

БИОХИМИЯ

УДК 577.3

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ
ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И КОРРЕКЦИИ ПЕКТИНОМ

Л.В. Кузьмичева*, Е.А. Лопатникова*, Г.В. Максимов

(кафедра биофизики; e-mail: gmaksimov@mail.ru)

В работе представлены результаты изменений биохимических показателей (аланинаминотрансферазы (АСТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержания общего белка, мочевины, билирубина), свидетельствующих о наличии и типе поражения печени при свинцовой интоксикации и при последующей коррекции пектином.

Ключевые слова: интоксикация, свинец, пектин, патология печени, комплексообразование.

Тяжелые металлы являются одним из самых распространенных факторов загрязнения окружающей среды. Известно, что свинец относится к ядам политропного действия, который способен аккумулироваться в организме, вызывая широкий спектр негативных эффектов: поражение кроветворной, нервной, пищеварительной, выделительной и других систем [1, 2]. Среди профессиональных заболеваний одно из ведущих мест занимают нозологии, связанные с нарушением функции печени [3]. За последние 50 лет продолжающееся поступление ксенобиотиков в окружающую среду привело к увеличению количества регистрируемых заболеваний печени в 6—8 раз [4, 5].

Арсенал лекарственных средств, применяемых для лечения профессиональных заболеваний печени, представлен препаратами, регулирующими процессы биотрансформации в гепатоцитах [6], антиоксидантами [7], иммуномодулирующими средствами [8] и препаратами, обладающими сорбционными и детоксицирующими свойствами [9, 10]. Многие средства обладают низкой эффективностью при лечении хронической патологии печени и малоприменимы для длительного применения с профилактическими целями. Все это создает предпосылки для поиска новых соединений, обладающих биологической активностью и проявляющих гепатопротекторные свойства [11]. В настоящее время в качестве одной из перспективных групп природных соединений, обладающих детоксицирующими, сорбционными и умеренными антиоксидантными свойствами, рассматриваются некрахмальные полисахариды, такие как пектины, альгинаты, каррагинаны, фукоиданы и хитозан [12—14]. Некрахмальные полисахариды обладают комплексом благоприятных эффектов на организм человека, обусловленных их способностью связывать и выводить из организма экзогенные и эндогенные токсические

вещества и уменьшать проявления интоксикаций различного генеза [15]. Полисахариды могут применяться практически без ограничений, не вызывая заметных нежелательных реакций [16].

В настоящее время представляет интерес изучение эффективности действия пектиновых веществ разных видов, так как они обладают способностью выведения тяжелых металлов из организма. Однако механизмы связывания и экскреции ксенобиотиков с пектинами остаются недостаточно выясненными, что существенно снижает возможности их практического применения в целях профилактического и немедикаментозного лечения.

Цель исследования — изучить биохимические показатели крови, характеризующие функциональные изменения печени при действии ацетата свинца и после коррекции свеколовичным пектином.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись белые беспородные половозрелые крысы-самцы массой 180—200 г. Животных делили на 3 группы: 1-я — контрольная, рацион животных состоял из зерна и воды; 2-я — помимо обычного кормления зерном крысы получали раствор ацетата свинца (100 мг/кг) в течение 7, 14 и 21 сут; 3-я — после соответственного срока кормления зерном и свинцом крысы получали водный раствор свеколовичного пектина (100 мг/кг в сутки) также в течение 7, 14 и 21 сут. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Материалом для исследования служила кровь крыс. В плазме крови крыс по наборам «Витал-Европа» определяли активность аланинаминотрансферазы (АСТ), аспартата-

* ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск.

минотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание общего белка, мочевины и билирубина. Интенсивность свободнорадикального окисления (СРО) и общую антиоксидантную активность (АОА) в плазме крови определяли хемилюминесцентным методом. Статистическую обработку результатов, включая корреляционный анализ, проводили общепринятым методом.

