

УДК 612.015 + 615.099 577.118

О.И. ЦЕБРЖИНСКИЙ

Полтавский национальный педагогический университет им. В. Г. Короленко
ул. Остроградского, 2, г. Полтава, 36000, Украина

К БИОХИМИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ ТАЛЛИЯ БРОМИДА

Гиперталлоз у морских свинок вызывает нарушение тканевого дыхания, усиление свободнорадикального перекисного окисления в крови за счет активации дыхательного взрыва нейтрофилов, ослабление в крови антиоксидантной защиты, дефицит низкомолекулярных антиоксидантов. Гистологическое исследование тканей печени выявило задержку митоза на стадии метафазы, связанную с К-митозом. Возможно окислительное повреждение белков митотического аппарата и ДНК.

Ключевые слова: гиперталлоз, свободнорадикальное перекисное окисление, антиоксидантная защита, к-митоз

Соединения таллия относятся к первому классу опасности, они легко всасываются в пищеварительном тракте и через кожу, накапливаются в почках, волосах, мозгу, железах, меньше в печени. В результате поражается центральная нервная система, развивается анемия и аллопеция, жировая дистрофия и разрушение мембран гепатоцитов, спазм коронарных сосудов. Интоксикации солями таллия проявляются в гиперхолестеринемии, гипергликемии, повышении в крови активности щелочной фосфатазы, снижении концентрации сульфгидрильных групп и восстановленного глутатиона, нарушении структуры и функции митохондрий, ингибировании активностей цитохрома Р-450 и аденилатциклазы. В организме ион одновалентного таллия может окисляться в трехвалентный, который является антагонистом флавопротеидов, тиолов и метилируется с участием витамина В₁₂. Ионы Тl⁺¹ и К⁺¹ имеют близкие размеры радиусов (соответственно 1,40 А и 1,33 А), поэтому ион таллия может замещать калий, блокировать специфические мембранные калиевые каналы (в том числе потенциалзависимые, рецепторуправляемые, кальцийактивируемые), но активирует Na-K-АТФ-азу. Как антидоты гиперталлоза предлагались сульфиды, диэтилдитиокарбаматы, берлинская лазурь [1, 3, 4, 6, 7, 9]. Черновицкий синдром (1988 г.) считается проявлением экологического техногенного гиперталлоза [2].

Прооксидантно-антиоксидантная система состоит из генерации активных форм кислорода (АФК), инициирующих неферментативное свободно-радикальное перекисное окисление биополимеров (СРПО), что лимитируется антиоксидантной защитой (АОЗ). Ранее нами показано, что в результате интоксикации ТlBr морских свинок потенциальная генерация АФК снижалась от митохондриального и микросомального окислений, несколько повышалась от фагоцитов печени. При этом также по отношению к величинам нормы в ДНК снижалось содержание 5-метилцитозина и увеличивалось – 8-оксогуанина [8]. Эти изменения указывают на дисбаланс экспрессии генов. Однако, в литературе мало представлены состояния окислительных процессов и гистометрии печени при гиперталлозе, чему и посвящена эта работа.

Гиперталлоз воспроизводили путем перорального введения 10 морским свинкам в течение 10 суток ежедневно водного раствора бромида таллия (растворимость 50 мг/100 мл) в дозе 1 мг на кг массы тела в сутки. Это составляет около 0,025 ЛД₅₀ и способствует выживанию всех животных к концу опыта. Учитывалось, что таллий кумулируется организмом, блокирует калиевые каналы в мембранах. Группа условной нормы (интакт) также состояла из 10 морских свинок – самцов, средней массой 350 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария. К концу опыта обнаружены небольшие участки выпадения шерсти после поглаживания животных. Использованные методы лабораторного исследования описаны [5].

