

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

ЛАЗАРЕНКО-ЧЕРНОУСОВА ІРИНА АНАТОЛІЇВНА

УДК: 577.1:591.85:543.272.82:636.028

**БІЛКОВИЙ ТА АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КРОВІ ЩУРІВ
ЗА ДІЇ СВИНЦЮ РІЗНОЇ ДИСПЕРСНОСТІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ**

03.00.04 – біохімія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник

кандидат біологічних наук, професор
Мельникова Неля Миколаївна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
професор кафедри біохімії
імені академіка М. Ф. Гулого

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Верьовка Сергій Вікторович,
Державна установа «Інститут отоларингології
імені О. С. Коломійченка НАМН України»,
завідувач лабораторії біохімії

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Дмитруха Наталія Миколаївна,
Державна установа «Інститут медицини
праці НАМН України»,
провідний науковий співробітник лабораторії
промислової токсикології та гігієни праці
при використанні хімічних речовин

Захист відбудеться «24» березня 2017 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.08 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Генерала Родимцева, 19, навчальний корпус № 1, кімната 97

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розісланий «23» лютого 2017 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

В. І. Цвіліховський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Характер накопичення, розподіл, ступінь впливу важких металів на організм залежить від виду, дози, кумулятивної здатності, а також їх спорідненості до клітинних структур та швидкості процесів елімінації (Трахтенберг І. М. та ін., 2010; Мельникова Н. М. та ін., 2013). В основі токсичної дії важких металів, лежить їх здатність блокувати активні центри ферментів, змінювати трансмембранні процеси, впливати на процеси біосинтезу білків (Киричук Г. Є., 2009; Синюк Ю. В. та ін., 2010).

Важкі метали у формі наночастинок, підвищують їх біодоступність, посилюють зв'язування токсикантів із нуклеїновими кислотами та білками, сприяють проникненню даних сполук у мембрани клітин та органели, змінюючи їх функції (Sahoo S. K. et al., 2007; Москаленко В. Ф. та ін., 2009; Чекман І. С. та ін., 2009; Silva G. A., 2010; Дмитруха Н. М. та ін., 2014).

До найбільш поширених важких металів, які надходять у великих кількостях у довкілля відносять свинець. Дослідженнями О. Л. Апихтіної (2008), І. М. Трахтенберга та ін. (2010), Н. М. Мельникової та ін. (2013), Н. М. Дмитрухи та ін. (2014), О. І. Першин (2014), показано негативний вплив свинцю на систему крові, нервову, серцево-судинну та імунну системи організму тварин, що супроводжується гіпоксією, зниженням мембранного потенціалу мітохондрій, виходом кальцію з клітин, активацією фосфоліпази, збільшенням іонної проникності мембран, роз'єднанням процесів окисного фосфорилування. Іони свинцю є інгібіторами ферментів білкового синтезу, посилюють катаболізм білків у тканинах, порушують їх структуру, впливають на процес синтезу і посттрансляційні модифікації білкових молекул (Грубінко В. В., 2011; Клімова О. та ін., 2011; Степанець І. та ін., 2013).

Негативна дія важких металів в організмі пов'язана також із їх впливом на вміст вільних амінокислот, особливо за високого рівня токсиканта в навколишньому середовищі (Калачнюк Л. Г. та ін., 2010; Татузян Е. Г., 2010; Verevka S. V., 2012). Важкі метали впливаючи на модифікацію амінокислотних залишків, викликають зміни структурної організації білкових молекул (Трахтенберг І. М. та ін., 2010). Доведена важлива роль вільних амінокислот крові, а також металотіонеїнів і глутатіону у молекулярних механізмах детоксикації важких металів (Шепельова І. А. та ін., 2006; Онисковець М. Я. та ін., 2013).

Сучасні способи попередження негативного впливу важких металів на організм тварин ґрунтуються на даних щодо механізмів їх впливу та токсичної дії й направлені на пошук нових компонентів, що володіють мембрано-протекторною, антиоксидантною та імуностимулюючою дією (Дмитруха Н. М., 2010; Криницька І. Я. та ін., 2010). Однак, незважаючи на значну кількість досліджень щодо впливу важких металів на організм тварин, не вирішеним залишається питання фракційного складу білків, вмісту вільних амінокислот та активності ряду ензимів крові, за дії свинцю різних дисперсних форм, що дає можливість вказати на функціональні зміни в окремих органах і тканинах, та поглибити розуміння механізмів його токсичної дії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є частиною наукових досліджень, які виконували співробітники кафедри біохімії імені академіка М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України за темою «Використання біологічно активних речовин для зниження вмісту важких металів в організмі тварин» (номер договору 10/27, 2011 р.).

Мета та задачі дослідження. Метою роботи було дослідити накопичення свинцю в органах і тканинах щурів, з'ясувати фракційний склад білків, вміст вільних амінокислот, активність ензимів крові при отруєнні тварин свинцю ацетатом і наночастинками свинцю та при застосуванні препарату «Глутаргін».

Відповідно до мети було поставлено такі задачі:

- створити біологічну модель отруєння щурів свинцем;
- дослідити накопичення свинцю в органах і тканинах щурів за дії його різних дисперсних форм та за введення препарату «Глутаргін»;
- дослідити вплив різних дисперсних форм свинцю та препарату «Глутаргін» на активність ензимів сироватки крові отруєних щурів;
- з'ясувати вплив різних дисперсних форм свинцю на фракційний склад білків плазми крові щурів та при застосуванні препарату «Глутаргін»;
- визначити вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів за дії різних дисперсних форм свинцю;
- дослідити вміст вільних амінокислот сироватки крові щурів за дії різних дисперсних форм свинцю та препарату «Глутаргін»;
- розробити науково-практичні рекомендації щодо профілактики отруєння тварин свинцем.

Об'єкт дослідження – фракційний склад білків, вміст вільних амінокислот, активність ензимів крові щурів за дії різних дисперсних форм свинцю та препарату «Глутаргін».

Предмет дослідження – вплив свинцю різної дисперсності на накопичення свинцю в органах щурів, білковий та амінокислотний склад крові, детоксикаційні та імуномодулюючі властивості препарату «Глутаргін».

Методи дослідження. При проведенні експериментів використано токсикологічні (створення моделі отруєння щурів свинцем різної дисперсності); спектрофотометричні (визначення вмісту свинцю, активності ензимів, рівня циркулюючих імунних комплексів, показників білкового обміну); хроматографічні (визначення вмісту вільних амінокислот); електрофоретичні (розділення білків плазми крові); статистичні (обробка результатів досліджень) методи.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в поглибленні сучасних уявлень щодо механізму впливу різних дисперсних форм свинцю, який характеризується його високою кумулюючою здатністю, зміною фракційного складу білків плазми крові, зокрема Ig G₁, Ig G₂, церулоплазмину, гаптоглобіну, трансферинів і преальбумінів, активності ензимів, а також вмісту вільних амінокислот у сироватці крові. Встановлено, що за введення щурам свинцю ацетату, його вміст в органах і тканинах переважає рівень даного токсиканта, ніж при застосуванні свинцю у наноформі. Виявлено зростання

рівня цинкпротопорфірину в крові щурів, як при отруєнні свинцю ацетатом, так і наночастинками свинцю, що може бути маркером розвитку свинцевої інтоксикації. Підтверджено, що токсичний вплив свинцю в організмі щурів пов'язаний із підвищенням активності ензимів сироватки крові, зокрема аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лактатдегідрогенази, γ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази. Встановлено, що дія свинцю різної дисперсності в організмі пов'язана зі зниженням альбумін-глобулінового коефіцієнта, зміною вмісту циркулюючих імунних комплексів, вільних амінокислот сироватки крові, зокрема підвищенням рівня глутаміну, цистину, орнітину, проліну, тирозину та зниженням вмісту лізину, треоніну, валіну, лейцину, глутамінової кислоти і аланіну. Застосування препарату «Глутаргін» щурам, отруєним свинцем ацетатом та наночастинками свинцю, попереджає негативний вплив даного токсиканта на організм тварин. Препарат «Глутаргін» зменшує накопичення свинцю в крові та органах щурів, сприяє корекції фракційного складу білків плазми крові та вмісту вільних амінокислот сироватки крові щурів, що свідчить про ефективність його застосування при отруєнні тварин свинцем різної дисперсності.

Наукова новизна одержаних результатів дисертаційної роботи підтверджена патентами на корисну модель (№ 67214; № 67215).

Практичне значення одержаних результатів. Проведені дослідження доповнюють дані щодо токсичної дії свинцю різної дисперсності на організм тварин, зокрема, його кумулюючу здатність, зміни фракційного складу білків, активності ензимів та вмісту амінокислот сироватки крові щурів. Обґрунтовано доцільність застосування препарату «Глутаргін», як ефективного засобу зниження накопичення свинцю в тканинах, попередження впливу даного токсиканта на фракційний склад білків та вміст амінокислот сироватки крові щурів, що дозволяє рекомендувати його для профілактики негативного впливу свинцю на організм тварин.

Результати досліджень увійшли до науково-практичних рекомендацій, затверджених науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 4 від 21.12.2011 р.).