Результаты исследования

В результате проведенных исследований в плазме крови 1-й группы подопытных животных, находившихся на стандартном рационе вивария, активность АСТ, АЛТ и ЩФ составляет $159,07 \pm 0,63$ Е/л, $115,81 \pm 0,46$ Е/л и $1124,83 \pm 21,24$ Е/л соответственно. Коэффициент де Ритиса равен $1,37 \pm 0,01$. Интенсивность СРО равна $0,09 \pm 0,01$ имп/с, при этом АОА соответствует $32,79 \pm 0,35$ ед/мл. Концентрация общего билирубина в плазме крови контрольной группы равна $1,00 \pm 0,24$ мкмоль/л, связанного или конъюгированного билирубина — $0,32 \pm 0,03$ мкмоль/л. Содержание общего белка в плазме крови животных составляет $103,78 \pm 1,47$ г/л, мочевины — $9,37 \pm 0,47$ ммоль/л. Эти значения были использованы в качестве контроля, который обладает определенной вариабельностью в пределах различных популяций крыс.

После введения в организм крыс (2-я группа) ацетата свинца активность АЛТ и АСТ в плазме крови возрастает прямо пропорционально времени воздействия на организм животных и достигает наибольшего увеличения к 21-м сут соответственно на 36,6% и 51,4% по сравнению с контрольной группой. Коэффициент де Ритиса повышается на 10,9%. Наблюдается заметная положительная корреляция между активностями АСТ и АЛТ в плазме крови крыс на 14-е сут интоксикации ацетатом свинца ($r = 0,83$, $p < 0,001$).

Содержание общего белка и мочевины в плазме крови крыс уменьшается по мере длительности свинцовой интоксикации. Так, через 7 сут содержание общего белка снижается на 10,4%, 14 сут — на 20,8, 21 сут — на 26,1%. Содержание мочевины в плазме крови крыс снижается: на 7-е сут — на 19,0%, 14-е сут — 29,2, 21-е сут — 34,3% по отношению к контрольным значениям.

В плазме крови животных активность ЩФ возрастает: на 7-е сут —

на 16,1%, на 14-е сут — 26,4, на 21-е сут — 32,2% по отношению к контролю. Наблюдается сильная отрицательная корреляционная связь между активностью ЩФ и содержанием мочевины в плазме крови после свинцовой интоксикации через 21 сут ($r = -0,85$, $p < 0,001$) (рис. 1).

Установлено, что концентрация как общего, так и связанного билирубина в плазме крови крыс увеличивается по отношению к контрольной группе животных (рис. 2). Так, на 7-е сут интоксикации концентрация общего билирубина возрастает в 2,1 раза, на 14-е сут — в 3,2 раза, на 21-е сут — в 7,8 раза. Концентрация конъюгированного билирубина на 7-е сут увеличивается в 1,9 раза, на 14 сут — в 3 раза, на 21 сут — в 5,3 раза.

Возрастает также и интенсивность свободнорадикального окисления липидов плазмы крови. Так, уже на 7-е сут свинцовой интоксикации интенсивность

