ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО КАДМІЄВОГО І СВИНЦЕВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

С. О. Слободян, асистент,
Б. В. Гутий, д-р вет. наук, професор

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна
bvh@ukr.net

Свинець та Кадмій відносять до тіолових отрут, за рахунок їх здатності зв'язуватись із SH-групами білків. Метою роботи було вивчити вплив солей Кадмію і Свинцю на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові щурів. Досліди проводились щурах-самцях лінії "Вістар", масою 200–220 г, з яких було сформовано 4 групи тварин: контрольну та три дослідні групи. Щурам контрольної групи вводили питну воду через металевий зонд в об'ємі, який еквівалентний об'єму водного розчину солей Cd^{2+} і Pb^{2+} . Тваринам першої дослідної групи вводили 0,029 % водний розчин кадмію хлориду в дозі 4,0 мг/кг. Тваринам другої дослідної групи вводили 16,6 % водний розчин ацетату свинцю в дозі 200 мг/кг. Тваринам третьої дослідної групи вводили 16,6 % водний розчин ацетату свинцю в дозі 100 мг/кг і 0,029 % водний розчин кадмію хлориду в дозі 2,0 мг/кг.

Введення в організм кадмію хлориду та ацетату свинцю призводить до нагромадження в крові щурів дослідних груп як проміжних, так і кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Вірогідне збільшення рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів спостерігали у крові щурів всіх трьох дослідних груп вже з першої доби досліді. За сукупного застосування Кадмію і Свинцю щурам встановлено найвищий рівень дієвих кон'югатів та ТБК-активних продуктів у порівнянні з першою та другою дослідними групами. На 28 добу досліді рівень проміжних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові щурів третьої дослідної групи зріс на 76,1 %, а рівень ТБК-активних продуктів – на 38,4 % відносно показників контрольної групи. Дані зміни рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів вказують про посилення інтенсивності процесів радикалоутворення. Пероксидне окиснення практично на всіх етапах свого перебігу утворює ряд продуктів, які є результатом взаємодії вільних радикалів як між собою, так із біологічними макромолекулами. Проведені дослідження дали можливість глибше розкрити патогенез токсичної дії Кадмію та Свинцю на організм щурів і використати ці дані при розробці антидоту за кадмієво-свинцевої інтоксикації.

Ключові слова: ТОКСИКОЛОГІЯ, ЩУРИ, КАДМІЙ, СВИНЕЦЬ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ.

INTENSITY OF LIPID PEROXIDAL OXIDATION PROCESSES IN RATS' BLOOD AT CONTINUOUS CADMIUM AND LEAD LOAD

S. O. Slobodian, B. V. Gutyj

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
50, Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine
bvh@ukr.net

Lead and Cadmium are attributed to thiol poisons due to their ability to bind to SH groups of proteins. The aim of the study was to study the effect of Cadmium and Lead salts on the intensity of lipid peroxidation processes in the blood of rats. The experiments were performed on male rats of the Wistar line, weighing 200–220 g, from which 4 groups of animals were formed: control and 3 experimental groups. Control rats were administered drinking water through a metal probe in a volume equivalent to the volume of aqueous solution of Cd^{2+} and Pb^{2+} salts. The animals of the first experimental group were administered a 0.029% aqueous solution of cadmium chloride at a dose of 4.0 mg / kg. Animals of the second experimental group were administered a 16.6% aqueous solution of lead acetate at a dose of 200 mg / kg. Animals of the third experimental group were administered 16.6% aqueous lead acetate solution at a dose of 100 mg / kg and 0.029% aqueous cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg / kg.

The administration of cadmium chloride and lead acetate to the body leads to the accumulation in the blood of rats of the experimental groups of both intermediate and final products of lipid peroxidation. A significant increase in the level of lipid peroxidation products was observed in the blood of rats of all three study groups from the first day of the experiment. With cadmium and lead combined, rats were found to have the highest levels of diene conjugates and TBA-active products compared to the first and second experimental groups. On the 28th day of the experiment, the level of lipid peroxidation oxidation products in the blood of rats of the third experimental group increased by 76.1%, and the level of TBA-active products - by 38.4% relative to the control group. These changes in the level of lipid peroxidation products indicate an increase in the intensity of radical formation processes. Peroxide oxidation forms, at almost all stages of its course, a number of products that result from the interaction of free radicals with each other and with biological macromolecules.