Результати досліджень використовуються у навчальному процесі, а також у науковій роботі та впроваджені для виробництва з метою профілактики отруєння тварин свинцем. Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в наукову і навчальну роботу кафедри біохімії імені академіка М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України, біологічного факультету Донецького національного університету імені Василя Стуса (м. Вінниця), використовуються в наукових дослідженнях лабораторії промислової токсикології та гігієни праці при використанні хімічних речовин Державної установи «Інститут медицини праці НАМН України», лабораторії наноматеріалів та дезінфекційних засобів Інституту громадського здоров'я імені О. М. Марзєєва НАМН України, а також у практичній роботі Вінницького ветеринарного центру «Юпітер», з метою профілактики отруєння тварин свинцем.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем самостійно проведено аналіз наукової літератури з даного напрямку досліджень, виконано експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку одержаних результатів, підготовлено дисертаційну роботу. Планування та формулювання задач роботи, розроблення методів, схеми та напрямку досліджень, інтерпретація і аналіз одержаних результатів здійснено за участю наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень доповідались на конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва (м. Київ, 2010 р.); X Українському біохімічному з'їзді (м. Одеса, 2010 р.); X Міжнародній конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів НУБіП України (м. Київ, 2011 р.); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів і студентів НУБіП України «Наукові здобутки молоді у вирішенні актуальних проблем виробництва та переробки сировини, стандартизації та безпеки продовольства» (м. Київ, 2011 р.); III з'їзді токсикологів України «Сучасні проблеми токсикології» (м. Київ, 2011 р.); XI Міжнародній конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва НУБіП України (м. Київ, 2012 р.); XIII Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу та аспірантів «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва», присвяченій 20-річчю набуття університетом статусу національного (м. Київ, 2014 р.); XV Міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу та аспірантів «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» (м. Київ, 2016 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 25 наукових праць, з яких колективна монографія, 7 статей у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 5 статей в інших наукових виданнях, 2 патенти на корисну модель, науково-практичні рекомендації та 7 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, що налічує 275 найменувань, із них 71 латиницею, додатків. Робота викладена на 141 сторінці комп'ютерного тексту, ілюстрована 8 таблицями та 11 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. Експерименти за темою дисертаційної роботи виконано на базі наукової лабораторії кафедри біохімії імені академіка М. Ф. Гулого, у віварії факультету ветеринарної медицини, Українській лабораторії якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України впродовж 2009–2012 років. На

першому етапі досліджень, згідно поставлених задач, було створено біологічну модель інтоксикації щурів свинцю ацетатом і наночастинками свинцю у вигляді цитрату, які було отримано нанотехнологічним ерозійно-вибуховим методом (Каплуненко В. Г., Косінов М. В. та ін., 2008). Розмір часток в розчині свинцю ацетату становив $4829,6 \pm 139,0$ нм, а наночастинок свинцю – $64,7 \pm 2,2$ нм.

Експерименти виконано на статевозрілих самцях білих нелінійних щурів масою тіла 180–200 г, 6-місячного віку, які утримувались у групових клітках на стандартному раціоні з вільним доступом до води. При проведенні досліджень дотримувались «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених на Першому Національному конгресі України з біоетики (м. Київ, 2001 р.). Всього в експериментах було використано 150 щурів. Отруєння щурів проводили впродовж 14 діб шляхом перорального введення свинцю ацетату (у вигляді 1,4 % розчину) в дозі за металом 7 мг/100 г маси тіла тварини, що становить 1/100 ЛД₅₀ (Трахтенберг І. М., 2005; Ткаченко Т. А., 2008). Вказані дози використовували і при отруєнні щурів свинцю цитратом (наноформа). Інтактним тваринам перорально вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Препарат «Глутаргін» (ВАТ Фармацевтична фірма «Здоров'я», м. Харків), вводили щурам впродовж 14 діб per os за 1 годину до введення ацетату свинцю та наночастинок свинцю у вигляді 2 % водного розчину із розрахунку 100 мг/1 кг маси тіла тварини. Дослідні щури було поділено на 5 груп, по 10 тварин у кожній. Тваринам 1 групи (інтактні щури), вводили фізіологічний розчин, 2 групи – свинцю ацетат в дозі 7 мг/100 г маси тіла, 3 групи – свинцю цитрат в дозі 7 мг/100 г маси тіла, 4 групи – свинцю ацетат в дозі 7 мг/100 г маси тіла та препарат «Глутаргін» за одну годину до введення токсиканта, у вигляді 2 % розчину із розрахунку 10 мг/100 г маси тіла тварини, 5 групи – свинцю цитрат та препарат «Глутаргін».

Вміст свинцю в печінці, нирках, легенях, селезінці, серці, мозку та крові визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індукційно-зв'язаною плазмою, за допомогою приладу Optima 2100 DV (фірма Perkin – Elmer, США) (Демченко В. Ф. та ін., 2010). У крові, також визначали кількість цинкпротопорфірину за допомогою приладу Hematofluorometer 206 D. Контролювали також активність аланінамінотрансферази (АЛАТ, КФ 2.6.1.2), аспаратамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), γ -глутамілтранспептидази (ГГТП, КФ 2.3.2.2), лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1.), лактатдегідрогенази (ЛДГ, 1.1.1.27) та концентрації загального білка сироватки крові щурів за допомогою біохімічного аналізатора Microlab-200 (Нідерланди). З цією метою використовували стандартні набори реактивів фірми HUMAN (Німеччина). Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦК) у крові щурів визначали за реакцією преципітації з поліетиленгліколем (ПЕГ) M=6000 імунних комплексів різної молекулярної маси з наступним обліком результатів спектрофотометрично при довжині хвилі 450 нм. Вміст амінокислот у сироватці крові досліджували за допомогою амінокислотного аналізатора ААА Т-339М фірми «Мікротехна» (Чехія) (Камышников В. С., 2009). Уміст альбумінів, α -, β - і γ -глобулінів визначали нефелометрично за описом (Левченко В. І. та ін., 2004).

Фракційний склад білків плазми крові досліджували методом гелелектрофорезу в тонкому шарі ПААГ з градієнтом концентрації 7–18 % з додаванням додецилсульфату натрію. Білкові зони електрофореграми фарбували за допомогою 0,1 % розчину кумасі R-250 (Serva, Швеція). Молекулярну масу білків окремих білкових зон встановлювали за білками-маркерами (Amersham Bioscience, Англія). Аналіз електрофореграм проводили на денситометричному комплексі з використанням сканера «HP Scanjet 5500c» (США) та комп'ютерної програми DensitoAnalyze, за відносними одиницями оптичної густини та площі білкових зон, загальну суму яких приймали за 100 %.

Результати досліджень опрацьовано загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми MS Excel, із використанням критерія Стьюдента (Кучеренко М. Е. та ін., 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Одержані результати свідчать про те, що уміст свинцю в органах і тканинах щурів, отруєних свинцю ацетатом, зріс у крові в 6,6 раза, печінці – 31,6, нирках – 55,6, легенях – 26,9, серці – 1,7, селезінці – 5,6, мозку – в 1,9 раза порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Одержані результати вказують на високу кумулюючу дію даного токсиканта особливо в печінці, нирках та легенях, при отруєнні щурів свинцю ацетатом.

Таблиця 1

Вміст свинцю в крові й органах щурів, отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю, мкг/г ($M \pm m$, $n=10$)

Тканина, орган	Інтактні щури	Щури, отруєні свинцю ацетатом	Щури, отруєні наночастинками свинцю
Кров	0,08±0,006	0,53±0,041*	0,32±0,023*,**
Печінка	0,05±0,004	1,58±0,124*	0,24±0,018*,**
Нирки	0,07±0,005	3,89±0,283*	0,79±0,057*,**
Селезінка	0,07±0,006	0,39±0,027*	0,14±0,011*,**
Легені	0,07±0,006	1,88±0,148*	0,17±0,014*,**
Серце	0,13±0,009	0,22±0,017*	0,16±0,014*,**
Мозок	0,08±0,007	0,15±0,008*	0,12±0,009*,**

Примітки: * вірогідна різниця порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$); ** порівняно зі щурами, отруєними свинцю ацетатом.

Вміст свинцю в організмі щурів, отруєних наночастинками свинцю підвищився меншою мірою, зокрема в крові в 4 рази, печінці – 4,8, нирках – 11,3, легенях – 2,4, серці – 1,2, селезінці – 2, мозку – 1,5 раза порівняно з інтактними тваринами (див. табл. 1). Отже, введення щурам, свинцю ацетату, сприяло більш значному накопиченню токсиканта в крові в 1,7 раза, печінці – 6,6, нирках – 4,9, легенях – 11,1, серці – 1,4, селезінці – 2,8, мозку – 1,2 раза, ніж за умови введення наночастинок свинцю.

Виявлені відмінності в накопиченні свинцю в тканинах і органах щурів при введенні різних дисперсних форм, пов'язані з різною структурою молекул та властивостями токсикантів, їх впливом на метаболічні процеси в організмі тварин (Н. Lee et al., 2007; Чекман І. С. та ін., 2009).

Враховуючи, що препарат «Глутаргін» чинить гепатопротекторну, антиоксидантну, антигіпоксичну та мембраностабілізуючу дію, було досліджено його здатність знижувати накопичення свинцю в організмі тварин (Апихтіна О. Л. та ін., 2009). Проведені дослідження показали, що у щурів, отруєних свинцю ацетатом, яким вводили препарат «Глутаргін», знижується вміст свинцю в крові в 3,3 раза, в печінці – 4,9, нирках – 1,3, селезінці – 1,2, легенях – 3,9, серці – 1,2, мозку – 1,4 раза відповідно, порівняно з аналогічними показниками отруєних тварин, яким препарат не застосовували (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст свинцю в крові і органах щурів за дії препарату «Глутаргін»,
мкг/г (M±m, n=10)**

Тканина, орган	Щури, отруєні свинцю ацетатом	Щури, отруєні свинцю ацетатом + «Глутаргін»	Щури, отруєні наночастинками свинцю	Щури, отруєні наночастинками свинцю + «Глутаргін»
Кров	0,53±0,041	0,16±0,011*	0,32±0,023	0,11±0,008**
Печінка	1,58±0,124	0,32±0,023*	0,24±0,018	0,13±0,008**
Нирки	3,89±0,283	3,04±0,264*	0,79±0,057	0,68±0,051**
Селезінка	0,39±0,027	0,32±0,022*	0,14±0,011	0,10±0,007**
Легені	1,88±0,148	0,48±0,039*	0,17±0,014	0,08±0,006**
Серце	0,22±0,017	0,19±0,009*	0,16±0,014	0,13±0,009**
Мозок	0,15±0,008	0,11±0,008*	0,12±0,009	0,09±0,006**

Примітки: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно зі щурами, отруєними свинцю ацетатом; ** порівняно зі щурами, отруєними наночастинками свинцю.

Подібні за характером зміни зареєстровано й у щурів, отруєних наночастинками свинцю, яким вводили препарат «Глутаргін». Так, у крові та печінці тварин даної групи вміст свинцю знизився у 2,9 та 1,8 раза відповідно, легенях у 2,1, селезінці – 1,4, нирках, серці та мозку – 1,2 раза, порівняно з аналогічними показниками в отруєних тварин (див. табл. 2).

Застосування препарату «Глутаргін» як за умови отруєння свинцю ацетатом, так і наночастинками свинцю, сприяло зменшенню накопичення його в органах і тканинах, але більш виражену дію даного препарату виявлено за впливу свинцю ацетату.