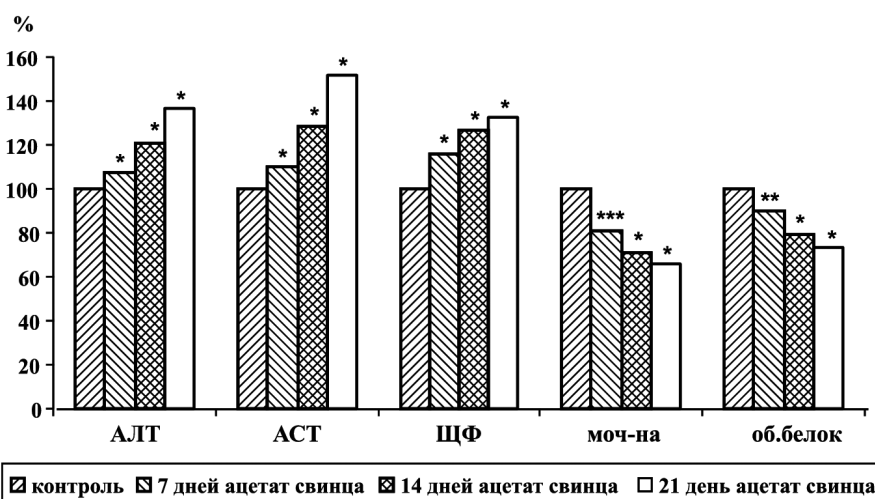


Рис. 1. Динамика активности ферментов АЛТ, АСТ, ЩФ, содержания мочевины, общего белка в плазме крови крыс при свинцовой интоксикации. Статистическая значимость различий относительно контрольной группы: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,05$

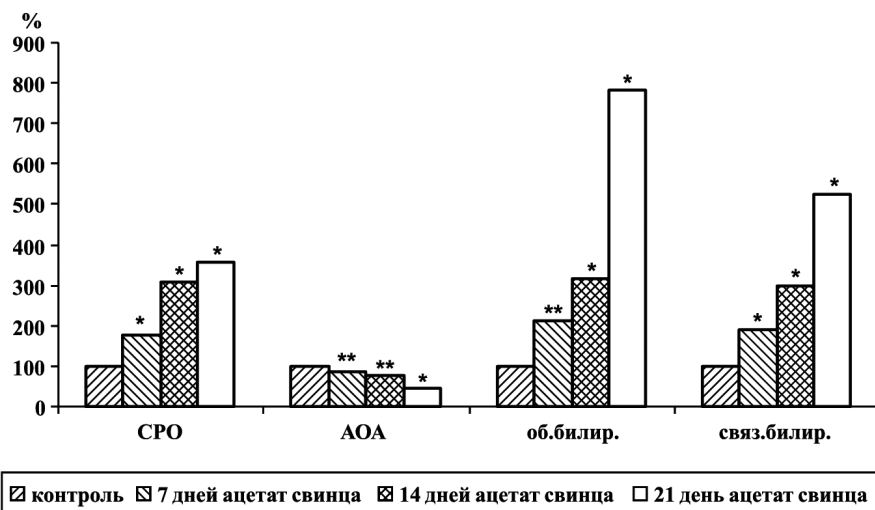


Рис. 2. Динамика интенсивности СРО, АОА, концентрации общего и связанного билирубина в плазме крови крыс при свинцовой интоксикации. Статистическая значимость различий относительно контрольной группы: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,01$

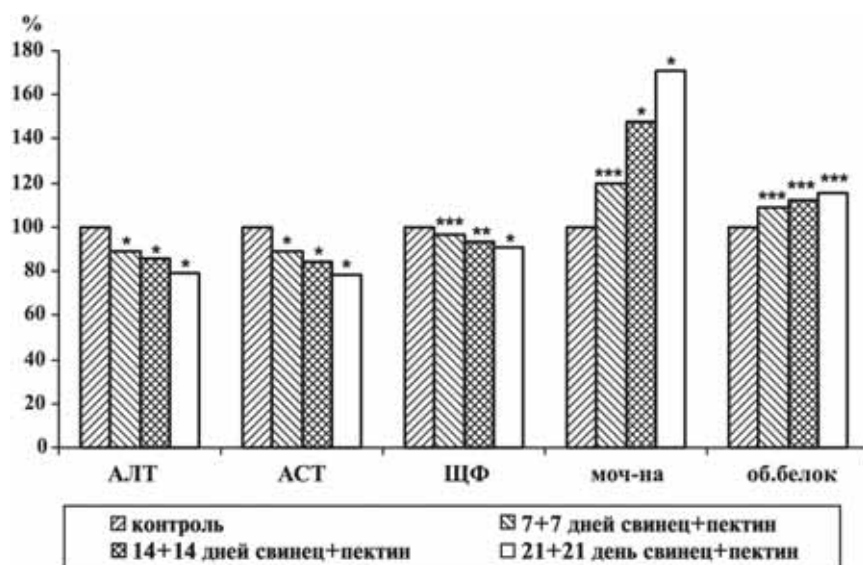


Рис. 3. Динамика активности АЛТ, АСТ, ЩФ, содержания мочевины, общего белка в плазме крови крыс после коррекции пектином. Статистическая значимость различий относительно экспериментальной группы 1: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,05$

