



Вплив комплексу біопротекторів на динаміку активності амінотрансфераз у сироватці крові за умов окремої та одночасної дії свинцю і фтору (експериментальні дослідження)

Ю. В. ФЕДОРЕНКО

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна

E-mail: lnmu.fedorenkov.i@gmail.com

Резюме. Свинець і фтор окремо та одночасно надходять в організм людини з водою, харчовими продуктами, атмосферним повітрям і порушують метаболічні процеси у тканині печінки. Послідовне застосування комплексу біопротекторів, що зменшують негативну дію свинцю і фтору, вивчено недостатньо.

Мета роботи – дослідити динаміку змін активності аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази в сироватці крові лабораторних тварин за умов тривалої окремої та одночасної дії свинцю і фтору без застосування біопротекторів та під час послідовного додавання пектину, пектину і кальцію та комплексу пектину, кальцію й антиоксидантів до стандартного раціону тварин.

Матеріали та методи. На білих щурах проведено 4 серії досліджень, кожна – за схемою ортогонального планування 22. Водні розчини $Pb(NO_3)_2$ і NaF окремо та одночасно вводили у шлунок протягом 30 днів: у I серії – без біопротекторів, у II серії – на фоні пектину, у III серії – пектину і кальцію, у IV серії – комплексу пектину, кальцію та антиоксидантів – вітамінів С і Е, β -каротину, селену. На 3-тю, 15-ту і 30-ту доби в I і II серіях дослідів та 30-ту добу в III і IV серіях дослідів у сироватці крові тварин визначили активність аланін- та аспартатамінотрансферази.

Результати. Окрема та одночасна дія свинцю і фтору призводить до підвищення активності аланін- та аспартатамінотрансфераз у сироватці крові. Максимальні зміни спостерігалися наприкінці дослідів. Протекторна роль пектину за умов довготривалої дії фтору та одночасної дії свинцю і фтору виявилася недостатньо ефективною. Одночасне вживання кальцію і пектину значно знижувало приріст активності амінотрансфераз, що характеризує покращання метаболічного і функціонального стану печінки. Комплекс біопротекторів відновив активність ферментів у сироватці крові.

Висновки. Комплекс пектину з кальцієм та антиоксидантами можна вважати оптимальним засобом корекції активності амінотрансфераз у сироватці крові за умов тривалої окремої та одночасної дії свинцю і фтору на організм.

Ключові слова: свинець, фтор, сироватка крові, амінотрансферази, пектин, кальцій, антиоксиданти, окрема й одночасна дія.

Impact of a Bioprotective Complex on the Time Course of Aminotransferase Activity in Blood Serum Under Separate and Simultaneous Exposure to Lead and Fluoride (Experimental Studies)

Yu. V. FEDORENKO

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

E-mail: lnmu.fedorenko.i@gmail.com

Abstract. Lead and fluoride enter the human body individually and simultaneously through water, food, and air, disrupting metabolic processes in liver tissue. The sequential application of a bioprotective complex that reduce the negative effects of lead and fluoride has been insufficiently studied.

The aim of the study is to investigate the changes over time in the activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the blood serum of laboratory animals under prolonged separate and simultaneous exposure to lead and fluoride, without application of bioprotective agents and during the sequential addition of pectin, pectin with calcium, and a complex of pectin, calcium, and antioxidants to the standard animal diet.

Materials and Methods. Four clinical trial series were conducted on white rats, each following an orthogonal design 2^2 . Aqueous solutions of $Pb(NO_3)_2$ and NaF were administered orally separately and simultaneously over 30 days: in the first series without bioprotective agents, in the second with pectin, in the third with pectin and calcium, and in the fourth with a complex of pectin, calcium, and antioxidants – C, E, and β -carotene vitamins, and selenium. The activity of alanine and aspartate aminotransferases was measured in blood serum on days 3, 15, and 30 in the first and second series of experiments, and on day 30 in the third and fourth series.

Results. Separate and simultaneous oral administration of lead and fluoride to white rats leads to increased activity of alanine and aspartate aminotransferases in blood serum. The maximum changes were observed at the end of the experiment. The protective role of pectin alone under long-term fluoride exposure and simultaneous exposure to lead and fluoride was not sufficiently effective. Concurrent intake of calcium and pectin significantly reduced the increase in transaminase activity, indicating an improvement in the metabolic and functional state of the liver. The application of the bioprotective complex restored the aminotransferase activity in blood serum.