Установлено, что интоксикация бромидом таллия не влияет на уровень в сыворотке крови кортизола, тестостерона, инсулина, ионов магния и кальция, гемокоагуляции, однако снижает концентрации холестерина (необходимый для репарации окислительно поврежденных мембран) и средних молекул белка (что исключает аутоинтоксикацию), антитриптическую активность при развитии гипергликемии и двукратном увеличении активности фагоцитоза

БЮХІМІЯ

нейтрофилами. В тканях печени при неизменности концентрации АТФ и активности цитохромоксидазы в четыре раза возросло содержание гликогена. В тканях сердца, почек, головного мозга существенно снизилась активность цитохромоксидазы (что указывает на тканевую гипоксию), а экскреция с мочой креатинина не изменилась (табл. 1).

Таблиця 1

Состояния обменных процессов при гиперталлозе

Показатели/Группы	Норма	Гиперталлоз
КРОВЬ И ЕЕ СЫВОРОТКА		
Кортизол, нмоль/л	2000 ± 10	1858 ± 144
Тестостерон, нг/мл	3,30 ± 0,68	3,42 ± 0,48
Инсулин, мкЕД/мл	6,30 ± 0,55	6,30 ± 0,41
Холестерин, ммоль/л	2,32 ± 0,33	1,54 ± 0,06 p<0,05
Средние молекулы белка, ед.экст.	0,337 ± 0,039	0,262 ± 0,009 p<0,1
Магний, ммоль/л	0,988 ± 0,138	1,107 ± 0,05
Кальций, ммоль/л	2,186 ± 0,331	2,18 ± 0,30
Глюкоза крови, ммоль/л	4,13 ± 0,60	5,67 ± 0,21 p<0,05
Время рекальцификации, сек	73,0 ± 11,8	75,0 ± 4,5
Тромбиновое время, сек.	27,2 ± 1,4	28,8 ± 3,1
Протромбиновое время, сек	41,8 ± 4,5	41,0 ± 2,3
Фагоцитоз, %	8,00 ± 1,75	17,60 ± 1,45, p<0,01
Антитриптическая активность сыворотки, мг трипсина/л	1,041 ± 0,018	0,967 ± 0,014 p<0,001
ПЕЧЕНЬ		
АТФ, ммоль/кг	5,36 ± 0,34	6,36 ± 0,82
Гликоген, г/кг	42 ± 8	163 ± 20 p<0,001
Цитохромоксидаза, ЕД. акт.	0,993 ± 0,066	0,789 ± 0,115
ДРУГИЕ ОРГАНЫ		
Цитохромоксидаза сердца, ЕД. акт.	1,4610 ± 0,0901	1,053 ± 0,105 p<0,05
Цитохромоксидаза мозга, ЕД. акт.	1,1300 ± 0,0888	0,4070 ± 0,0215 p<0,001
Цитохромоксидаза почек, ЕД. акт.	1,400 ± 0,037	0,045 ± 0,036 p<0,001
МОЧА		
Креатинин, ммоль.л	11,88 ± 2,72	12,10 ± 1,08

Согласно НСТ-теста источником АФК в крови является дыхательный взрыв нейтрофилов, что увеличивало хемилюминесценцию сыворотки крови, но концентрация первичных продуктов СРПО – диеновых конъюгатов сыворотки крови, активность в крови пероксидазы, глутатионпероксидазы, каталазы не изменилась. Повысились концентрация вторичных продуктов пероксидации – малонового диальдегида (МДА) в крови до и после (1,5 часа) инкубации в прооксидантном железо-аскорбинатном буферном растворе, уровень окислительной модификации белков сыворотки крови, активность супероксиддисмутазы (СОД), а процент спонтанного гемолиза эритроцитов (СГЭ) и содержание в сыворотке крови церулоплазмينا снизились. В печени содержание МДА, активности СОД, пероксидазы, глутатионпероксидазы не изменились, но активность каталазы увеличилась, концентрация восстановленной формы аскорбиновой кислоты уменьшилась вдвое за счёт увеличения содержания дегидроаскорбината. В почках увеличился в 3 раза прирост МДА за время инкубации, что указывает на истощение антиоксидантного потенциала, в 2 раза – активность СОД, на 60% – экскреция креатина с мочой. В сердце увеличилась в 2 раза активность СОД, но не содержание МДА. В тканях головного мозга в 4 раза снизилось содержание МДА, но в 5 раз увеличился его прирост (табл. 2).