увеличивается в 1,8 раза, через 14 сут — в 3,1 раза, через 21 сут — в 3,6 раза. АОА при этом уменьшается: через 7 сут — на 13,7%, 14 сут — на 24,3%, 21 сут — на 56,8% по сравнению с контрольной группой. Наблюдается сильная обратная корреляция между уровнями СРО и АОА на 14-е сут воздействия ацетата свинца ($r = -0,88$, $p < 0,001$).

Высокая степень корреляции обнаружена между концентрацией общего билирубина и содержанием общего белка в плазме крови крыс на 14-е сут после воздействия ацетатом свинца ($r = -0,95$, $p < 0,001$). Средняя положительная корреляция выявлена между концентрацией общего билирубина и активностью ЩФ в плазме крови крыс при свинцовой интоксикации через 21 сут ($r = 0,65$, $p < 0,001$), что свиде-

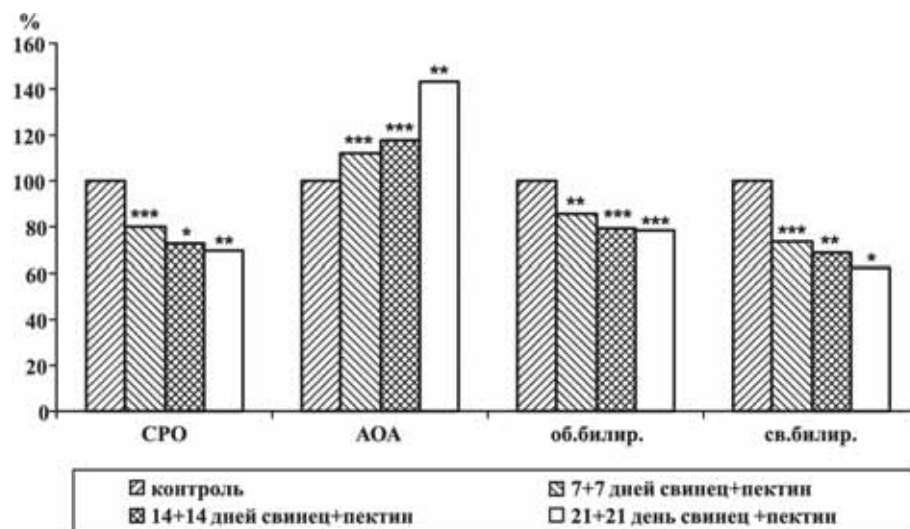


Рис. 4. Динамика СРО, АОА, ОБ и СБ в плазме крови крыс после коррекции пектином. Статистическая значимость различий относительно экспериментальной группы 1: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,05$

тельствует о наличии холестаза (блокада оттока желчи).

В качестве детоксиканта растительного происхождения мы применяли свекловичный пектин со степенью этерификации $34,3 \pm 0,60$, выделенный из сухого жома сахарной свеклы по технологии, условия которой разработаны на кафедре биохимии Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (Н.В. Альба, Г.С. Барнашова).

При оценке исследуемого воздействия животным в течение 7, 14 и 21 сут вводили свекловичный пектин в указанных выше дозах, после чего исследовали функциональное состояние печени (активности АЛТ, АСТ, ЩФ, интенсивность СРО, АОА, содержание общего белка, мочевины, концентрация общего и связанного билирубина в плазме крови) (рис. 3, 4).