Біологічне моделювання свинцевого отруєння у піддослідних тварин контролювали за підвищенням у крові одного з маркерів інтоксикації – цинкпротопорфірину. Під час експерименту рівень цинкпротопорфірину збільшувався після 7-разового перорального введення щурам свинцю ацетату та наночастинок свинцю до $75,6 \pm 5,9$ та $83,7 \pm 6,8$ відповідно, проти $61,2 \pm 4,9$ (мкМ/Мгема) в інтактній групі, а після 14 введення відповідно до

120,8±8,2 та 141,4±9,5, проти 69,3±5,6 (мкМ/Мгема) в інтактних тварин. Підвищення вмісту цинкпротопорфірину в крові щурів, які отримували різні дисперсні форми свинцю, є підтвердженням негативного впливу ксенобіотика на процес синтезу гему і є біомаркером розвитку свинцевої інтоксикації.

Дослідженнями встановлено, що вплив свинцю на клітинний метаболізм в організмі обумовлений ферментотоксичною і мембранотропною дією, що призводить до блокування металом функціональних груп білків, що впливає на активність внутрішньоклітинних ферментів. Показано, що активність ензимів у крові щурів, отруєних як свинцю ацетатом, так і наночастинками свинцю, змінюється значною мірою. Так, у крові щурів отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю зростає активність АлАТ у 2,1 та 2,0 рази, АсАТ у 1,5 і 1,4 раза відповідно, порівняно з інтактними тваринами. Подібний характер змін спостерігали і при визначенні активності інших ензимів, зокрема ЛДГ, ГГТП, ЛФ. Виявлені зміни активності ензимів сироватки крові ймовірно пов'язані з виходом ензимів у міжклітинне середовище, що можливе при пошкодженні клітинних мембран свинцем (Трахтенберг І. М. та ін., 2010; Онисковець М. Я. та ін., 2013). Оскільки зареєстровано високу активність АсАТ, АлАТ та ЛДГ в гепатоцитах печінки отруєних щурів, можна припустити, що свинець як у макродисперсій, так і у наноформі, викликає токсичне ураження печінки, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів (Мельникова Н. М. та ін., 2012; Апихтіна О. Л. та ін., 2012). При цьому слід зазначити, що наночастинки свинцю, навіть при меншому накопиченні в органах і тканинах щурів, проявляють більш високу біологічну активність, що збільшує їх пошкоджуючу дію на мембрани клітин.

Застосування препарату «Глутаргін» сприяло зменшенню активності досліджуваних ензимів крові щурів, отруєних свинцю ацетатом. Зокрема, активність АлАТ знизилася в 2,0, ЛДГ – 1,9, АсАТ і ЛФ – 1,2, ГГТП – 1,3 раза, порівняно з цими показниками у тварин, отруєних свинцю ацетатом. Подібні зміни активності вищевказаних ензимів крові відмічали також у групі тварин, яким вводили препарат «Глутаргін» за отруєння наночастинками свинцю. Тобто, застосування препарату «Глутаргін», на фоні отруєння різними дисперсними формами свинцю, сприяє зниженню ушкоджуючої дії останнього, про що свідчить зменшення активності досліджуваних ензимів сироватки крові. Це, ймовірно, пов'язано із гепатопротекторною та мембраностабілізуючою дією цього препарату.

Зміна хімічного складу зовнішнього середовища впливає на білковий склад крові тварин (Синюк Ю. В. та ін., 2010). Аналіз результатів досліджень свідчить про те, що рівень загального білка сироватки крові щурів, отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю, виявився нижчим на 28,2 та 24,7 % відповідно, порівняно з інтактними тваринами. Таким чином, гіпопротеїнемія, яка виникає внаслідок отруєння тварин свинцем, може свідчити про порушення білоксинтезуючої функції печінки (Киричук Г. Є., 2009).

Дослідження білкових фракцій сироватки крові щурів, отруєних свинцю ацетатом показали, що відсотковий вміст альбумінів виявився нижчим на 6,9 %,

α_1 - та α_2 -глобулінів на 1,5 та 3,8 % відповідно, порівняно з інтактними тваринами. Відсотковий вміст β - та γ -глобулінів сироватки крові щурів, отруєних свинцю ацетатом, підвищився на 4,5 та 7,7 % відповідно. Уведення щурам наночастинок свинцю викликало аналогічні зміни білкових фракцій сироватки крові дослідних тварин. Враховуючи те, що близько 90 % α_1 - та α_2 -глобулінів синтезуються печінкою, виявлене зниження їх відсоткового вмісту, може бути спричинене дистрофічними змінами в гепатоцитах та порушенням біосинтезу білків цих фракцій. Підвищення вмісту β -глобулінів у сироватці крові щурів, отруєних різними дисперсними формами свинцю, порівняно з інтактними тваринами, напевно, є результатом загальної реакції ретикуло-ендотеліальної системи на дію екзогенних факторів. Зростання вмісту γ -глобулінів у сироватці крові щурів дослідних груп, може вказувати на активацію гуморального імунітету та посилення вироблення імуноглобулінів в організмі отруєних щурів (Добровольский Л. А. та ін., 2005; Забродский П. Ф., 2007).

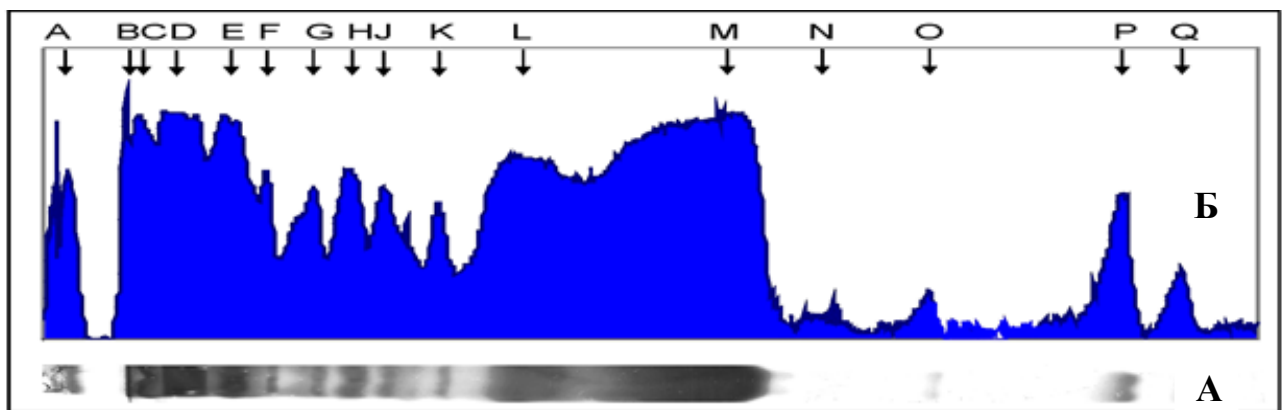


Рис. 1 Гель-електрофореграма білків плазми крові щурів (А) та їх розподіл по зонах (Б)

Дослідження фракційного складу білків плазми крові щурів, за отруєння свинцем, дали змогу виявити 16 білкових фракцій, а саме Ig M (зона А), фібриноген (зона В), Ig D (зона С), Ig G₁ (зона Е), Ig G₂ (зона D), церулоплазмін (зона F), гаптоглобін (зона G), плазміноген (зона H), трансферини молекулярною масою 85–80 (зона J), 75 та 72 кДа (зони K, L), альбумін (зона M), преальбуміни з молекулярною масою 60–50 (зона N), 45 (зона O), 35 (зона P), 20–15 кДа (зона Q) (див. рис. 1.)

У крові щурів, отруєних свинцю ацетатом виявлено зміни вмісту білків 9 фракцій. Так, встановлено підвищення рівня Ig G₁ на 20,3 %, Ig G₂ – 14,4, церулоплазміну – 28,7, плазміну – 33,5, трансферинів молекулярною масою 85–80 та 75 кДа – 20,3 і 16,8 % відповідно, преальбумінів з молекулярною масою 60–50 кДа – 45,0 % та зниження рівня преальбумінів (20–15 кДа) і 45 кДа на 75,0 і 27,3 % відповідно, порівняно з інтактними тваринами (рис. 2).

При отруєнні щурів наночастинками свинцю виявлено зміни в 11 білкових фракціях плазми крові, а саме зростання рівня Ig G₁ на 77,7 %, Ig G₂ – 52,8, гаптоглобіну – 58,6, Ig M – 20,3, фібриногену – 25,5, церулоплазміну – 24,2, преальбумінів молекулярною масою 60–50 кДа – 26,7, трансферинів (85–80 і 75 кДа) – 36,9 та 20,4 % відповідно. Рівень преальбумінів

молекулярною масою 20–15 кДа і Ig D плазми крові отруєних щурів, знизився на 64,7 та 44,8 % відповідно, порівняно з інтактними тваринами.