Состояние СРПО и АОЗ в крови, в тканях почек, сердца, головного мозга, печени при гиперталлозе

Показатели / Группы	Норма	Гиперталлоз
КРОВЬ И ЕЁ СЫВОРОТКА		
НСТ-тест, отн.ед.	1,00 ± 0,08	1,26 ± 0,02 p<0,01
СГЭ, % гемолиза	5,26 ± 0,41	3,17 ± 0,26 p<0,01
Хемилюминесценция максимальная, имп/сек	4860 ± 263	7917 ± 748 p<0,01
Хемилюминесценция суммарная, имп/сек	60472 ± 3716	90780 ± 7945 p<0,01
Диены, мкмоль/л	34,41 ± 1,74	30,39 ± 2,12
МДА-0, мкмоль/л	8,05 ± 0,41	12,50 ± 0,84 p<0,01
МДА-1,5, мкмоль/л	10,66 ± 0,51	20,11 ± 1,62 p<0,001
Прирост МДА, %	32,5	61 p<0,001
СОД, ЕД. акт.	1,29 ± 0,16	2,29 ± 0,32 p<0,05
Церулоплазмин, мг/л	57,90 ± 2,11	48,10 ± 5,73 p<0,1
Каталаза, ЕД. акт.	1,40 ± 0,19	1,15 ± 0,25
Пероксидаза, ЕД.	0,548 ± 0,058	0,595 ± 0,02
Глутатионпероксидаза, ЕД. акт.	58,00 ± 3,88	56,90 ± 2,06
Окислительная модификация белков, мкмоль оксогрупп/л	14,480 ± 0,918	20,750 ± 0,476 p<0,001
ПОЧКИ		
МДА-0, мкмоль/кг	44,42 ± 4,12	38,62 ± 3,86
МДА-1,5, мкмоль/кг.	46,83 ± 4,84	45,60 ± 6,24
Прирост МДА, %	5,5	18,1 p<0,05
СОД, ЕД. акт.	5,90 ± 1,62	10,62 ± 0,88 p<0,05
Креатин мочи, ммоль/л	1,22 ± 0,21	1,92 ± 0,34 p<0,1
СЕРДЦЕ		
МДА-0, мкмоль/кг	62,26 ± 4,37	58,10 ± 6,14
МДА-1,5, мкмоль/кг	74,52 ± 12,05	65,91 ± 6,12
Прирост МДА, %	20,0	13,5
СОД, ЕД. акт.	1,06 ± 0,16	2,14 ± 0,26 p<0,01
МОЗГ		
МДА-0, мкмоль/кг	86,37 ± 15,46	22,36 ± 2,74 p<0,01
МДА-1,5, мкмоль/кг	95,78 ± 10,31	33,98 ± 2,75 p<0,001
Прирост МДА, %	11,0	51,2 p<0,05
СОД, ЕД. акт.	3,90 ± 0,42	4,96 ± 0,70
ПЕЧЕНЬ		
МДА-0, мкмоль/кг	37,62 ± 7,66	39,35 ± 1,34
МДА-1,5, мкмоль/кг	45,87 ± 6,65	47,04 ± 3,76
Прирост МДА, %	22	20
СОД, ЕД. акт.	11,08 ± 2,17	9,23 ± 1,04
Каталаза, ЕД. акт.	10,87 ± 1,63	19,73 ± 0,71 p<0,001
Пероксидаза, ЕД.	0,128 ± 0,023	0,150 ± 0,015
Глутатионпероксидаза, ЕД. акт.	2,35 ± 0,07	2,30 ± 0,17
Аскорбиновая к-та, ммоль/кг	0,495 ± и 0,098	0,191 ± 0,062 p<0,01
Дегидроаскорбиновая к-та, ммоль/кг	0,227 ± 0,065	0,449 ± 0,020 p<0,001