У крыс третьей группы, получавших после кормления свинцом водный раствор пектина в концентрации 100 мг/кг, наблюдается снижение активности трансаминаз в плазме крови. На 14-е сут активность АЛТ снижается на 14,3%, АСТ — на 15,5% (имеется сильная положительная корреляционная связь, $r = 0,76$, $p < 0,001$). Через 21 сут активность АЛТ уменьшается на 20,5%, АСТ — на 21,9%. Коэффициент де Ритиса через 21 сут составляет 1,5.

Содержание общего белка в крови на 7-е сут коррекции пектином увеличивается на 8,9%, на 14-е сут — на 12,5, на 21-е сут — на 15,7%, по отношению ко 2-й экспериментальной группе. При этом содержание мочевины повышается на 7-е сут на 19,9%, на 14-е сут — на 47,4, на 21-е сут — на 70,9%. Активность ЩФ снижается по мере увеличения продолжительности получения крысами свекловичного пектина. Так, через 7 сут активность ЩФ снижается на 3,4%, через 14 сут — на 6,9, через 21 сут — на 9,3%. Наблюдается сильная обратная корреляция между активностью ЩФ и АОА на 7-е сут коррекции пектином ($r = -0,9$, $p < 0,05$).

Уменьшение поступления в организм токсического агента при употреблении свекловичного пектина резко снижает уровень СРО в плазме крови крыс и незначительно повышает АОА. Так, через 21 сут зарегистрировано снижение СРО на 30,0%, АОА повышается на 42,9%. Концентрация общего билирубина в плазме крови на 7-е сут снижается на 14,2%, связанного билирубина — на 26,2%.

После двух недель коррекции пектином концентрация общего билирубина уменьшается на 20,6%, связанного — на 31,2%. Через 21 сут концентрация общего билирубина снижается на 21,6%, конъюгированного — на 37,5%.

Обсуждение

При воздействии на организм крыс ацетата свинца (100 мг/кг) происходят изменения биохимических показателей в плазме крови, характеризующих функциональную активность печени, которые коррелируют с длительностью интоксикации.

Свинцовая интоксикация приводит к повышению активности АЛТ и АСТ в плазме крови крыс, что связано с нарушением целостности гепатоцитов. Значительное повышение данных энзимов, которые высвобождаются из поврежденных гепатоцитов, указывают на гепатоцеллюлярное повреждение, а также могут быть связаны с холестатическими процессами, поскольку обратный поток или стаз желчи является токсичным для гепатоцитов.

При этом наблюдается резкое повышение уровня свободнорадикального окисления в плазме крови, снижение антиоксидантной активности и уменьшение содержания общего белка и мочевины. Свинцовая интоксикация приводит к значительным повреждениям структуры печени и вызывает некротические изменения. Это сопровождается увеличением в плазме крови активности трансаминаз и щелочной фосфатазы, а также концентрации билирубина, свидетельствующих о наличии поражения печени и его типе (гепатоцеллюлярное повреждение, наличие холестаза и блокада оттока желчи). Снижение общего белка и мочевины в плазме крови при свинцовой интоксикации, возможно, свидетельствует о пониженной способности печени к обмену аминокислот и белков, в результате чего нарушаются процессы дезаминирования или трансаминирования одних аминокислот до кетокислот, или метаболизм других — до мочевины и аммиака. Увеличение в плазме крови животных при свинцовой интоксикации активности ЩФ сопровождается дистопией индикаторных (цитоплазматических, митохондриальных, лизосомальных) ферментов в кровь, свидетельствуя о нарушении структурно-функциональной целостности липидного бислоя мембран гепатоцитов. Высокая активность ЩФ может также наблюдаться при инфильтративных заболеваниях печени, что характерно для цирроза [17].

После введения в рацион животных низкоэтерифицированных пектиновых веществ активность трансаминаз заметно снижается, что свидетельствует о постепенном восстановлении белковой и ферментативной функций печени и снижении интоксикации.

Подобную положительную динамику уровня индикаторных трансаминаз можно объяснить способ-

ностью печени к регенерации за счет пролиферации гепатоцитов с последующим практически полным восстановлением структуры и функций органа [16].