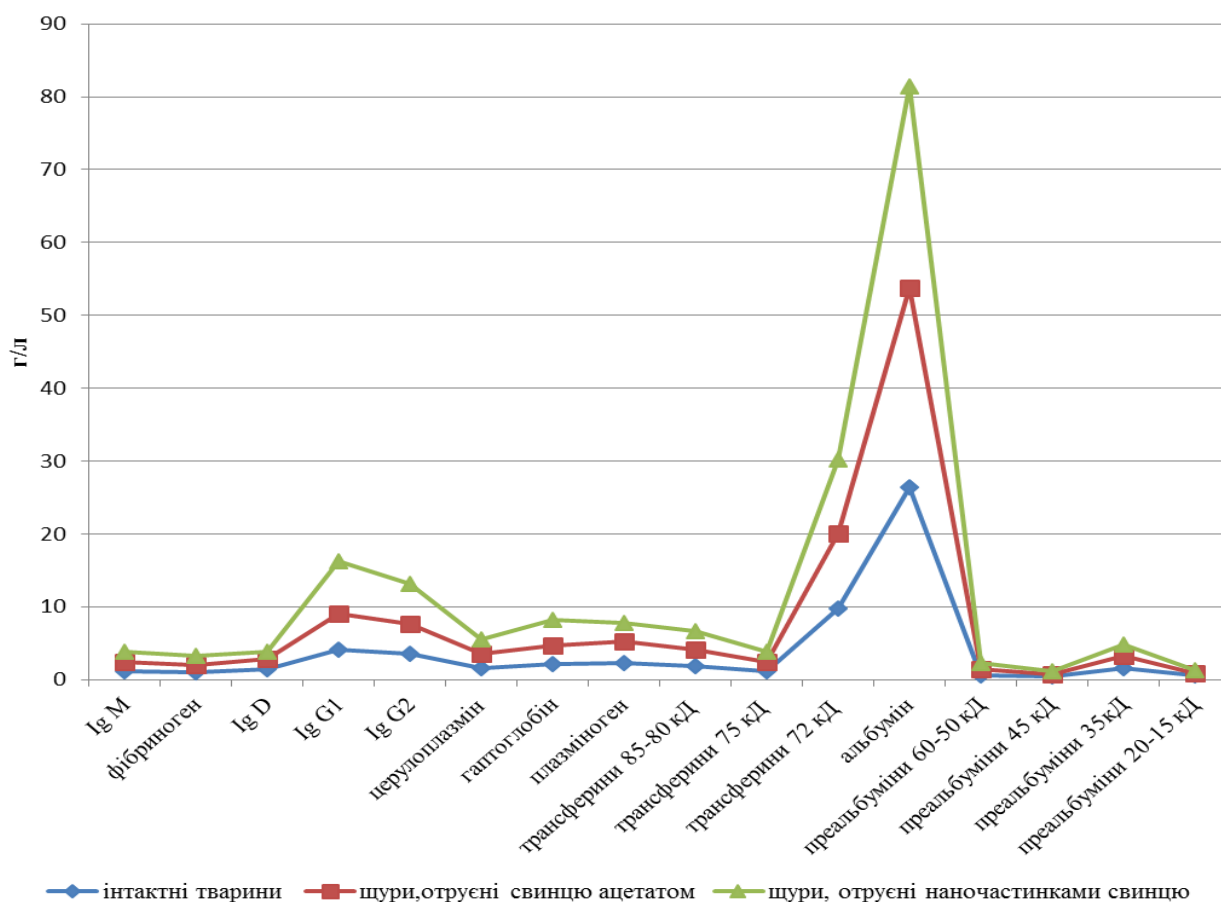


Рис. 2. Фракційний склад білків плазми крові щурів, отруєних свинцем

Підвищений вміст у плазмі крові тварин дослідних груп імуноглобулінів класу G, а також Ig M в групі тварин, отруєних наночастинками свинцю, ймовірно, пов'язано з тривалою інтоксикацією організму та розвитком аутосенсibiliзації і активацією гуморальної імунної відповіді (Драннік Г. М. та ін., 2006; Дмитруха Н. М., 2010)

При порівнянні впливу різних дисперсних форм свинцю на фракційний склад білків плазми крові щурів отруєних свинцем виявлено, що наночастинки свинцю підвищують рівень Ig G₁ на 47,7 %, Ig G₂ – 33,7, гаптоглобіну – 41,9, преальбумінів молекулярною масою 45 кДа – 24,2 % та знижують рівень Ig D на 53,1, та плазміну – на 20,6 %, порівняно зі щурами, отруєними свинцю ацетатом. Відомо, що гаптоглобін належить до білків гострої фази і ступінь збільшення його вмісту відображає інтенсивність патологічного процесу в організмі. Тому підвищення, рівня цього білка в плазмі крові щурів, отруєних наночастинками свинцю, порівняно зі щурами отруєними свинцю ацетатом, вказує на більші деструктивні зміни в печінці тварин.

Враховуючи вищенаведені результати слід було очікувати, що попереднє застосування щурам препарату «Глутаргін» позитивно впливатиме на попередження змін фракційного складу білків плазми крові при їх отруєнні свинцем.

Попередніми дослідженнями було показано, що препарат «Глутаргін», знижує рівень свинцю в органах і тканинах щурів при отруєнні свинцем.

Визначення фракційного складу білків плазми крові щурів за дії свинцю ацетату та за введення препарату «Глутаргін», показало, що останній призводить до підвищення рівня фібриногену в крові на 57,5 %, Ig M – 14,8, преальбумінів молекулярною масою 20–15 кДа – 40,6 %, порівняно з отруєними тваринами. При цьому в плазмі крові щурів, порівняно з отруєними тваринами, відмічали зниження рівня церулоплазміну на 75,6 %, Ig G₁ – 22,2, плазміну – 39,1, трансферинів молекулярною масою 75 кДа – 18,9 %, преальбумінів молекулярною масою 45 та 35 кДа – на 26,9 та 36,7 % відповідно.

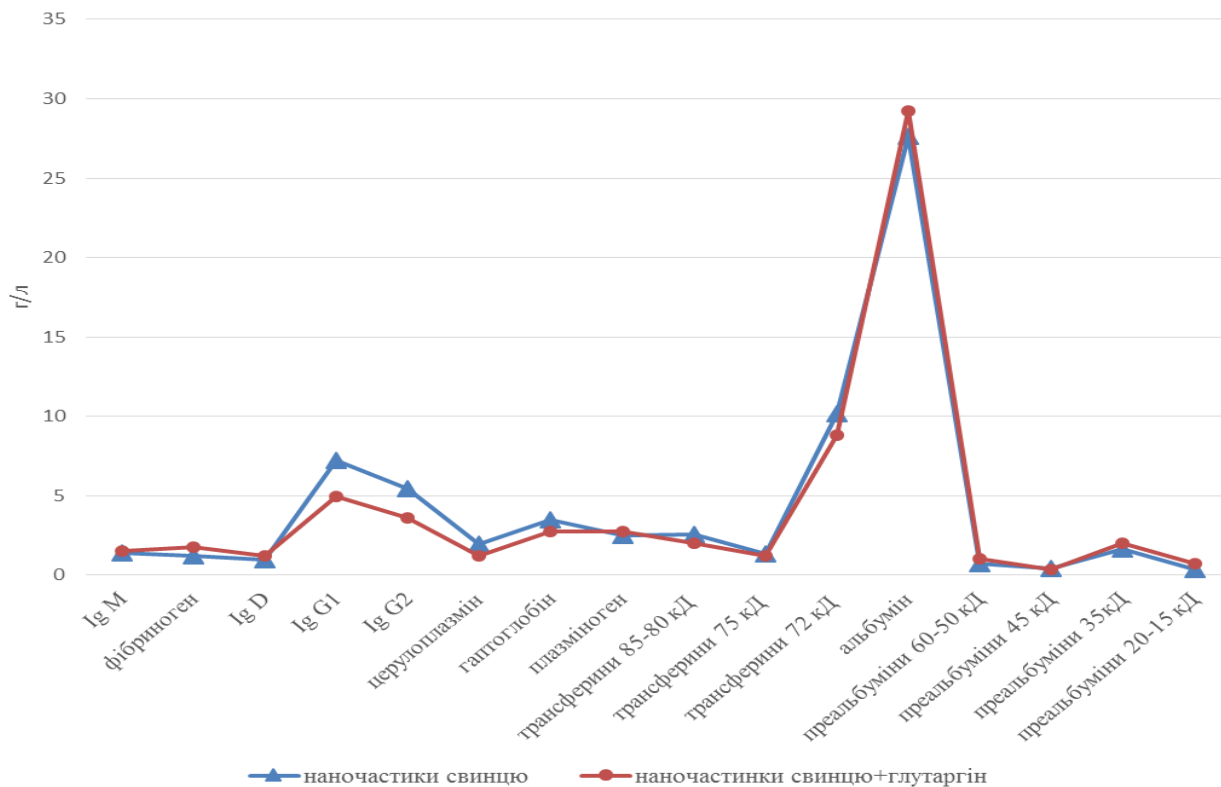


Рис. 3. Фракційний склад білків плазми крові щурів, отруєних наночастинками свинцю та за дії препарату «Глутаргін»

Відомо, що одним із індикаторів активації імунної відповіді та розвитку аутоімунних процесів в організмі є рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові. Визначення вмісту ЦІК у сироватці крові щурів, отруєних свинцю ацетатом, показало, підвищення вмісту високо- та низькомолекулярних ЦІК на 69,3 та 55,6 % відповідно, порівняно з аналогічними показниками у групі інтактних тварин. Уведення щурам наночастинок свинцю, навпаки, знижувало вміст високомолекулярних ЦІК на 29,1 %, тоді як вміст низькомолекулярних ЦІК не змінювався. Зниження високомолекулярних ЦІК у сироватці крові щурів за дії наночастинок свинцю, може бути обумовлено посиленням їх елімінації з організму. Оскільки наночастинки мають високу адсорбційну здатність можна припустити, що зниження вмісту ЦІК в сироватці крові щурів даної групи, відбувалося за рахунок їх адсорбції (Москаленко В. Ф. та ін., 2009; Чешко В. Ф. та ін., 2011).

Основними інтермедіатами білкового обміну в тканинах є амінокислоти, які беруть участь у синтезі білків та нуклеїнових кислот, процесах ліпогенезу та гліоконеогенезу, зв'язуванні аміаку, виконують функції нейромедіаторів, використовуються як джерело енергії (Грубінко В. В. та ін., 2012). Аналізуючи вміст окремих вільних незамінних амінокислот у сироватці крові щурів, отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю, відмічено вірогідне зниження вмісту лізину на 53,1 та 73,4 %, треоніну – 31,0 та 18,5 %, валіну – 34,0 та 19,1 %, лейцину – 25,9 та 26,0 % відповідно, порівняно з інтактною групою тварин (рис. 4).