Conclusions. The complex of pectin with calcium and antioxidants can be considered an optimal means of correcting aminotransferase activity in blood serum under prolonged separate and simultaneous exposure to lead and fluoride.

Key words: lead, fluoride, blood serum, aminotransferase, pectin, calcium, antioxidants, separate and simultaneous exposure.

Надходження шкідливих хімічних речовин природного й антропогенного походження в організм може спричинити порушення нормальних фізіологічних процесів життєдіяльності людини і сприяти розвитку дезадапційних станів, що належить до актуальних проблем екологічної фізіології. Одночасне надходження хімічних речовин є одним із реальних факторів ризику виникнення хронічної ксеногенної інтоксикації й екологічно залежної патології. Свинець і фтор поширені забруднювальні речовини довкілля і харчових продуктів [1, 2], потрапляють в організм людини інгаляційним та пероральним шляхом (з харчовими продуктами, водою) [3–5]. Відомо, що свинець характеризується високими кумулятивними властивостями, політропністю дії, уражає практично всі органи і системи організму [1, 3]. Фтор у дозі більше ніж 4 мг/добу є поліферментною отрутою [6].

Поміж заходів зменшення хімічної небезпеки на організм в умовах сучасного зміненого довкілля є медико-біологічна профілактика (корекція) порушень адаптаційно-компенсаторних процесів за допомогою фізіологічно прийнятних, нешкідливих та ефективних засобів [7]. Застосування пектинів, кальцію, селену, вітамінів С, Е, В₆ запобігає або частково усуває негативну дію свинцю [8]. Вживання кальцію сприяє зменшенню токсичної дії фтору [2]. Захисну роль біопротекторів за умов одночасної дії свинцю і фтору не вивчали.

Мета роботи – дослідити динаміку змін активності аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази у сироватці крові лабораторних тварин за умов тривалої окремої та одночасної дії свинцю і фтору без застосування біопротекторів та під час послідовного додавання пектину, пектину і кальцію та комплексу пектину, кальцію й антиоксидантів до стандартного раціону тварин.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводили на 144 статевозрілих білих щурах лінії Wistar масою тіла 170–200 г. Дотримувалися вимог біоетики Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986), положень директиви 2010/63/EU Європейського союзу про захист тварин, яких використовують для наукових цілей, та рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV, 2006). Водні розчини Pb(NO₃)₂ і NaF у дозах 36 мг/кг маси тіла і 10 мг/кг маси тіла відповідно вводили тваринам щоденно натще у шлунок протягом 30 діб окремо та одночасно. Особливістю моделювання комбінованого впливу було введення зазначених доз речовин з інтервалом 1,5–2 години у послідовності «свинець – фтор» для запобігання утворення PbF₂ *in vitro*. Проведено 4 серії дослідів. У I серії досліджували окрему та одночасну дію свинцю і фтору без додавання біопротекторів, у II серії дослідів вивчали протекторну роль пектину, у III серії – пектину і кальцію, у IV – комплексу пектину, кальцію та антиоксидантів. У кожній серії досліди було сплановано за схемою ортогонального плану 2², тварини були розподілені на 4 групи: одна група отримувала свинець, друга – фтор, третя – свинець і фтор, четверта (контроль) – питну воду й відповідний біопротектор. До стандартного раціону, який отримували тварини у віварії, послідовно додавали: яблучний пектин у розрахунку 1 г/кг маси тіла тварин, офіційний глюконат кальцію (порошок) – 225 мг кальцію на кг маси тіла, антиоксиданти у дозах на кг маси тіла – вітамін С – 100 мг, β-каротин – 10 мг, вітамін Е – 40 мг, селен – 50 мкг (склад капсули препарату тріовіту). Лабораторних тварин утримували за стандартних умов віварію з вільним доступом до води. На 3-тю, 15-ту і 30-ту доби (I і II серії дослідів) та 30-ту добу (III і IV серії дослідів) у сироватці крові тварин визначили активність аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) уніфікованим методом з динітрофенілгідрaziном, використовуючи набори Біо-Ла-Тест «Лахема». Евтаназію тварин проводили декапітацією після тіопенталового наркозу. Статистичне опрацювання результатів проводили загальноприйнятим методом найменших квадратів, визначали середні арифметичні значення показників (M), стандартні відхилення (m), ступінь вірогідності відмінностей між показниками контрольної і дослідної груп за t-критерієм Стьюдента. Відмінності вважалися вірогідними за умов значення p < 0,05 [9]. Використовували програму Microsoft Excel 9. Отримані результати представлені в табличній формі у вигляді M ± m.