Гипергликемия связана с блокадой калиевых каналов, осуществляющих трансмембранный перенос глюкозы. Блокада ионом таллия аденилатциклазы способствует гликогеногенезу и окислительной активности фагоцитов. Последнее связано с кальциевой активации фагоцитоза с выделением АФК и протеиназ, которые инактивируются

церулоплазмином и антиптрипсином, выделяемые печенью. В печени [8] и крови источником АФК является окислительная активность нейтрофилов, в результате активируется СРПО, судя по увеличению концентрации МДА, окислительной модификации белков. Обнаружена корреляция между окислительным повреждением белков сыворотки крови и антипротеолизом ($r=0,87$). В крови увеличение активности СОД продуцирует пероксид водорода, которая при неизменности активности каталазы становится АФК. Активация субстратиндуцибельной СОД указывает на увеличение генерации супероксида, а снижение СГЭ может быть связано с элиминацией старых поврежденных эритроцитов и выходом в кровь стойких молодых. Увеличение прироста МДА за время инкубации в крови и почках указывает на снижение АОЗ, несмотря на неизменность активности АО ферментов и активацию СОД. Следовательно, страдает звено низкомолекулярных АО – снижение содержания аскорбината в печени и по литературным данным глутатиона. Креатинурия – индикатор токоферольной недостаточности, то есть снижается продуктивность цепи транспорта восстановительных эквивалентов: НАДФН → глутатион → аскорбинат → токоферол. Вклад бромид-иона можно предположительно связать с угнетением СРПО в мозге.

Необходимо подчеркнуть, что избытки АФК влияют на определенные гены и транскрипционные факторы (экспрессии): c-src, Nef, Sirt1, ASK-1 (MAP3K5), FOXO, NF- κ B, вызывая нарушения экспрессии генов; влияние избытка АФК на факторы Nef, Sirt1, FOXO играет положительную роль для адаптации и компенсации.

Гистологическими и электронномикроскопическими исследованиями печени выявлено, что наиболее выражены балонная и гидропическая дистрофии с накоплением воды, кариопикноз в периферической части печеночной лобулы. От периферии к центру снижается объем ядра в результате нарушения водно-солевого обмена, а изменения IgV не ритмические. Из кариометрически исследованных пролиферирующих клеток 25% находятся в метафазе, задержка связана с к-митозом. В опытах *in vitro* под влиянием таллия в 14,5 раза увеличилось число aberrантных лимфоцитов (анеуплоидия, сцепление хромосом). Это может быть связано, как с окислительным повреждением белков митотического аппарата, так и с дисбалансом экспрессии генов из-за недометилирования и окисления гуанина.

Выводы

Гиперталлоз у морских свинок вызывает нарушение тканевого дыхания, усиление свободнорадикального перекисного окисления в крови за счет активации дыхательного взрыва нейтрофилов, ослабление в крови антиоксидантной защиты, дефицит низкомолекулярных антиоксидантов. Гистологическое исследование тканей печени выявило задержку митоза на стадии метафазы, связанную с К-митозом. Возможно окислительное повреждение белков митотического аппарата и ДНК.

