вміст загального білка знизився на 17, 20 й 18% у щурів, отруєних щурами іонами міді сульфатом, міді нітратом

Таблиця 1. Вміст міді в тканинах щурів за умов інтоксикації солями міді різного аніонного складу ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи тварин	Вміст міді, мг/кг	
	у крові	у печінці
Контроль	1,34 ± 0,15	2,82 ± 0,38
Інтоксиковані:		
міді сульфатом	2,17 ± 0,42*	4,43 ± 0,62*
міді нітратом	2,73 ± 0,57*	4,81 ± 0,73*
міді хлоридом	2,56 ± 0,51*	4,62 ± 0,816*

* $p < 0,05$ відносно інтактних тварин.

Таблиця 2. Біохімічні показники крові щурів за умов інтоксикації солями міді різного аніонного складу ($M \pm m$, $n = 8$)

Показники	Контроль	Щури інтоксиковані		
		CuSO ₄	Cu(NO ₃) ₂	CuCl ₂
Глюкоза, ммоль/л	6,04 ± 0,76	7,63 ± 0,71*	7,94 ± 0,65*	7,82 ± 0,69*
Білок загальний, г/л	74,52 ± 2,88	61,74 ± 1,94*	59,42 ± 1,25*	60,81 ± 1,72*
Сечовина, ммоль/л	6,23 ± 0,91	11,41 ± 1,32*	11,67 ± 1,71*	11,73 ± 1,92*
Креатинін, мкмоль/л	69,17 ± 6,23	102,30 ± 9,21*	104,85 ± 9,52*	103,28 ± 9,43*
АлАТ, од./л	78,23 ± 7,26	133,10 ± 12,24*	135,23 ± 12,37*	134,40 ± 11,62*
АсАТ, од./л	162,51 ± 13,92	254,23 ± 21,71*	257,18 ± 23,84*	255,71 ± 22,37*
ЛФ, од./л	292,47 ± 28,11	536,21 ± 85,82*	541,32 ± 88,13*	538,46 ± 87,84*

* $p < 0,05$ відносно контролю.

і міді хлоридом відповідно, щодо інтактних щурів. Збільшився вміст сечовини у 1,8 раза у трьох дослідних групах інтоксикованих тварин відносно контролю. Рівень креатиніну збільшився у 1,5 раза в усіх дослідних групах тварин, порівняно з групою контрольних тварин.

При інтоксикації іонами міді сульфатом активність усіх досліджуваних ферментів крові зросла, а саме АлАТ у 1,7 раза, АсАТ — у 2,2, ЛФ — у 1,8 раза щодо контрольної групи тварин. Разом з тим отруєння нітратом міді призвело також до зростання ферментативної активності крові, але це зростання було більшим, якщо порівнювати отруєння з групою щурів, яка зазнала інтоксикації іонами міді сульфатом та міді хлоридом. Результати досліджень активності супероксиддисмутази та каталази щурів зведено в табл. 3.

Інтоксикація іонами міді з різним аніонним складом призводить до зниження активності СОД і КАТ у досліджуваних тканинах щурів, найбільше зниження встановлено при інтоксикації іонами міді азотнокислої. Результати досліджень активності глутатіонзалежних ферментів тканин щурів демонструє табл. 4.

Встановлено, що інтоксикація щурів міддю сірчаною кислотою призводить до зниження в крові вмісту GSH (у 1,3 раза) та зниження активності ГП й ГТ (у 1,3 й 1,9 раза відповідно). Показано, що інтоксикація щурів міддю азотнокислою призводить до зниження в крові вмісту GSH (у 1,5 раза) та зменшення активності ГТ (у 2,2 раза), у той час як активність глутатіонпероксидази істотно не змінилася. Інтоксикація щурів міді хлоридом призводить до зниження в крові вмісту GSH (у 1,7 раза) та зменшення активності ГП й ГТ (у 1,3 і 2,0 раза відповідно) порівняно з контролем.

Таблиця 3. Активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах щурів при дії іонів міді з різним аніонним складом ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи тварин	Кров		Печінка	
	СОД, ум. од.	КАТ, мкмоль/(л · хв)	СОД, ум. од.	КАТ, мкмоль/(мг · хв)
Контроль	0,83 ± 0,05	11,23 ± 1,14	2,83 ± 0,32	0,18 ± 0,03
Інтоксиковані:				
CuSO ₄	0,68 ± 0,02	10,12 ± 0,93	2,68 ± 0,17	0,12 ± 0,02*
Cu(NO ₃) ₂	0,64 ± 0,03	9,14 ± 0,81	2,03 ± 0,12	0,10 ± 0,01*
CuCl ₂	0,66 ± 0,02*	9,82 ± 0,63*	2,29 ± 0,15*	0,11 ± 0,02*

* $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 4. Вміст глутатіону та активність глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази в тканинах щурів при дії іонів міді з різним аніонним складом ($M \pm m$, $n = 8$)