Результати та їх обговорення. Індивідуальна та одночасна дія свинцю і фтору спричинила вірогідне підвищення активності ферментів АлАТ і АсАТ у сироватці крові протягом усієї тривалості дослідів. На 3-тю добу дослідів свинець призвів до підвищення активності АлАТ на 89,6 %, АсАТ – на 30,8 %, фтор – на 39,6 % та 21,3 %, одночасна дія речовин – на 114,9 % та 49,8 % проти контролю відповідно. До 30-ї доби дослідів актив-

ність ферментів змінювалася хвилеподібно з деяким зниженням на 15-ту добу проти третьої доби дослідів і значним підвищенням на 30-ту добу. Чутливішим виявилася активність АлАТ і на 30-ту добу, приріст її активності за умов дії свинцю становив 149 %, фтору – 80,1 %, сумісної дії свинцю і фтору – 318,6 % проти контролю. Активність АсАТ відповідно підвищилася на 55,8 %, 40,1 % та 132,8 % (табл.).

Таблиця

Активність АлАТ і АсАТ у сироватці крові білих щурів (M ± m) на 30-ту добу дослідів за умов щоденного впливу окремої та одночасної дії свинцю і фтору з послідовним застосуванням пектину, пектину і кальцію, комплексу пектину, кальцію та антиоксидантів (тріовіт)

Свинець, фтор і біопротектори	АлАТ, ммоль/л год.	АсАТ, ммоль/л год.
Контроль	1,56 ± 0,09	2,62 ± 0,16
Контроль + пектин	1,60 ± 0,10	2,71 ± 0,18
Контроль + пектин + кальцій	1,88 ± 0,11	2,94 ± 0,15
Контроль + пектин + кальцій + антиоксиданти (тріовіт)	1,55 ± 0,08	2,69 ± 0,13
Свинець Pb(NO ₃) ₂	3,89 ± 0,24 ^a	4,19 ± 0,25 ^a
Свинець + пектин	2,25 ± 0,20 ^{ab}	3,79 ± 0,25 ^a
Свинець + пектин + кальцій	2,47 ± 0,18 ^{ab}	3,66 ± 0,16 ^a
Свинець + пектин + кальцій + антиоксиданти (тріовіт)	1,47 ± 0,13 ^{bed}	2,93 ± 0,10 ^{bed}
Фтор	2,81 ± 0,11 ^a	3,67 ± 0,26 ^a
Фтор + пектин	2,61 ± 0,17 ^a	3,56 ± 0,25 ^a
Фтор + пектин + кальцій	2,38 ± 0,18 ^{ab}	3,41 ± 0,10 ^a
Фтор + пектин + кальцій + антиоксиданти (тріовіт)	1,73 ± 0,10 ^{bed}	2,60 ± 0,13 ^{bed}
Свинець + фтор	6,53 ± 0,47 ^a	6,10 ± 0,52 ^a
Свинець + фтор + пектин	4,48 ± 0,46 ^{ab}	4,64 ± 0,24 ^{ab}
Свинець + фтор + пектин + кальцій	2,77 ± 0,16 ^{abd}	3,80 ± 0,18 ^{abd}
Свинець + фтор + пектин + кальцій + антиоксиданти (тріовіт)	1,78 ± 0,10 ^{bed}	2,72 ± 0,20 ^{bed}

Примітка: вірогідно порівняно з: а – з контролем; b – з групою, що не отримувала біопротекторів; с – з групою, що отримувала пектин; d – з групою, що отримувала пектин і кальцій.