The investigations made it possible to reveal the pathogenesis of Cadmium and Lead toxic effects on the rat organism more deeply and to use these data in the development of antidote for cadmium-lead intoxication.

Keywords: TOXICOLOGY, RATS, CADMIUM, LEAD, LIPID PEROXIDAL OXIDATION.

Наявність важких металів у біосфері (воді, ґрунті, рослинах) має подвійне значення: як мікроелементи вони необхідні для нормального перебігу фізіологічних процесів, але водночас токсичні у підвищених концентраціях, що негативно позначається на здоров'ї, продуктивності тварин та якості сільськогосподарської продукції (Chalaia, 2013; Myslyva, 2013; Nutyi, 2015). Забруднення сільськогосподарських угідь важкими металами зазвичай відбувається за рахунок атмосферних викидів підприємств, відходів тваринницьких ферм і внаслідок застосування мінеральних добрив та отрутохімікатів (Gutyj et al., 2018). Токсичні хімічні елементи, що потрапляють до організму людини і тварини (з їжею, кормом) виводяться з нього повільно. В організмі їх акумулюють окремі органи і тканини (Myslyva, 2013; Gutyi et al., 2019).

Одними з впливових забруднювачів довкілля на сьогодні є Свинець та Кадмій (López Alonso & Benedit, 2002; Petrynych et al., 2017; Chen et al., 2019; Lavryshyn et al., 2019). Результати багатьох експериментальних робіт вказують на те, що в організмі ссавців Кадмій і Свинець проявляють токсичний вплив на низку органів і систем (Ali et al., 1986; Ostapuk & Gutyj, 2018; Kuras & Ersteniuk, 2019). Тривалий контакт з даними металами та їх надходження в організм, навіть у малих концентраціях, призводить до пригнічення імунітету, зниження опору інфекціям, розвитку алергічної, автоімунної та онкологічної патології (Lavryshyn & Gutyj, 2019).

Свинець та Кадмій відносять до тіолових отрут, за рахунок їх здатності зв'язуватись із SH-групами білків (Al-Azem et al., 2010). Механізм дії даних отрут заключається в пригніченні активності ензимних систем в результаті блокування карбоксильних, амінних та SH-груп білкових молекул (Lavryshyn et al., 2018; Ostapuk & Gutyj, 2019).

Відомо, що одним з проявів токсичного впливу важких металів є активація процесів ПОЛ клітинних мембран (Lavryshyn et al., 2019). Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним із найважливіших окиснювальних процесів в організмі тварин. Нині ПОЛ вважається однією з основних причин пошкодження та загибелі клітини внаслідок дії активних форм кисню (АФК) та вільних радикалів (Slobodian et al., 2019). Відомо, що будь-який достатньо потужний вплив навколишнього середовища на організм тварин може ініціювати процеси ПОЛ (Stepanchuk, 2014).

Саме тому, метою нашої роботи було вивчити вплив Кадмію і Свинцю на інтенсивність процесів пероксидного окиснення у крові щурів.

Матеріали і методи. Досліди проводились щурах-самцях лінії “Вістар”, масою 200–220 г, з яких було сформовано 4 групи тварин:

1 – контрольна група – вводили питну воду через металевий зонд в об’ємі, який еквівалентний об’єму водного розчину солей Cd^{2+} і Pb^{2+} ;

2 – дослідна група 1 – тваринам вводили 0,029 % водний розчин кадмію хлориду в дозі 4,0 мг/кг;

3 – дослідна група 2 – тваринам вводили 16,6 % водний розчин ацетату свинцю в дозі 200 мг/кг;

4 – дослідна група 3 – тваринам вводили 16,6 % водний розчин ацетату свинцю в дозі 100 мг/кг і 0,029 % водний розчин кадмію хлориду в дозі 2,0 мг/кг.