1. *Авцын А. П.* Микроэлементозы человека / [А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова]. – М. : Медицина, 1991. – 496 с.
2. *Белоус В. И.* Таллотоксикозы ("черновецкая химическая болезнь") / В. И. Белоус, В. В. Белоус. – Черновцы : Місто, 2002. – 284 с.
3. *Вредные вещества в промышленности.* – Т.3. – Л. : Химия, 1977. – 608 с.
4. *Москалев Ю. И.* Минеральный обмен / Ю. И. Москалев. – М. : Медицина, 1985. – 288 с.
5. *Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині* / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, О. О. Гейко, О. В. Катрушов [і ін.] / Під ред. І. П. Кайдашева, О. В. Катрушова, В. М. Соколенко. – Полтава, 1996. – 271с.
6. *Скальный А. В.* Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М. : Оникс 21 век, Мир, 2004. – 272 с.
7. *Хьюз М.* Неорганическая химия биологических процессов / М. Хьюз. – М. : Мир, 1978. – 140 с.
8. *Цебржинський О. І.* Модифікація основ ДНК печінки при різних джерелах активних форм кисню в печінці при експериментальних інтоксикаціях / О. І. Цебржинський // Медична хімія. – 2000. – Т. 2., № 3. – С. 33–36.
9. *Douglas K. T.* Thallium in biochemistry / K. T. Douglas, M. A. Bunni, S. R. Bainolur // Int. J. Biochem. – 1990. – Vol. 22, № 5. – P. 429–435.

Благодарности: Благодарим за допомогу в роботі докторів медичних наук академіка РАН А. А. Жаворонкова, професорів Я. Я. Боднара і А. П. Гасюка, кандидата медичних наук, доцента І. І. Сидоренко.

О.І.Цебржинський

Полтавський національний педагогічний університет ім. В. Г. Короленка, Україна

ДО БІОХІМІЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ БРОМІДУ ТАЛІЮ

Гіперталлоз у морських свинок викликає порушення тканинного дихання, посилення вільнорадикального пероксидного окиснення в крові за рахунок активації «дихального вибуху нейтрофілів», ослаблення антиоксидантного захисту, дефіциту низькомолекулярних антиоксидантів у тканинах. Гістологічне дослідження печінки виявило затримку мітозу на стадії метафази, пов'язану з К-мітозом. Можливо окисне пошкодження білків мітотичного апарату і ДНК.

Ключові слова: гіперталлоз, вільнорадикальне перекисне окиснення, антиоксидантний захист, к-мітоз

O.I. Tsebrzhinsky

Poltava Volodymyr Korolenko National Pedagogical University, Ukraine

AS TO BIOCHEMICAL TOXICOLOGY OF THALLIUM BROMIDE

Gipertaloz in guinea pigs causes a disturbance of tissue respiration, an increase of free radical peroxidation in blood due to the activation of neutrophil respiratory explosion, weakening in the blood antioxidant defense, lack of low molecular weight antioxidants. The histological examination of liver tissue revealed a delay in mitosis at a metaphase stage connected with K-mitosis. There exists a possibility of oxidative damage to proteins of the mitotic apparatus and DNA.

Key words: gipertaloz, free radical peroxidation, antioxidant protection, k-mitosis

Рекомендує до друку

Надійшла 15.01.2013

В.В. Грубінко

УДК 574:591.5:504:597.6/.9

Б. В. ЯКОВЕНКО, О. П. ТРЕТЯК, О. Б. МЕХЕД, М. О. ІВАЩЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14037, Україна

ЗАЛЕЖНІСТЬ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ КОРОПА ВІД ПРИРОДИ ТОКСИКАНТУ

Ключові слова: короп лускатий, зенкор, 2,4-Д, йони міді, гематологічні показники, біохімічні показники

На конференції ООН з навколишнього середовища і розвитку у 1992 році пестициди і важкі метали (ВМ) віднесені до переважаючих в природі забруднюючих речовин [6]. Нині день загальне зростання антропогенного впливу на водне середовище загострило проблему виживання водних тварин і, зокрема, риби, в умовах пестицидного навантаження та забруднення водою ВМ. Актуальність дослідження обумовлюється тим, що деякі зі вказаних токсикантів виявляють мутагенні, канцерогенні властивості та, мігруючи в харчових ланцюгах, можуть бути небезпечними для здоров'я людини [11].

Мета роботи – з'ясувати вплив гербіцидів (бутилового ефіру 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д), та зенкору) та йонів міді на комплекс гематологічних та біохімічних показників крові коропа.