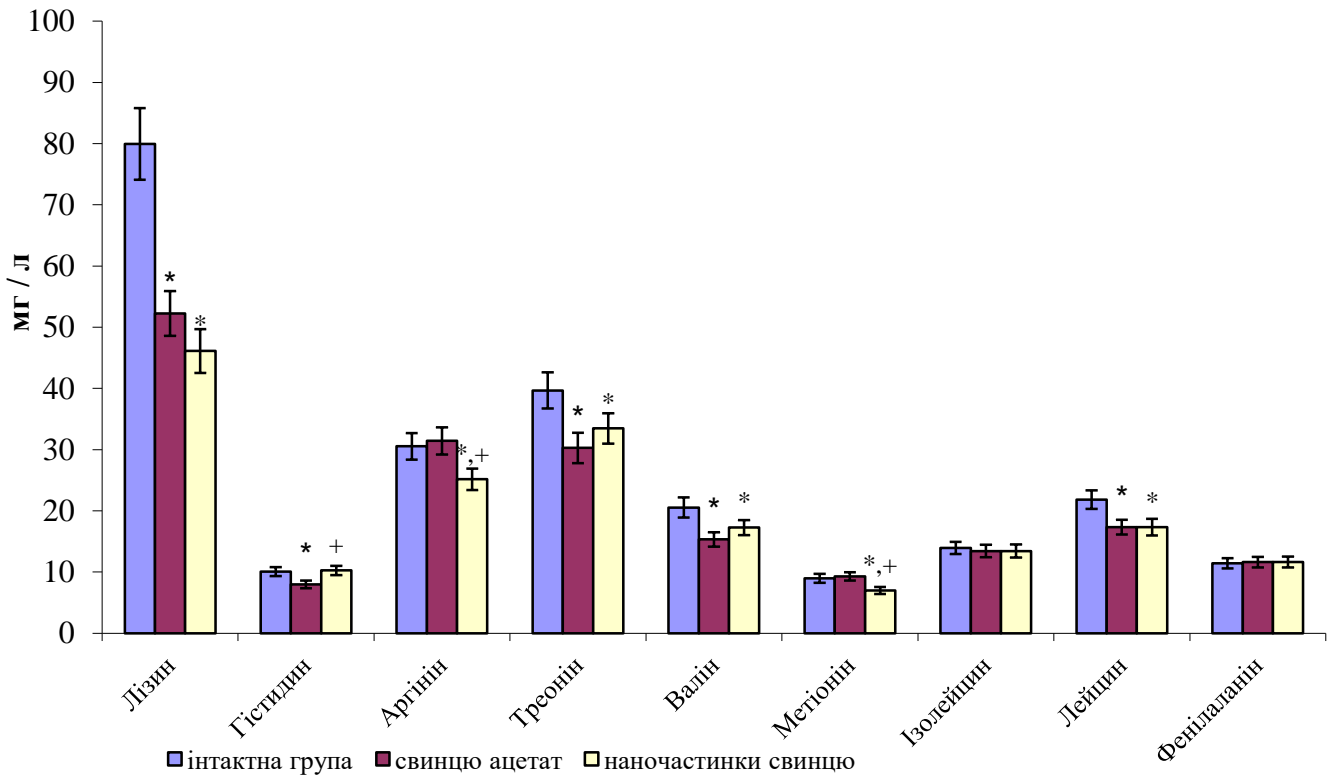


Рис. 4. Вміст вільних незамінних амінокислот у сироватці крові щурів, отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю

Примітки: * вірогідна різниця порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$); + порівняно зі щурами, отруєними свинцю ацетатом.

При отруєнні щурів тільки наночастинками свинцю відмічали зниження в сироватці крові вмісту аргініну та метіоніну на 21,4 та 28,8 % відповідно, порівняно з інтактними тваринами. При задаванні тваринам свинцю ацетату вірогідних змін вмісту вказаних вільних амінокислот у сироватці крові не встановлено.

Враховуючи вищезазначені зміни вмісту вільних незамінних амінокислот у сироватці крові щурів при отруєнні свинцем та з метою мінімізації його негативного впливу на ці показники, був застосований препарат «Глутаргін», який у своєму складі містить аргінін та глутамінову кислоту. Відомо, що препарат «Глутаргін» є донатором NO, бере участь у підтриманні системної та локальної гемодинаміки, має виражені мембраностабілізуючі, антигіпоксичні, антиоксидантні, дезінтоксикаційні та імуномодулюючі властивості (Апихтіна О. Л. та ін., 2009).

При дослідженні впливу препарату «Глутаргін» на рівень ряду вільних незамінних амінокислот сироватки крові щурів, отруєних свинцю ацетатом, виявлено зниження вмісту метіоніну на 71,5 %, ізолейцину – 60,0, лейцину – 50,0, лізину – 34,7, гістидину – 16,7, аргініну – 36,3, треоніну – 42,5, валіну – 33,3, фенілаланіну – на 24,9 % в крові, порівняно з отруєними щурами (рис. 5). Разом з тим, при введенні щурам препарату «Глутаргін», отруєним наночастинками свинцю, вірогідних змін умісту незамінних амінокислот у крові не виявлено, лише відмічалось підвищення рівня лізину на 29,1 %, порівняно з отруєними тваринами.

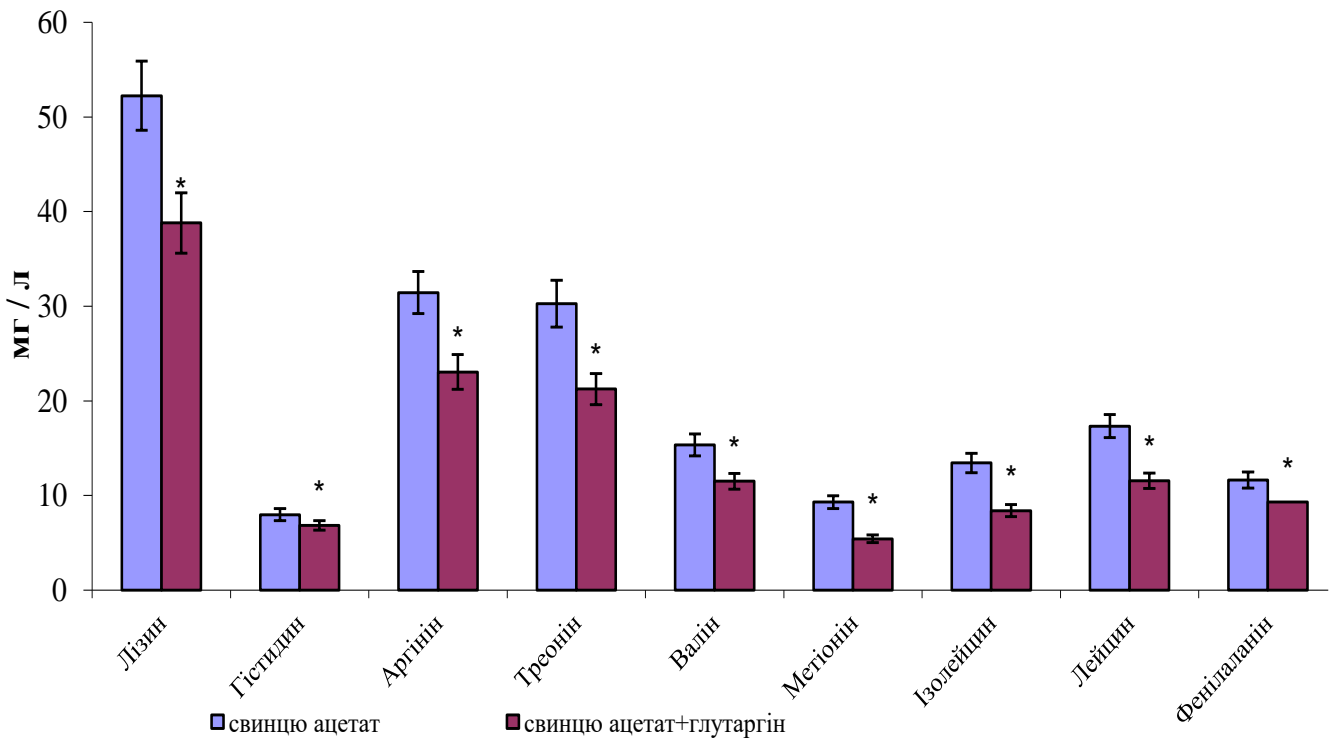


Рис. 5. Вміст незамінних амінокислот у крові щурів, отруєних свинцю ацетатом та за введення препарату «Глутаргін»

Примітка. *доставірна різниця ($p < 0,05$) порівняно з щурами за отруєння свинцю ацетатом

Отже, виявлене подальше зниження вмісту незамінних амінокислот у сироватці крові щурів отруєних свинцем за дії препарату «Глутаргін» може свідчити про посилений транспорт та використання незамінних амінокислот для нормалізації синтезу білка в організмі та повну їх мобілізацію в адаптивні процеси.

Рівень вільних замінних амінокислот у сироватці крові щурів, отруєних свинцю ацетатом, підвищився, зокрема цистину в 11,5 раза, глутаміну – 1,8, орнітину – 1,4, проліну – 1,2, тирозину – в 1,2 раза, порівняно з їх вмістом у тварин інтактної групи. Однак, вміст глутамінової кислоти й аланіну в сироватці крові щурів отруєних свинцю ацетатом знизився в 1,6 та 1,2 раза відповідно, порівняно з інтактними тваринами (рис. 6).