Упродовж усього експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, що був збалансований за усіма необхідними компонентами, питну воду тварини отримували без обмежень із скляних поїлок об’ємом 0,2 літра.

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Кров для біохімічних досліджень забирали під ефірним наркозом з яремної вени на 1, 7, 14, 21 та 28 доби досліді. Рівень ТБК-активних продуктів досліджували за методом Є. Н. Коробейникова (1989), рівень дієнових кон’югатів (ДК) – за методом І. Д. Стальної (1977) (Vlizlo et al., 2012). Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стюдента. Результати вважали вірогідними при $P \leq 0,05$.

Результати й обговорення. Встановлено, що при кадмієвому навантаженні в організмі щурів посилюються процеси ПОЛ, на що вказує збільшення рівня проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ, а саме дієнових, кон’югатів та ТБК-активних продуктів (табл. 1).

Вірогідне збільшення дієнових кон’югатів у крові першої дослідної групи відмічаємо на першу добу досліді, де порівняно з контрольною групою даний показник зріс на 20,6%. У подальшому у щурів даної групи рівень ДК продовжував зростати і відповідно на 7 добу зріс на 85,5%, на 14 добу – у 2,1 рази. А на 21 добу досліді рівень показника, що досліджувався, зріс до $1,015 \pm 0,023$ ум.од./мл.

Таблиця 1

Рівень продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів за кадмієвого навантаження ($M \pm m$, $n = 6$)

Показники	Групи тварин					
	контрольна	перша дослідна; доби експерименту				
		1	7	14	21	28
ДК, ум.од./мл	$0,461 \pm 0,011$	$0,556 \pm 0,013$ ***	$0,855 \pm 0,020$ ***	$0,970 \pm 0,019$ ***	$1,015 \pm 0,023$ ***	$0,779 \pm 0,016$ ***
ТБК-активні продукти, мкмоль/л	$6,41 \pm 0,10$	$7,30 \pm 0,12$ ***	$8,36 \pm 0,17$ ***	$10,05 \pm 0,24$ ***	$11,12 \pm 0,22$ ***	$8,68 \pm 0,19$ ***

Аналогічні зміни спостерігаємо і при дослідженні рівня ТБК-активних продуктів, які також зростали вже на 1 добу досліді. На 7 добу досліді рівень кінцевих продуктів ПОЛ

вірогідно зріс на 30,4 %, а на 14 добу – на 56,8 % відносно контролю. На 21 добу дослідів рівень ТБК-активних продуктів зріс до $11,12 \pm 0,22$ мкмоль/л, тоді як у контролі даний показник становив $6,41 \pm 0,10$ мкмоль/л.

При вивченні впливу свинцю на організм щурів другої дослідної групи встановлено підвищення рівня дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів на 1 добу дослідів на 19,0 і 11,7 % відносно показників контрольної групи (табл. 2). На 7 добу дослідів проміжні та кінцеві продукти ПОЛ вірогідно зросли на 76,1 і 23,6 %. На 21 добу дослідів рівень дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у крові щурів другої дослідної групи підвищився до $0,986 \pm 0,020$ ум.од./мл і $10,41 \pm 0,20$ мкмоль/л. На 28 добу дослідів рівень продуктів ПОЛ залишався високим.

Таблиця 2

Рівень продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів за свинцевого навантаження ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Групи тварин					
	контрольна	друга дослідна; доби експерименту				
		1	7	14	21	28
ДК, ум.од./мл	$0,461 \pm 0,011$	$0,549 \pm 0,011$ ***	$0,812 \pm 0,019$ ***	$0,943 \pm 0,017$ ***	$0,986 \pm 0,020$ ***	$0,732 \pm 0,016$ ***
ТБК-активні продукти, мкмоль/л	$6,41 \pm 0,10$	$7,16 \pm 0,14$ **	$7,92 \pm 0,15$ ***	$9,75 \pm 0,24$ ***	$10,41 \pm 0,20$ ***	$8,13 \pm 0,14$ ***