Запобігають всмоктуванню токсичних речовин та прискорюють їхнє виведення з організму ентеросорбенти, комплексоутворювальні сполуки, зокрема рослинного походження – пектини [8]. Додавання пектину до раціону тварин протягом 3-х діб не змінило активності ферментів АлАТ і АсАТ порівняно з I серією дослідів. На 15-ту добу дослідів активність ферментів хоча й залишалась підвищеною проти контролю, проте проти третьої доби дослідів дещо знизилася. На 30-ту добу дослідів рееструвалися максимальні зміни. Пектин сприяв зниженню активності ферментів передусім за умов окремої дії свинцю й одночасної дії свинцю і фтору. Захисна роль пектину стосовно дії фтору за досліджуваними ефектами практично не виявлена. Додавання пектину і кальцію одночасно до раціону тварин значно покращило перебіг метаболічних процесів. Інтенсивність зростання активності ферментів загальмувалася (табл.). Кальцій сприяв зниженню активності ферментів порівняно з додаванням лише пектину більшою мірою у разі надходження фтору і сумісного надходження фтору і свинцю.

Відомо, що і свинець, і фтор викликають оксидативний стрес. Корекція таких порушень здійснюється за допомогою антиоксидантів [10, 11]. Додавання до раціону тварин одночасно пектину, кальцію та вітамінів С, Е, β-каротину і селену відновило активність амінотрансфераз у сироватці крові за умов уведення свинцю [12]. Активність АлАТ залишилася дещо підвищеною при дії фтору й одночасній дії речовин, відповідно на 11,6 % і 14,8 %, активність АсАТ була на рівні контролю. Антиоксиданти сприяли активації метаболічних процесів. Раніше у нашій роботі [13] виявлено,

що характер комбінованої дії свинцю і фтору в динаміці без застосування біопротекторів «змінюється від адитивності та незалежної дії свинцю до взаємозалежного односпрямованого підсилення ефектів, що прискорює виникнення фази зриву адаптації». Додавання біопротекторів до раціону спричинило зниження односпрямованого ефекту й тенденцію до взаємозалежного послаблення свинцю і фтору. Надалі дослідження передбачають виявлення кореляційних зв'язків між активністю амінотрансфераз у сироватці крові та перекисним окисненням ліпідів, концентрацією свинцю і фтору в біосередовищах організму за умов їхньої окремої та одночасної дії.

Висновки. Окреме та одночасне пероральне уведення нітрату свинцю в дозі 36 мг/кг маси тіла і фториду натрію в дозі 10 мг/кг маси тіла білим щурам протягом 30 днів призводить до підвищення активності аланін- і аспаратамінотрансфераз у сироватці крові, що свідчить про гепатотоксичну дію речовин. Максимальні зміни спостерігалися наприкінці досліду. Хвилеподібні зміни досліджуваних ефектів відображають адаптаційно-компенсаторні процеси в організмі. На початку досліду підвищення активності ферментів можна пов'язати з реакцією активації адаптаційного процесу з переходом у реакцію резистентності, підвищення рівня їх активності наприкінці досліду свідчить про порушення функціонального стану печінки. Послідовне додавання до раціону тварин пектину, кальцію та антиоксидантів засвідчило, що протекторна роль лише пектину за довготривалої дії фтору та одночасної дії свинцю і фтору виявилася недостатньо ефективною. Вживання кальцію і пектину значно знижувало приріст активності трансаміназ, що характеризує покращання метаболічного і функціонального стану печінки. Застосування комплексу біопротекторів – пектину, кальцію та вітамінів С, Е, β-каротину і селену практично відновило активність амінотрансфераз у сироватці крові, що характеризує покращання адаптивно-компенсаторних процесів у тканині печінки. Отже, комплекс пектину з кальцієм та антиоксидантами можна вважати оптимальним засобом корекції активності амінотрансфераз у сироватці крові за умов тривалої окремої та одночасної дії свинцю і фтору на організм.

Конфлікт інтересів відсутній.