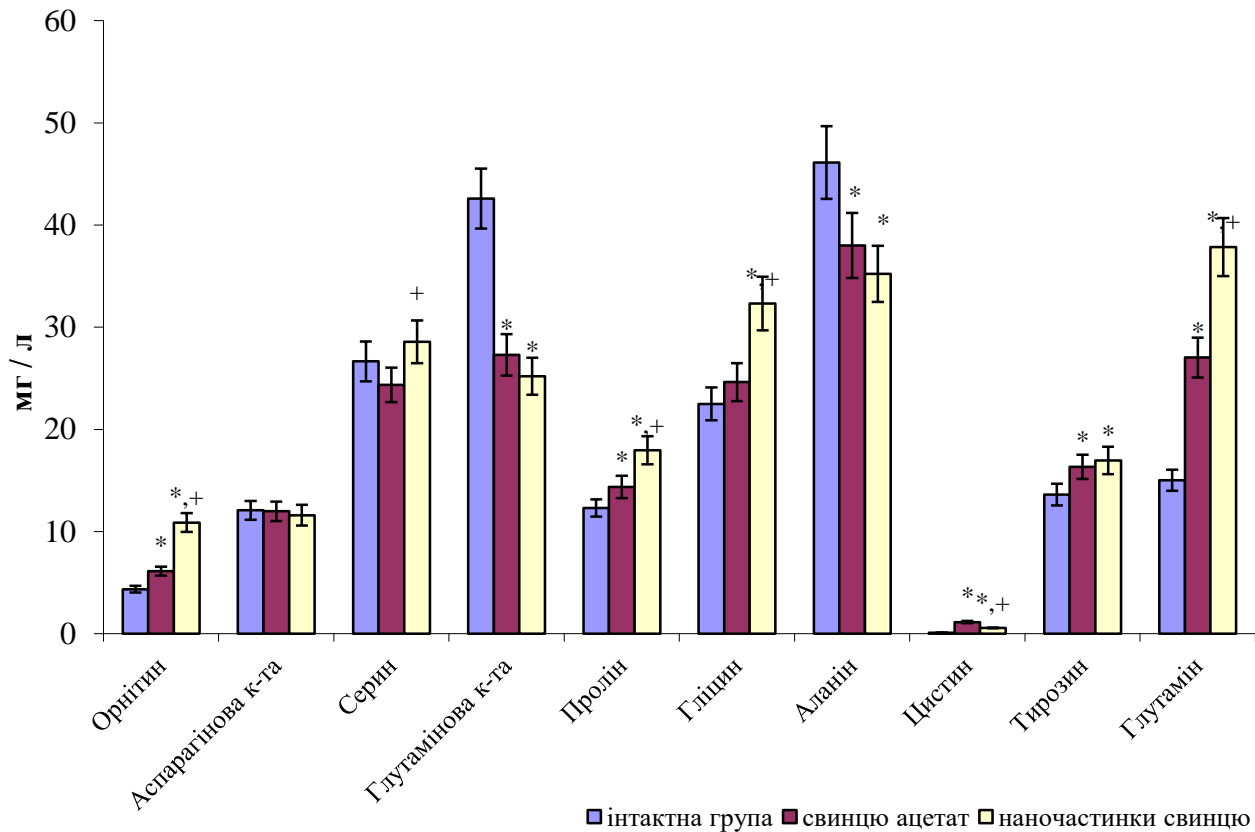


Рис. 6. Вміст вільних заміних амінокислот у сироватці крові щурів за отруєння свинцю ацетатом та наночастинками свинцю

Примітки: *достовірна різниця ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами; +порівняно з щурами за отруєння свинцю ацетатом.

Введення наночастинок свинцю щурам викликало підвищення вмісту таких вільних заміних амінокислот у сироватці крові як цистин в 5,8 раза, глутамін – 2,5, орнітин – 2,5, пролін – 1,5, тирозин – в 1,2 раза порівняно з інтактними тваринами. Проте рівень глутамінової кислоти й аланіну в сироватці крові щурів, отруєних наночастинками свинцю, знижувався в 1,7 та 1,3 раза відповідно, порівняно з аналогічними показниками тварин інтактною групи (див. рис. 6).

Оскільки гліцин є нейромедіаторною амінокислотою, яка зменшує виділення з нейронів «збуджуючих» амінокислот, таких як глутамінова кислота, збільшення його рівня в сироватці крові щурів, отруєних наночастинками свинцю, на 43,7 % порівняно з інтактними тваринами, може свідчити про патологічні зміни в головному та спинному мозку, що підтверджує гіпотезу про полегшене проникнення наночастинок свинцю через гематоенцефалічний бар'єр (Сердюк А. М. та ін., 2009; Чекман І. С. та ін., 2009). При цьому вміст вказаної амінокислоти в сироватці крові тварин, отруєних свинцю ацетатом, не мав вірогідних змін.

Дослідження впливу препарату «Глутаргін» на вміст заміних амінокислот у сироватці крові щурів за умови моделювання свинцевої інтоксикації виявили значні зміни їх кількісного вмісту. Так, встановлено, що препарат «Глутаргін» знижує вміст аланіну і аспарагінової кислоти в сироватці

крові щурів, отруєних свинцю ацетатом, в 1,6 та 1,4 раза відповідно, порівняно з отруєними щурами. Слід також зазначити, що характер змін вмісту замінних амінокислот у сироватці крові щурів отруєних свинцю ацетатом при задаванні препарату «Глутаргін» характеризується зниженням вмісту серину на 23,8 %, проліну – 33,4, гліцину – 42,5, тирозину – 62,4 і глутаміну – на 66,7 %, порівняно з щурами отруєними свинцю ацетатом. Також встановлено, що за отруєння щурів свинцю ацетатом, препарат «Глутаргін» позитивно впливає на вміст цистину, рівень якого зростає на 20,0 % порівняно з отруєними щурами. При дослідженні впливу препарату «Глутаргін» на вміст замінних амінокислот сироватки крові щурів, отруєних наночастинками свинцю, виявлено, що він підвищує рівень орнітину та глутамінової кислоти в 1,6 та 1,3 раза відповідно, порівняно з отруєними тваринами (рис. 7).

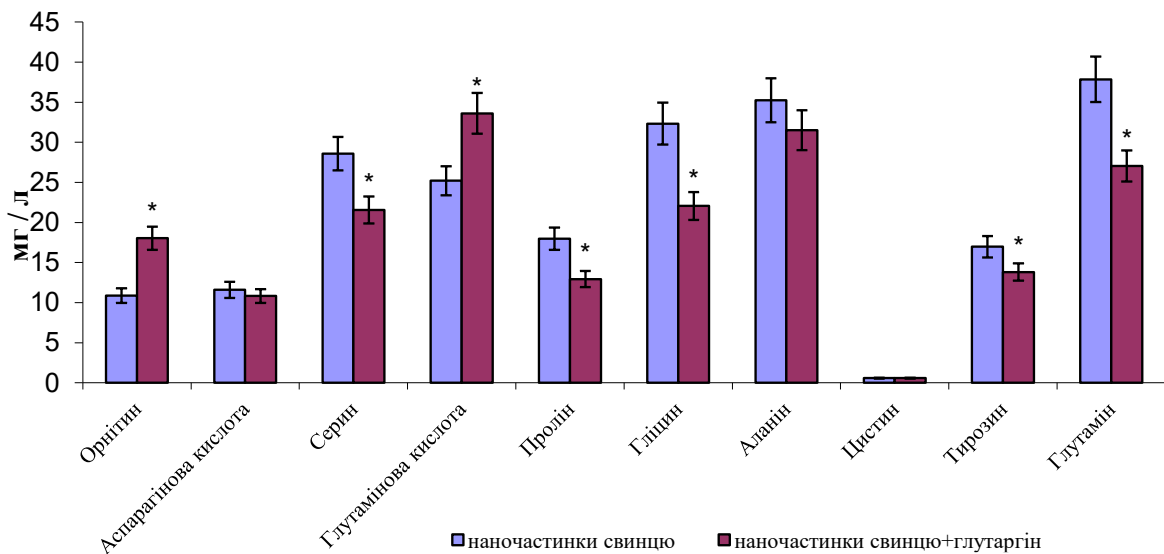


Рис. 7. Вміст вільних замінних амінокислот у сироватці крові щурів за отруєння наночастинками свинцю та за введення препарату «Глутаргін»

Примітка. * достовірна різниця ($p < 0,05$) порівняно зі щурами за отруєння наночастинками свинцю.

Одержані результати свідчать і про зниження в сироватці крові вмісту серину на 32,6, проліну – на 38,9, гліцину – на 46,6, тирозину – на 22,8, глутаміну – на 40,0 % при застосуванні препарату «Глутаргін» тваринам, отруєним наночастинками свинцю, порівняно з щурами яким не вводили препарат.

Отже, отруєння щурів свинцю ацетатом та наночастинками свинцю призводить до глибоких структурно-функціональних змін в організмі щурів, а саме зміни рівня циркулюючих імунних комплексів у крові, як ознак посилення гуморальної імунної відповіді та розвитку аутоімунних процесів, зростання активності ензимів, виникнення гіпопротеїнемії, зміни білкового та амінокислотного складу крові. Введення препарату «Глутаргін» на фоні отруєння щурів свинцем різних дисперсних форм, знижувало накопичення свинцю в органах і тканинах, нормалізувало показники білкового обміну, активність ферментів, вміст амінокислот у крові, що обумовлено

гепатопротекторною та мембраностабілізуючою дією цього препарату. Слід відзначити, що корекція виявлених метаболічних порушень в організмі щурів отруєних свинцем за введення препарату «Глутаргін» є ефективною як за введення свинцю ацетату, так і свинцю у вигляді наночастинок.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та аналіз результатів експериментальних досліджень щодо впливу різних дисперсних форм свинцю на організм щурів, особливості накопичення та розподілу свинцю в крові та органах, зміни біохімічних показників, білкового, амінокислотного складу крові та їх корекція препаратом «Глутаргін».

1. Введення щурам свинцю ацетату та наночастинок свинцю збільшувало його вміст у крові в 6,6 та 4 рази, печінці – 31,6 та 4,8, нирках – 55,6 та 11,3, легенях – 26,9 та 2,4, серці – 1,7 та 1,2, селезінці – 5,6 та 2, мозку – 1,9 та 1,5 рази відповідно, відносно його вмісту в органах і тканинах інтактних тварин.

2. Препарат «Глутаргін» у щурів, отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю, знижував вміст свинцю в крові в 3,3 та 2,9 рази, печінці – 4,9 та 1,8, нирках – 1,3 та 1,2, легенях – 3,9 та 2,1, серці – 1,2, селезінці – 1,2 та 1,4, мозку – 1,1 та 1,2 рази відповідно порівняно з аналогічними показниками отруєних тварин.

3. Виявлено підвищення в сироватці крові щурів, отруєних свинцю ацетатом і наночастинками свинцю АлАТ в 2,1 та 2,0 рази, ЛДГ – 3,0 та 3,5, АсАТ – 1,5 та 1,4, ГГТП – 1,3 та 1,2, ЛФ – 1,4 та 1,2 рази відповідно, порівняно з інтактними тваринами.

4. Введення щурам свинцю ацетату та наночастинок свинцю знижує вміст альбумінів, α_1 - та α_2 -глобулінів та підвищує вміст β - та γ -глобулінів у сироватці крові, порівняно з аналогічними показниками в інтактних тварин.

5. Отруєння щурів свинцем змінює фракційний склад білків плазми крові, зокрема, підвищує рівень Ig G₁, Ig G₂, церулоплазміну, трансферинів молекулярною масою 85–80 та 75 кДа, преальбумінів молекулярною масою 60–50 кДа та знижує вміст преальбумінів молекулярною масою 20–15 та 45 кДа, порівняно з інтактними тваринами. Препарат «Глутаргін» за отруєння щурів різними дисперсними формами свинцю підвищує рівень фібриногену і преальбумінів молекулярною масою 20–15 кДа та знижує вміст церулоплазміну, Ig G₁ і преальбумінів молекулярною масою 45 кДа в плазмі крові, порівняно з отруєними тваринами.