За сукупного застосування Кадмію і Свинцю щурам встановлено найвищий рівень дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у порівнянні з першою та другою дослідними групами (табл. 3). Вірогідне збільшення рівня продуктів ПОЛ спостерігали вже з першої доби дослідів. На 7 добу дослідів рівень дієнових кон'югатів у крові третьої дослідної групи зріс на 88,9%, а рівень ТБК-активних продуктів – на 31,8%. На 14 і 21 доби дослідів рівень продуктів ПОЛ у крові щурів за свинцево-кадмієвого навантаження був найвищим і відповідно коливався у межах дієнових кон'югатів $0,986 \pm 0,011$ і $1,026 \pm 0,021$ ум.од./мл та ТБК-активних продуктів – $10,23 \pm 0,24$ і $11,29 \pm 0,20$ мкмоль/л.

Таблиця 3

Рівень продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів за свинцево-кадмієвого навантаження ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Групи тварин					
	контрольна	третья дослідна; доби експерименту				
		1	7	14	21	28
ДК, ум.од./мл	$0,461 \pm 0,011$	$0,549 \pm 0,019$ ***	$0,871 \pm 0,022$ ***	$0,986 \pm 0,011$ ***	$1,026 \pm 0,021$ ***	$0,812 \pm 0,015$ ***
ТБК-активні продукти, мкмоль/л	$6,41 \pm 0,10$	$7,36 \pm 0,10$ ***	$8,45 \pm 0,18$ ***	$10,23 \pm 0,24$ ***	$11,29 \pm 0,20$ ***	$8,87 \pm 0,16$ ***

На 28 добу дослідів рівень проміжних продуктів ПОЛ у крові щурів третьої дослідної групи зріс на 76,1 %, а рівень ТБК-активних продуктів – на 38,4 % відносно показників контрольної групи.

ВИСНОВКИ

Введення в організм солей Кадмію та Свинцю призводить до нагромадження як проміжних, так і кінцевих продуктів ПОЛ. Дані зміни рівня продуктів ПОЛ вказують про посилення інтенсивності процесів радикалоутворення. Пероксидне окиснення практично на всіх етапах свого перебігу утворює ряд продуктів, які є результатом взаємодії вільних радикалів як між собою, так із біологічними макромолекулами.

Перспективи досліджень. У подальшому планується вивчити вплив Кадмію і Свинцю на систему антиоксидантного захисту організму щурів.

References

- Al-Azemi, M., Omu, F.E., Kehinde, E.O., Anim, J.T., Oriowo, M.A., & Omu, A.E. (2010). Lithium protects against toxic effects of cadmium in the rat testes. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 27 (8), 469–476. doi: 10.1007/s10815-010-9426-3.
- Ali, M.M., Murthy, R.C., & Chandra, S.V. (1986). Developmental and longterm neurobehavioral toxicity of low-level in utero Cd exposure in rats. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 8 (5), 463–468. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3785508>.
- Chalaia, O.S. (2013). Vplyv riznykh rivniv kadmiiu ta svyntsiu v ratsioni molodniaku svynei na produktyvnist i zabiini yakosti. *Tavriyskiy naukoviy visnyk*, 83, 196–202 [in Ukrainian].
- Chen, Q.Y., DesMarais, T., & Costa, M. (2019). Metals and Mechanisms of Carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 59 (1), 537–554. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021031.
- Gutyi, B., Ostapiuk, A., Kachmar, N., Stadnytska, O., Sobolev, O., Binkevych, V., Petryshak, R., Petryshak, O., Kulyaba, O., Naumyuk, A., Nedashkivsky, V., Nedashkivska, N., Magrelo, N., Golodyuk, I., Nazaruk, N., & Binkevych, O. (2019). The effect of cadmium loading on protein synthesis function and functional state of laying hens' liver. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9 (3), 222–226.
- Gutyj, B.V., Gufriy, D.F., Binkevych, V.Y., Vasiv, R.O., Demus, N.V., Leskiv, K.Y., Binkevych, O.M., & Pavliv, O.V. (2018). Influence of cadmium loading on glutathione system of antioxidant protection of the bullocks' bodies. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 20 (92), 34–40. doi: 10.32718/nvlvet9207
- Hutyi, B.V. (2015). Aktyvnist systemy antyoksydantnoho zakhystu orhanizmu bychkiv za hostroho kadmiiievoho toksykozu. *Naukoviy visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnologii im. Gzhytskoho*, 17, 1 (1), 31–36. Rezhym dostupu: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2015_17_1\(1\)_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2015_17_1(1)_8) [in Ukrainian].
- Kuras, L.D., & Ersteniuk, H.M. (2019). Pokaznyky enerhetychnoho obminu v sertsevi tkanyni eksperymentalnykh tvaryn za umov vplyvu kadmii khlorydu. *Medychna ta klinichna khimiia*, 21 (1), 25–31. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medkh_2019_21_1_6 [in Ukrainian].
- Lavryshyn, Y.Y., & Gutyj, B.V. (2019). Protein synthesise function of bulls liver at experimental chronic cadmium toxicity. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 21 (94), 92–96. doi: 10.32718/nvlvet9417.
- Lavryshyn, Y.Y., Gutyj, B.V., Palyadichuk, O.R., & Vishchur, V.Y. (2018). Morphological blood indices of bulls in experimental chronic cadmium toxicosis. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 20 (88), 108–114. doi: 10.32718/nvlvet8820.
- Lavryshyn, Y.Y., Gutyj, B.V., Paziuk, I.S., Levkivska, N.D., Romanovych, M.S., Drach, M. P., & Lisnyak, O. I. (2019). The effect of cadmium loading on the activity of the enzyme link of the glutathione system of bull organism. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 21 (95), 107–111. doi: 10.32718/nvlvet9520.
- López Alonso, M., & Bénédict, J.L. (2002). Interactions Between Toxic and Essential Trace Metals in Cattle from a Region with Low Levels of Pollution. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42 (2), 165–172. doi: 10.1007/s00244-001-0012-7.