Билирубин крови увеличивается, по-видимому, из-за пониженной способности к метаболизму и транспорту в желчь билирубина гепатоцитами (паренхиматозные желтухи, связанные с инфекционными, токсическими гепатитами и другими поражениями печени) вследствие разрушения их структурной целостности. Повышение уровня билирубина может быть также результатом механических затруднений желчевыделения (холестаза) вследствие воспалительных, опухолевых процессов или образования камней — холестатические или обтурационные, механические желтухи (рост общего билирубина за счет прямого и непрямого билирубина).

Пектин из свеклы относится к группе низкоэтерифицированных пектинов, имеет низкий молекулярный вес, обладает слабыми желирующими свойствами в связи с низким содержанием метоксильных групп (3,35%) и высоким количеством ацетильных групп (1,62%).

Вместе с тем значительное количество свободных карбоксильных групп (16,8%) обуславливает высокие ионообменные свойства, что позволяет использовать свекловичный пектин в производстве препаратов лечебно-профилактического назначения, в частности детоксиканта. Применение пектина в качестве лечебно-профилактического средства направлено на нейтрализацию действия катионов тяжелых металлов.

Комплексообразующие свойства пектиновых веществ зависят от их степени этерификации, которая в свою очередь определяет силу и способ связи катионов. При высокой степени этерификации пектина свободные карбоксильные группы в значительной степени удалены друг от друга. При этом соли пектиновой кислоты практически полностью диссоциируют. С уменьшением степени этерификации, т.е. при увеличении числа свободных карбоксильных групп и заряда макромолекулы, количество сорбированных ионов металла и прочность их связи с пектиновыми веществами возрастает [18].

Наиболее благоприятные условия для комплексообразования пектина с металлами создаются в кишечнике при pH среды от 7,1 до 7,6 (щелочная среда). Объясняется это тем, что при увеличении pH пектины деэтерифицируются и происходит более интенсивное взаимодействие между кислотными радикалами пектиновой молекулы и ионов металлов. Кислая среда (pH 1,8—2,0) желудочного содержимого снижает способность высокометоксилированного пектина связывать радионуклиды [17, 18]. В этих условиях более активным оказался низкометоксилированный пектин.

Благодаря способности низкомолекулярной фракции пектина проникать в кровь образуются связанные комплексы с последующим выведением с мо-

чий [8]. Попадая в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), пектин образует гели. При разбухании масса пектина обезвоживает пищеварительный канал и, продвигаясь по кишечнику, захватывает токсичные вещества. Деметоксилирование пектина начинается в ободочной кишке и оканчивается в аппендиксе. Освобожденный в процессе деметоксилизации метанол всасывается через стенки ободочной кишки и метаболизируется в муравьиную кислоту, которая выделяется из организма с мочой.