6. Показано підвищення рівня високо- та низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів, за отруєння свинцю ацетатом та зниження вмісту високомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у крові за дії наночастинок свинцю відносно інтактної групи тварин.

7. Встановлено зниження вмісту лізину, треоніну, валіну, лейцину, глутамінової кислоти і аланіну, та підвищення рівня цистину, глутаміну, орнітину, проліну, тирозину в сироватці крові отруєних свинцем тварин,

порівнянно з інтактними щурами. Введення отруєним тваринам препарату «Глутаргін» позитивно впливало на корекцію амінокислотного складу крові.

8. Виявлено коригуючу дію препарату «Глутаргін» щодо зниження накопичення свинцю в організмі, сталості вмісту вільних амінокислот та білкових фракцій крові щурів, отруєних різними дисперсними формами свинцю, що свідчить про високі детоксикаційні, мембраностабілізуючі та гепатопротекторні властивості і дозволяє рекомендувати його як засіб профілактичного захисту тварин на територіях з підвищеним рівнем свинцю в довкіллі.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Для профілактики отруєння тварин свинцем виробництву рекомендується препарат «Глутаргін», який застосовують із розрахунку 250 мг/кг маси тіла тварини, з водою чи кормом, один раз на добу, протягом 14 діб.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографія

1. Важкі метали: біохімічні механізми токсичного впливу на організм: [монографія] / [Мельникова Н. М., Кліх Л. В., Деркач Є. А., Шепельова І. А., Ворошилова Н. М., Ткаченко Т. А., Заліпухін О. Д., Єрмішев О. В., **Лазаренко І. А.**]; під редакцією професора Н. М. Мельникової. – К., 2015. – 289 с. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел, узагальнила результати досліджень, брала участь у підготовці та написанні розділу «Біохімічні зміни в організмі щурів за отруєння макро- та нанодисперсною формами свинцю»).*

Статті у наукових фахових виданнях України:

2. Мельникова Н. М. Вміст свинцю в органах отруєних щурів за введення кальцію лактату / Н. М. Мельникова, Т. А. Ткаченко, **І. А. Лазаренко** // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2010. – Вип. 151. – Ч. 1. – С. 219–221. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку отриманих даних, написано основний текст статті).*

3. Мельникова Н. М. Характеристика вмісту окремих мікроелементів у печінці, нирках, селезінці вагітних щурів за отруєння плюмбумом / Н. М. Мельникова, Т. А. Ткаченко, **І. А. Лазаренко** // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12. – № 1. – С. 159–163. *(Здобувач особисто брала участь в проведенні досліджень, обробці та аналізі отриманих даних).*

4. Мельникова Н. М. Вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові отруєних ацетатом свинцю щурів та за дії глутаргіну / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2011. – Вип. 167. – Ч. 1. – С. 202–204. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, відбір зразків, проаналізовано та узагальнено одержані результати).*

5. Мельникова Н. М. Характеристика білкового складу крові щурів отруєнних свинцем / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14. – № 1–2. – С. 316–320. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку отриманих даних, написано основний текст статті).*

6. Мельникова Н. М. Активність ферментів у крові щурів отруєних свинцем у різних дисперсних формах за дії глутаргіну // Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** / Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2012. – № 1 (57). – С. 18–21. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів).*

7. Лазаренко І. А. Вплив глутаргіну на пул вільних амінокислот крові щурів за отруєння різними дисперсними формами свинцю / **І. А. Лазаренко**, Є. А. Деркач, Н. М. Мельникова // Український журнал з проблем медицини праці. – 2012. – № 2 (30). – С. 61–66. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, написано основний текст статті).*

8. Мельникова Н. М. Амінокислотний склад крові щурів отруєних різними дисперсними формами свинцю / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко**, І. А. Шепельова // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2012. – Вип. 178. – С. 42–48. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку отриманих даних, написано основний текст статті).*

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних:

9. Мельникова Н. М. Біохімічні показники крові щурів за отруєння свинцем / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Український біохімічний журнал. – 2012. – Вип. 84. – № 1. – С. 85–89. *(Здобувач особисто брала участь в проведенні досліджень, обробці та аналізі отриманих даних).*

10. Мельникова Н. М. Білковий склад крові щурів отруєних ацетатом свинцю та за умови введення глутаргіну: [електронний ресурс] / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – Режим доступу до журналу: http://nd.nubip.edu.ua/2015_3/4. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів).*

Статті в інших наукових виданнях:

11. Мельникова Н. М. Вміст кальцію в організмі щурів, отруєних свинцю ацетатом / Н. М. Мельникова, Т. А. Ткаченко, **І. А. Лазаренко** // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. – 2010. – Вип. 21. – Т. 3. – С. 191–194. *(Здобувач особисто брала участь в проведенні досліджень, обробці та аналізі отриманих даних).*

12. Мельникова Н. М. Вміст мінеральних елементів у печінці щурів за свинцевого отруєння / Н. М. Мельникова, Т. А. Ткаченко, **І. А. Лазаренко** //

Збірник наукових праць Вінницького національного університету. – 2010. – Вип. 5. – С. 200–203. *(Здобувач особисто брала участь в проведенні досліджень, обробці та аналізі отриманих даних).*

13. Лазаренко І. А. Вплив макродисперсної та наноформи свинцю на накопичення його в організмі / І. А. Лазаренко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2012. – № 2 – С. 95–98.

14. Мельникова Н. М. Електрофоретичне дослідження білків крові щурів за дії макродисперсної та наноформи свинцю / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2012. – № 3. – С. 90–94. *(Здобувачем проведені експериментальні дослідження, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів).*

15. Мельникова Н. М. Електрофоретичне дослідження білків крові щурів отруєних різними дисперсними формами свинцю та за корекції Глутаргіном / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко**, А. В. Моторнюк // Довкілля і здоров'я. – 2013. – № 1. – С. 67–70. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів).*

Патенти:

16. Патент на корисну модель 67214 Україна, МПК G A 61 K 33/00. Спосіб виведення свинцю з організму тварин / Н. М. Мельникова, І. А. Лазаренко; заявник і патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. – № u 2011 08252; заявлено 01.07.11; опубліковано 10.02.12, Бюл. № 3. *(Здобувач провела експериментальні дослідження і брала участь в оформленні патенту).*

17. Патент на корисну модель 67215 Україна, МПК А 01 N 1/00. Спосіб виведення свинцю з організму тварин / Н. М. Мельникова, І. А. Лазаренко; заявник і патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. – № u 2011 08252; заявлено 01.07.11; опубліковано 10.02.12, Бюл. № 3. *(Здобувач провела експериментальні дослідження і брала участь в оформленні патенту).*

Науково-практичні рекомендації

18. Мельникова Н. М. Рекомендації щодо застосування препарату Глутаргін з метою зниження вмісту свинцю в організмі тварин / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** – К., 2012. – 23 с. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел, узагальнила результати досліджень, приймала участь у підготовці та написанні рекомендацій).*

Тези наукових доповідей:

19. Мельникова Н. М. Вміст загальних сульфгідрильних груп та активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів за свинцевого отруєння // Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко**, Т. А. Ткаченко // Конференція професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва, м. Київ, 10–11 березня 2010 року: тези доповіді. – К.,

2010. – С. 46–47. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

20. Лазаренко І. А. Кислотно-лужний стан крові щурів за дії наночастинок свинцю / **І. А. Лазаренко**, Н. М. Мельникова, Т. А. Ткаченко // X Український біохімічний з'їзд, м. Одеса, 13–17 вересня 2010 року: тези доповіді. – Одеса, 2010. – Т. 82. – № 4 (додаток 2). – С. 270. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

21. Лазаренко І. А. Вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів при свинцевому отруєнні / **І. А. Лазаренко**, Т. А. Ткаченко, Н. М. Мельникова // X Міжнародна конференція науково-педагогічних працівників, наукових співробітників і аспірантів ННІ ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва НУБіП України, м. Київ, 16–17 березня 2011 року: тези доповіді. – К., 2011. – С. 40. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

22. Лазаренко І. А. Активність амінотрансфераз крові щурів при отруєнні наночастинами свинцю / **І. А. Лазаренко**, Н. М. Мельникова // Наукові здобутки молоді у вирішенні актуальних проблем виробництва та переробки сировини, стандартизації та безпеки продовольства: Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених, аспірантів і студентів, м. Київ, 20–22 квітня 2011 року: тези доповіді – К., 2011. – С. 386. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

23. Лазаренко І. А. Накопичення наночастинок свинцю в організмі щурів / **І. А. Лазаренко**, Н. М. Мельникова, В. І. Максін // Сучасні проблеми токсикології. Безпека їжі та середовища життєдіяльності людини: III з'їзд токсикологів України, м. Київ, 18–19 грудня 2011 року: тези доповіді. – К., 2011 – № 5. – С. 60–61. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

24. Лазаренко І. А. Особливості розподілення наночастинок свинцю в організмі щурів / **І. А. Лазаренко**, Н. М. Мельникова // XI Міжнародна конференція науково-педагогічних працівників, наукових співробітників і аспірантів ННІ ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва НУБіП України, м. Київ, 14–15 березня 2012 року: тези доповіді. – К., 2012. – С. 64. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

25. Мельникова Н. М. Електрофоретичне дослідження білків крові щурів за дії плумбуму / Н. М. Мельникова, **І. А. Лазаренко** // Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва: XIII Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу та аспірантів, присвячена 20-річчю набуття університетом статусу національного. – К., 2014. – С. 41–42. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, обробку і узагальнення одержаних результатів).*

АНОТАЦІЯ

Лазаренко-Черноусова І. А. Білковий та амінокислотний склад крові щурів за дії свинцю різної дисперсності. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2017.