Показник	Групи тварин			
	Контроль	інтоксиковані		
		CuSO ₄	Cu(NO ₃) ₂	CuCl ₂
Кров				
GSH, ммоль/л	0,38 ± 0,04	0,29 ± 0,03*	0,26 ± 0,02*	0,22 ± 0,02*
ГП, ммоль/(хв · л)	0,27 ± 0,12	0,21 ± 0,11*	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,01*
ГТ, ммоль/(хв · л)	68,03 ± 4,71	35,72 ± 3,68*	30,81 ± 3,05*	33,44 ± 3,42*
Печінка				
GSH, мкмоль/мг білка	0,80 ± 0,04	0,67 ± 0,05*	0,51 ± 0,02*	0,62 ± 0,03*
ГП, мкмоль/(хв · мг білка)	0,37 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,31 ± 0,02	0,32 ± 0,02
ГТ, мкмоль/(хв · мг білка)	0,48 ± 0,05	0,46 ± 0,07	0,42 ± 0,03	0,45 ± 0,06

* Дані вірогідні ($p \leq 0,05$) у порівнянні з інтактними щурами.

Інтоксикація щурів міді сульфатом призводить до зниження у печінці вмісту GSH — у 1,2 раза порівняно з контрольними тваринами (див. табл. 4).

У печінці отруєння щурів іонами міді нітратом і міді хлоридом призводить до зниження вмісту GSH — у 1,6 раза й 1,3 раза відповідно порівняно з контрольними щурами. Разом з тим активність глутатіопероксидази і глутатіотрансферази у всіх дослідних групах залишалась без помітних змін.

Таким чином, в результаті проведених досліджень вперше показано, що введення солей міді з різним аніонним складом в організм тварин впливає на кумуляцію досліджуваного елемента та біохімічні показники, а також функціонування антиоксидантної системи в тканинах щурів.

1. *Профілактична токсикологія та медична екологія* / За заг. ред. І. М. Трахтенберга. – Київ: Авіцена, 2011. – 320 с.
2. *Цудзевич Б. О., Столяр О. Б., Калінін І. В., Южало В. Г.* Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів. – Тернопіль: Вид-во Тернопіл. нац. техн. ун-ту ім. Івана Пулюя, 2012. – 384 с.
3. *Цудзевич Б. О., Калінін І. В., Петрук Н. А.* Антиоксидантна система в тканинах щурів за умов інтоксикації важкими металами // *Совр. пробл. токсикології.* – 2012. – № 2. – С. 36–39.
4. *Беленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І. та ін.* Антиоксидантна система захисту організму (огляд) // Там само. – 2002. – № 3. – С. 24–31.
5. *Хижняк С. В., Прохорова А. О., Грищенко В. А. та ін.* Функціонування антиоксидантної системи щурів за дії кадмію // *Укр. біохім. журн.* – 2010. – **82**, № 4. – С. 105–111.
6. *Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В.* Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // *Журн. АМН України.* – 2007. – **13**, № 1. – С. 3–20.
7. *Трахтенберг И. М., Тычинин В. А., Галакин Ю. Н.* Экспериментальные данные к анализу воздействия на организм тяжелых металлов // *Токсикол. вестн.* – 1994. – № 4. – С. 27–31.
8. *Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О.* Проблема нормы в токсикологии: современные представления и методические подходы, основные параметры и константы. – Москва: Медицина, 1991. – 208 с.
9. *Орехович В. Н.* Современные методы в биохимии. – Москва: Медицина, 1977. – 268 с.
10. *Корольок М. А.* Метод определения активности каталазы в биологическом материале // *Лаб. дело.* – 1988. – № 2. – С. 31–34.
11. *Mannervik B.* Glutathione peroxidase // *Methods in enzymology.* – New York: Acad. Press. – 1985. – **113**. – P. 490–495.
12. *Власова С. Н., Шабунина Е. И., Перслегина А. И.* Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // *Лаб. дело.* – 1990. – № 8. – С. 19–21.
13. *Ellman G. L.* Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82**, No 1. – P. 70–77.
14. *Кучеренко М. С., Бабенюк Ю. Д., Войцицький В. М.* Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – С. 109–152.

ННЦ “Інститут біології” Київського
національного університету ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 18.01.2013

Б. А. Цудзевич, І. В. Калінін

Влияние солей меди на функционирование антиоксидантной системы в тканях крыс

Исследовано влияние различных анионов солей меди на биохимические показатели и функционирования антиоксидантной системы в тканях крыс. Показано, что введение солей меди с различным анионным составом в организм животных влияет на кумуляцию исследуемого элемента и биохимические показатели, а также функционирование антиоксидантной системы в тканях крыс.

B. A. Tsudzevich, I. V. Kalinin

Influence of copper salts on the functioning of the antioxidant system in rat tissues

The effect of various anions of copper salts on biochemical data and functioning of the antioxidant system in rat tissues is studied. The introduction of copper salts with different anions to the organism of animals affects the element cumulation and biochemical parameters, as well as the functioning of the antioxidant system in rat tissues.