Установлено, что удельная масса и степень этерификации пектинов регулируют их чувствительность и активность в комплексообразовании. Пектин адсорбирует уксуснокислый свинец сильнее активированного угля. Он обладает активной комплексобразующей способностью по отношению к радиоактивному кобальту, стронцию, цезию, цирконию, рутению и другим металлам, образуя соли пектиновой и пектовой кислот [9, 17].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беккельман И., Пфистер Э. Нейротоксические эффекты многолетней экспозиции свинцом // Медицина труда. 2001. № 5. С. 22—25.
2. Корбакова А.И., Соркина Н.С., Молодкина Н.Н., Ермоленко А.Е., Веселовская К.А. Свинец и его действия на организм // Медицина труда. 2001. № 5. С. 29—34.
3. Mehendale H.M., Limaye P.B. Calpain: a death protein that mediates progression of liver injury // Trends Pharmacol. Sci. 2005. Vol. 26. N 5. P. 232—236.
4. WHO Occupational and Environmental Health Team, Department of Protection of the Human Environment — “Occupational Health” // Gohnet Newsletter. 2001. Vol. 1. P. 7—11.
5. Медик В.А. Современные подходы к изучению заболеваемости населения // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2004. № 1. С. 6—9.
6. Zeng R.S., Niu G., Wen Z., Schuler M.A., Berenbaum M.R. Toxicity of aflatoxin B1 to *Helicoverpa zea* and bioactivation by cytochrome P450 monooxygenases // J. Chem. Ecol. 2006. Vol. 32. N 7. P. 1459—1471.
7. Chandra Mohan K.V., Kumaraguruparan R., Prathiba D., Nagini S. Modulation of xenobiotic-metabolizing enzymes and redox status during chemoprevention of hamster buccal carcinogenesis by bovine lactoferrin // Nutrition. 2006. Vol. 22. N 9. P. 940—946.
8. Василенко Ю.К., Кайшева Н.Ш. К механизму детоксицирующего действия полисахаридов при свинцовой интоксикации // Хим.-фармакол. журн. 2003. Т. 37. № 4. С. 12—15.
9. Khotimchenko M., Sergushchenko I., Khotimchenko Y. The effects of low-esterified pectin on lead-induced thyroid injury in rats // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2004. Vol. 17. P. 67—71.
10. Fujisawa G., Muto S., Okada K., Kusano E., Ishibashi S. Mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone prevents pig serum — induced hepatic fibrosis in rats // Transl. Res. 2006. Vol. 148. N 3. P. 149—156.
11. Гичев Ю.П. Современные проблемы экологической медицины. Новосибирск, 1999. 184 с.
12. Хотимченко Ю.С., Одинова М.В., Ковалев В.В. Полисорбвит. Томск: Изд-во науч.-тех. лит-ры, 2001. С. 132 (14).
13. Хотимченко Ю.С., Сергушенко И.С. Сравнительная эффективность низкоэтерифицированного пектина и антиструмина при экспериментальной гипопункции щитовидной железы // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2003. Т. 136. № 12. С. 641—644.
14. Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Хотимченко М.Ю. Фармакологические свойства пектинов // Эфферентная терапия. 2001. Т. 7. № 4. С. 22—36.
15. Garcia-Diez F., Garcia-Mediavilla V., Bayon J.E., Gonzalez-Gallego J. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats // J. Nutr. 1996. Vol. 126. N 7. P. 1766—1771.
16. Лазебник Л.Б., Звенигородская Л.А., Мороз И.А., Шепелева С.Д. Клинико-морфологические изменения печени при атерогенной дислипидемии и при лечении статинами // Терапевтический архив. 2003. № 8. С. 51—55.
17. Лопатникова Е.Г., Кузьмичева Л.В., Альба Н.В. Эффективность применения пектиновых веществ при интоксикации организма тяжелыми металлами // Сб. тез. 14-й междунар. Пущинской школы-конференции молодых ученых “Биология — наука XXI века”. Пушино, 2010. С. 39.
18. Комиссаренко С.Н., Спиридонов В.Н. Пектины — их свойства и применение // Растительные ресурсы. 1998. Вып. 1. С. 111—119.

**BIOCHEMICAL CHANGES
IN BLOOD AT LEAD INTOXICATION AND PECTIN CORRECTION**

L.V. Kuzmicheva, E.A. Lopatnikova, G.V. Maksimov

The results of changes in liver biochemical parameters (AST, ALT, alkaline phosphatase, total protein, urea, bilirubin) indicating the presence and type of liver injury in lead intoxication and the subsequent correction of pectin.

Key words: *intoxication, lead, pectin, liver pathology, complexation.*

Сведения об авторах

Кузьмичева Лидия Васильевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биохимии ФГБОУ ВПО “Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева”, г. Саранск. E-mail: alena1009lea@yandex.ru

Лопатникова Елена Александровна — ассистент кафедры биохимии ФГБОУ ВПО “Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева”, г. Саранск. E-mail: alena1009lea@yandex.ru)

Максимов Георгий Владимирович — докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ, зав. кафедрой биологического факультета МГК имени Огарева (г. Саранск). E-mail: gmaksimov@mail.ru