Дисертацію присвячено визначенню білкового та амінокислотного складу крові щурів за дії свинцю різної дисперсності. Розроблено біологічну модель отруєння щурів свинцю ацетатом та наночастинками свинцю, а також досліджено білковий та амінокислотний склад крові щурів за дії свинцю різної дисперсності. Відмічено, що отруєння щурів ацетатом свинцю та наночастинками свинцю збільшує вміст свинцю в крові, печінці, нирках, легенях, серці, селезінці та мозку. Застосування препарату «Глутаргін» знижує вміст токсиканту в тканинах і органах щурів отруєних свинцем різних дисперсних форм. Встановлено підвищення в крові щурів отруєних свинцю ацетатом та наночастинками свинцю активності аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лактатдегідрогенази, γ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази. З'ясовано, що введення щурам свинцю ацетату та наночастинок свинцю, викликає зниження вмісту альбумінів, α_1 - та α_2 -глобулінів та підвищує вміст β - та γ -глобулінів крові, а також призводить до збільшення рівня Ig G₁, Ig G₂, церулоплазміну, трансферинів молекулярною масою 85–80 та 75 кДа, преальбумінів молекулярною масою 60–50 кДа та знижує вміст преальбумінів з молекулярною масою 20–15 та 45 кДа. Встановлено, що свинцю ацетат сприяє накопиченню в крові високо- та низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів, тоді як наночастинки свинцю викликають зниження вмісту високомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у крові. Відмічено, що за дії різних дисперсних форм свинцю, спостерігаються значні зміни вмісту вільних амінокислот сироватки крові щурів. Виявлено коригуючу дію препарату «Глутаргін» щодо зниження накопичення свинцю в організмі та сталості вмісту вільних амінокислот, рівня циркулюючих імунних комплексів та білкових фракцій крові щурів отруєних різними дисперсними формами свинцю.

Ключові слова: свинцю ацетат, наночастинки свинцю, білки, амінокислоти, циркулюючі імунні комплекси, «Глутаргін».

АННОТАЦИЯ

Лазаренко-Черноусова И. А. Белковый и аминокислотный состав крови крыс при действии свинца различной дисперсности. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, 2017.

Диссертация посвящена определению белкового и аминокислотного состава крови крыс при действии свинца различной дисперсности. Разработано биологическую модель отравления крыс 6-месячного возраста ацетатом свинца и наночастицами свинца, а также исследованы белковый и аминокислотный

состав крови крыс при действии свинца различной дисперсности. Отмечено, что отравления крыс ацетатом свинца и наночастицами свинца вызывает увеличение содержания свинца в крови в 6,6 и 4 раза, печени – 31,6 и 4,8, почках – 55,6 и 11,3, легких – 26,9 и 2,4, сердце – 1,7 и 1,2, селезенке – 5,6 и 2, мозге – 1,9 и 1,5 раза соответственно, относительно его содержания в организме интактных крыс.

Показано, что применение препарата «Глутаргин» крысам, отравленным различными дисперсными формами свинца, способствовало снижению содержания свинца в крови в 3,3 и 2,9 раза, печени – 4,9 и 1,8, почках – 1,3 и 1,2, легких – 3,9 и 2,1, сердце – 1,2, селезенке – 1,2 и 1,4, мозге – в 1,1 и 1,2 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями отравленных животных.

Установлено повышение в крови крыс, отравленных ацетатом свинца и наночастицами свинца, активности аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы. Так, отравление крыс ацетатом свинца и наночастицами свинца вызывает рост активности в крови АсАТ уровень которой повышался в 1,5 и 1,4 раза, ГГТП – 1,3 и 1,2, ЛФ – 1,4 и 1,2, АлАТ – 2,1 и 2,0 и ЛДГ в 3,0 и 3,5 раза соответственно по сравнению с интактными крысами. Увеличение активности энзимов крови, которые являются маркерами поражения паренхиматозных органов, свидетельствует о полигранности токсического действия разных дисперсных форм свинца на организм. При воздействии на организм крыс ацетата свинца и наночастиц свинца, уровень общего белка в крови снижался на 28,2 и 24,7 % соответственно по сравнению с интактными животными.

Установлено, что содержание альбумина в крови крыс, отравленных ацетатом свинца и наночастицами свинца достоверно снижается на 6,9 и 9,1 %, по сравнению с интактными животными. Обнаружено, что введение крысам ацетата свинца и наночастиц свинца, также вызывает снижение процентного содержания в крови, α_1 -глобулинов на 1,5 и 2,0 % и α_2 -глобулинов и 3,8 и 3,3 % соответственно, и повышение процентного содержания β -глобулинов на 4,5 и 4,8 % и γ -глобулинов на 7,7 и 9,6 % соответственно по сравнению с аналогичными показателями интактных животных. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод об изменении белкового состава сыворотки крови крыс, которым вводили свинец различных дисперсных форм, что возможно вызвано токсическим поражением и снижением функциональной активности печени, как основного органа синтеза многих белков.

Выявлено, что отравления крыс ацетатом свинца и наночастицами свинца приводит к изменениям 9 и 11 белковых фракций крови соответственно. Так, в крови крыс, отравленных ацетатом свинца, установлено достоверное повышение уровня Ig G₁, Ig G₂, церулоплазмينا, плазмينا, трансферринов молекулярной массой 85–80 и 75 кДа, преальбуминов молекулярной массой 60–50 кДа и снижение уровня преальбуминов молекулярной массой 20–15 и 45 кДа по сравнению с интактными животными. При отравлении крыс наночастицами свинца отмечен рост уровня Ig G₁, Ig G₂, гаптоглобина, Ig M, фибриногена, церулоплазмينا, трансферринов молекулярной массой 85–80 и

75 кДа, преальбуминов молекулярной массой 60–50 кДа, снижение уровня преальбуминов молекулярной массой 20–15 кДа и Ig D по сравнению с интактными крысами. При этом, увеличение уровня гаптоглобина в крови крыс, отравленных наночастицами свинца, возможно свидетельствует об активации процессов окисления в организме, а установленное повышение содержания Ig G, возможно объясняется большей биологической активностью наночастиц свинца по сравнению с ацетатом свинца и способностью вызывать деструктивные изменения белков организма.

Установлено, что введение препарата «Глутаргин» крысам, отравленным ацетатом свинца, привело к повышению уровня фибриногена, Ig M, преальбуминов молекулярной массой 20–15 кДа и снижению уровня церулоплазмينا, Ig G₁, плазмينا, трансферринов молекулярной массой 75 кДа, преальбуминов молекулярной массой 45 и 35 кДа, по сравнению с отравленными животными. Показано, что предварительное введение препарата «Глутаргин» крысам, отравленным наночастицами свинца, способствовало повышению уровня преальбуминов молекулярной массой 20–15 кДа, 60–50 и 35 кДа, фибриногена, Ig D, и снижению уровня церулоплазмينا, Ig G₁, Ig G₂, гаптоглобина, трансферринов молекулярной массой 85–80 и 72 кДа, преальбумином молекулярной массой 45 кДа в крови по сравнению с отравленными наночастицами свинца животными, не получавшим препарат «Глутаргин».

Установлено, что ацетат свинца способствует накоплению в крови высоко- и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов, тогда как наночастицы свинца вызывают снижение содержания высокомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов в крови, относительно этих показателей в группе интактных животных. Моделирование свинцовой интоксикации вызвало разнонаправленные изменения содержания свободных аминокислот крови крыс: пероральное введение различных дисперсных форм свинца вызвало снижение содержания лизина, треонина, валина, лейцина, глутаминовой кислоты и аланина, и повышение уровня цистина, глутамин, орнитина, пролина, тирозина по сравнению с интактными животными; также отмечено снижение содержания гистидина при отравлении ацетатом свинца, и повышение – при введении наночастиц свинца; содержание аргинина и метионина снижается, а глицина – повышается только при введении наночастиц свинца по сравнению с интактными животными.

Показано, что применение препарата «Глутаргин», при условии свинцовой интоксикации, способствовало уменьшению проявлений токсических эффектов свинца относительно содержания свободных аминокислот в крови крыс. Отмечено достоверное снижение содержания серина, пролина, глицина, тирозина, глутамин в крови крыс, отравленных различными дисперсными формами свинца. Введение препарата «Глутаргин» крысам, отравленным наночастицами свинца, приводит к повышению уровня орнитина, глутаминовой кислоты и лизина. При отравлении свинца ацетатом, предварительное введение препарата «Глутаргин» вызывало снижение концентрации аланина, аспарагиновой кислоты, метионина, изолейцина,

лейцина, лизина, гистидина, аргинина, треонина, валина, фенилаланина и увеличение цистина в крови. В ходе исследований выявлено корректирующее действие препарата «Глутаргин», которое выражается в снижении накопления свинца в организме и стабилизации содержания свободных аминокислот, уровня циркулирующих иммунных комплексов и белковых фракций крови крыс, отравленных различными дисперсными формами свинца.

Ключевые слова: ацетат свинца, наночастицы свинца, белки, аминокислоты, циркулирующие иммунные комплексы, «Глутаргин».

ANNOTATION

Lazarenko-Chernousova I. A. Protein and amino acid rats' blood composition when affected by lead of different dispersion. – The manuscript.

Dissertation thesis is submitted for a scientific degree of the candidate of biological sciences in the specialty 03.00.04 Biochemistry. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2017.

The thesis is aimed at defining the protein and amino acid rats' blood composition when affected by lead of different dispersion. A biological model of rats' poisoning with plumbic acetate and lead nanoparticles was developed as well as protein and amino acid rats' blood composition when affected by lead of different dispersion was studied. It should be noted that rats' poisoning with plumbic acetate and lead nanoparticles increases the amount of lead in blood, liver, kidneys, lungs, heart, spleen and brain. Use of drug «Glutargin» reduces the content of the toxic agent in tissues and organs of rats poisoned with lead of different dispersion forms. The increase of serum aspartate amino transferase, alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase, gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activity in the blood of rats poisoned with plumbic acetate and lead nanoparticles was found. It was revealed that vaccinating rats with plumbic acetate and lead nanoparticles causes reduction of albumins, α_1 - and α_2 -globulins content and increases the level of β - and γ -globulins in blood and also leads to the increase of Ig G₁, Ig G₂ level, caeruloplasmin, transferrin with molecular weight of 85–80 and 75 kDa, prealbumins with molecular weight of 60–50 kDa and reduces the content of prealbumins with a molecular weight of 20–15 and 45 kDa. It was found that plumbic acetate favors the accumulation of high- and low-molecular circulating immune complexes in blood, whereas lead nanoparticles cause the reduction of high-molecular circulating immune complexes in blood. It was noted that under the influence of various dispersion forms of lead, significant changes of free amino acid content in rats' blood serum are observed. The corrective action of «Glutargin» in reducing the accumulation of lead in body and content stability of free amino acids, the level of circulating immune complexes and blood protein fractions of rats poisoned with different dispersion forms of lead was found.

Key words: plumbic acetate, lead nanoparticles, proteins, amino acids, circulating immune complexes, «Glutargin».