ПОСИЛАННЯ

1. Environmental Health Criteria. 165. Inorganic Lead. Geneva : WHO, 1995; 251 p. :<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37241/9241571659-eng.pdf>
2. Environmental health criteria. 227. Fluorides. Geneva : WHO, 2002; 268 p. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42415/WHO_EHC_227.pdf?sequence=1&isAllowed=y
3. Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М., Луговський С. П., Чекман І. С., Купрій В. О., Дорошенко А. М. Свинць – небезпечний поллютант. Проблема стара і нова // Український журнал сучасних проблем токсикології. [Trakhtenberg IM, Dmytrukha NM, Lugovskiy SP, Chekman IS, Kuprii VO, Doroshenko AM. Lead is a dangerous pollutant. The old and new problem. Ukrainian Journal of Modern Toxicological Aspects]. 2015;3:14–24. <http://protox.medved.kiev.ua/index.php/ua/issues/2015/3/item/450-lead-is-a-dangerous-pollutant-the-old-and-new-problem>
4. Lubojanski A, Piesiak-Panczyszyn D, Zakrzewski W, Dobrzynski W, Szymonowicz M, Rybak Z, et al. The Safety of Fluoride Compounds and Their Effect on the Human Body-A Narrative Review. Materials (Basel). 2023 Jan 31;16(3):1242.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36770248/> doi: 10.3390/ma16031242. PMID: 36770248; PMCID: PMC9920376.
5. Guth S, Hüser S, Roth A, Degen G, Diel P, Edlund K, et al. Toxicity of fluoride: critical evaluation of evidence for human developmental neurotoxicity in epidemiological studies, animal experiments and in vitro analyses. Arch Toxicol. 2020 May;94(5):1375-1415. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32382957/> doi: 10.1007/s00204-020-02725-2. Epub 2020 May 8. PMID: 32382957; PMCID: PMC7261729.
6. Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. Chem Biol Interact. 2010 Nov 5;188(2):319-33. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20650267/> doi: 10.1016/j.cbi.2010.07.011. Epub 2010 Aug 3. PMID: 20650267.
7. Гжегоцький М. Р. Концептуальна модель профілактичної медицини з позицій фізіології людини (огляд літератури та власних досліджень) // Журнал АМН України. [Grzehotskyi MR. Conceptual model of preventive medicine from the standpoint of human physiology (literature review and own research). Journal of the Academy of Medical Sciences of Ukraine].2003;9(2):312-324.

8. Біопротекторна функція розвитку екозалежної патології у критичних верств населення індустріальних міст: методичні рекомендації. [Bioprotector function of development of ecologically dependent pathology in critical layers of the population of industrial cities: methodological recommendations]. K., 2010; 20 с.

9. Антомонов М. Ю., Коробейніков Г. В., Хмельницька І. В., Харковлюк-Балакіна Н. В. Математичні методи обробки та моделювання результатів експериментальних досліджень. Київ: Олімпійська література [Antomonov MY, Korobeinikov HV, Khmelnytska IV, Kharkovliuk-Balakina NV. Mathematical methods of processing and modeling the results of experimental studies. Kyiv: Olimpiiska literatura]. 2021; 216 с.

10. Bagmut I, Kolisnyk I, Titkova A, Babiy L, Filipchuk S. The antioxidant system enzymes' activity in rats' brain, intoxicated with sodium fluoride in subtoxic doses. Arch Balkan Med Union. 2018;53(4):506-11. doi: 10.31688/ABMU.2018.53.4.03.

11. Резніков О. Г., Полумбрик О. М., Бальон Я. Г., Полумбрик М. О. Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини // Вісник НАН України. [Reznikov OH, Polumbryk OM, Balion YH, Polumbryk MO. Pro- and antioxidant systems and pathological processes in humans. Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.]. 2014;10:7-29. <http://visnyk-nanu.org.ua/ojs/index.php/v/article/view/1770doi:https://doi.org/10.15407/visn2014.10.017>

12. Федоренко Ю. В. Динаміка змін активності амінотрансфераз у сироватці крові білих щурів за умов дії свинцю на фоні застосування біопротекторів // Зб. матеріалів VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» 16 листопада 2023 р. Харків – Україна. [With scientific and practical internet-conference for international participation «Mechanisms of pathological processes development and diseases, their pharmacological correction»] 16 листопада 2023 р. Харків – Україна:481-2.<https://pat.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2023/11/zbirnyk-materialiv-konferentsii-16.11.2023.31.03.pdf>

13. Федоренко Ю. В. Метаболічний і функціональний стан печінки за умов комбінованої дії свинцю і фтору на фоні застосування біопротекторів. Єдине здоров'я та проблеми харчування. [Fedorenko YuV. Metabolic and functional state of the liver at the combined effect lead and fluorine on the background of bioprotectors application One Health and Nutrition Problems]. 2018;1:53-60. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Pkh_2018_2_7 doi: 10.33273/2663-9726-2018-49-2-28-35.

Стаття надійшла до редколегії 12.06.2024