Marushko, Yu.V., Tarynska, O.L., Olefir, T.I., Fus, S.V. (2010). Kadmi: nakopychennia ta vplyv na orhanizm dytyny. Medychna nauka Ukrainy, 3, 62–67. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnm_u_2010_3_12 [in Ukrainian].

Myslyva, T.M. (2013). Svynets i kadmi u hruntakh ahrolandshaftiv Zhytomyrskoho Polissia. Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Serii: Ahronomiia i biolohiia, 3, 43–50. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_agro_2013_3_13 [in Ukrainian].

Myslyva, T.M. (2013). Svynets i kadmi u hruntakh pryrodnykh i ahrolandshaftiv Zhytomyrskoho Polissia. Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekolohichnoho universytetu, 1(1), 36–49. Rezhym dostupu: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2013_1\(1\)_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2013_1(1)_8) [in Ukrainian].

Ostapyuk, A.Y., & Gutyj, B.V. (2018). Influence of cadmium loading on morphological parameters of blood of the Laying Hens. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 20 (88), 48–52. doi: 10.32718/nvlvet8808.

Ostapyuk, A.Y., & Gutyj, B.V. (2019). Influence of cadmium sulfate at different doses on the functional state of the liver of laying chicken. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 21 (94), 103–108. doi: 10.32718/nvlvet9419.

Petrynych, V.V., Vlasyk, L.I., & Petrynych, O.A. (2017). Svynets: toksykolohichni, hihienichni ta biolohichni aspekty. Klinichna ta eksperymentalna patolohiia, 16 (2), 97–102. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/kep_2017_16_2_22 [in Ukrainian].

Slobodian, S.O., Gutyj, B.V., & Leskiv, K.Y. (2019). The level of lipid peroxidation products in the rats blood under prolonged cadmium and lead loading. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences, 2 (3), 15–18. doi: 10.32718/ujvas2-3.04.

Stepanchuk, V.V. (2014). Ontohenetychni osoblyvosti tsyrkadiannykh khronorytmiv vilnoradykalnoho homeostazu za umov svyntsevoho otruiennia. Klinichna ta eksperymentalna patolohiia, 13 (2), 131–133. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/kep_2014_13_2_33 [in Ukrainian].

Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., & Ratych, I.B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarii medytsyni. Dovidnyk. za red. Vlizla, V.V. Lviv. SPOLOM [in Ukrainian].